

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. (Lon.) Chr.-P. Lohmann

**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen  
Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

Christoph Eckert

# **TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN**

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde

(Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. (Lon.) Chr.-P. Lohmann)

## **Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

Christoph Eckert

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigten  
Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. Dr. (Lon.) Chr.-P. Lohmann
2. apl. Prof. Dr. Th. Chr. Miethke

Die Dissertation wurde am 10.01.2008 bei der Technischen Universität München eingereicht  
und durch die Fakultät für Medizin am 07.05.2008 angenommen.

Ich widme diese Doktorarbeit meinen Eltern, die mich während des Studiums und der Promotion immer unterstützten.

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
1.1	Entzündungen der hinteren Augenabschnitte .....	1
1.2	Inzidenz und Epidemiologie von Uveitiden, Endophthalmitiden und Retinitiden .....	2
1.3	Ursachen von Uveitiden, Endophthalmitiden und Retinitiden .....	9
1.4	Diagnostik von Entzündungen des hinteren Augenabschnittes .....	13
1.5	Ziel der Studie .....	14
2	Material und Methoden .....	15
2.1	Patientengut und Datengewinnung .....	15
2.2	Polymerase-Kettenreaktion (PCR) .....	17
2.2.1	Beschreibung der PCR .....	17
2.2.2	Vorteile der PCR .....	18
2.2.3	Nachteile und Fehlermöglichkeiten der PCR .....	19
2.3	Herkömmliche Methoden .....	21
2.3.1	Mikroskopischer Nachweis der Erreger .....	21
2.3.2	Kultureller Nachweis der Erreger .....	22
2.3.3	Serologischer Nachweis der Erreger .....	23
2.4	Statistik .....	24
3	Ergebnisse .....	25
3.1	Anzahl der Entzündungsarten .....	25
3.2	Geschlechterverteilung .....	26
3.3	Alter der Patienten .....	28
3.4	Probematerialien .....	30
3.4.1	Uveitis posterior .....	30
3.4.2	Endophthalmitis .....	30
3.4.3	Retinitis .....	32
3.5	Erfolgsraten der mikrobiologischen Diagnostik .....	33
3.5.1	Bei Uveitis posterior .....	33
3.5.2	bei Endophthalmitis .....	35
3.5.3	Bei Retinitis .....	39
3.6	Nachgewiesene Pathogene .....	42
3.6.1	Uveitis posterior .....	42
3.6.1.1	Nachweis der Pathogene mit PCR .....	42

3.6.1.2	Kultureller Nachweis der Pathogene .....	43
3.6.1.3	Serologischer Nachweis der Pathogene.....	44
3.6.1.4	Erregerspektrum bei Uveitis posterior.....	45
3.6.2	Endophthalmitis .....	46
3.6.2.1	Nachweis der Pathogene mit PCR.....	46
3.6.2.2	Kultureller Nachweis der Pathogene .....	48
3.6.2.3	Serologischer Nachweis der Pathogene.....	49
3.6.2.4	Erregerspektrum bei Endophthalmitis .....	49
3.6.3	Retinitis.....	51
3.6.3.1	Nachweis der Pathogene mit PCR.....	51
3.6.3.2	Kultureller Nachweis der Pathogene .....	51
3.6.3.3	Serologischer Nachweis der Pathogene.....	52
3.6.3.4	Erregerspektrum bei Retinitis.....	53
4	Diskussion.....	54
4.1	Diskussion Uveitis posterior.....	54
4.2	Diskussion Endophthalmitis .....	58
4.3	Diskussion Retinitis.....	64
5	Zusammenfassung.....	68
6	Schlussfolgerungen .....	69
	Literaturverzeichnis.....	71
	Anhang .....	716
	Danksagung .....	82
	Curriculum vitae.....	83

# 1 Einleitung

## 1.1 Entzündungen der hinteren Augenabschnitte

Zu den Entzündungen des hinteren Augenabschnittes gehören die Entzündung des Glaskörpers (Vitritis), der Aderhaut (Choroiditis) und der Netzhaut (Retinitis). Diese werden unter dem Begriff Uveitis posterior zusammengefasst.

Eine **Retinitis** ist eine primäre Entzündung der Retina, die zusätzlich zu Glaskörper- und Vorderkammer-Reiz führen kann.

Laut internationaler Uveitis-Studiengruppe stellt eine **Uveitis posterior** einen zusammenfassenden Begriff für Chorioretinitis (exsudative Veränderungen der Choroidea, sekundär auch der Retina, die zu einer Glaskörper-Infiltration führen können) und Retinochoroiditis (primär entzündliche Veränderung der Retina, welche sekundär auf die Choroidea übergreift) dar.

Entzündungen aller intraokularen Gewebe mit Ausnahme der Bulbuswand werden als **Endophthalmitis** bezeichnet (Bloch-Michel, Nussenblatt, 1987).

## 1.2 Inzidenz und Epidemiologie von Uveitiden, Endophthalmitiden und Retinitiden

Die **Uveitis** kommt bei Menschen aller Altersstufen vor, tritt weltweit auf und kann zu einer Erblindung führen.

In den USA beträgt die Inzidenz 38.000 pro Jahr. Die Prävalenz beträgt dort 38 pro 100.000 Einwohner, wobei sie in anderen Ländern sehr ähnlich ist: 14 pro 100.000 Einwohner in Dänemark und 17 pro 100.000 Einwohner in Frankreich.

Über Prävalenz und Inzidenz von Uveitiden in Entwicklungsländern sind keine Daten vorhanden.

Die am häufigsten auftretende Form der Uveitis ist die **Uveitis anterior** (Iritis und Iridozyklitis), gefolgt von der **Uveitis posterior**. Die **Uveitis intermedia** (Entzündung der Pars plana corporis ciliaris, der peripheren Retina und der Glaskörperbasis) ist die Form, die am seltensten vorkommt.

Chronische Uveitiden sind weiter verbreitet als die akuten Formen und treten häufig gleichzeitig mit einer Uveitis intermedia auf. Desweiteren kommen nicht-infektiöse Uveitiden weitaus häufiger vor als infektiöse und sind besonders bei Patienten anzutreffen, die unter einer Panuveitis oder Uveitis anterior leiden (Foster, Vitale, 2002).

Während **Endophthalmitiden** aufgrund von allergischen Reaktionen auf körperfremdes oder körpereigenes Material (nicht-infektiöse Form der Endophthalmitis) selten sind, findet man infektiöse Endophthalmitiden sehr oft. In der Literatur weichen die Angaben über die Häufigkeitsverteilung der einzelnen Formen dieser infektiös bedingten Entzündung sehr stark auseinander. Es zeigt sich jedoch, dass die Endophthalmitis nach einem intraokularen Eingriff die häufigste Form darstellt und mehr als 70% der Fälle ausmacht. Danach folgen mit 7-30% die posttraumatische, mit 2-8% die endogene und die Keratopathie-assoziierte Endophthalmitis.

**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

Retinitiden stellen geläufige Probleme in der klinischen Praxis dar. Nicht selten manifestiert sich AIDS als erstes in Form einer Retinitis. Dabei gelten Zytomegalie-Viren und *Toxoplasma gondii* als die häufigsten auslösenden Pathogene (Zierhut, 1993).





Abb. 1-1: Bild einer Uveitis posterior<sup>1</sup>

---



Abb. 1-2: Bild einer Endophthalmitis; Entzündung im Glaskörperraum<sup>2</sup>

---

---

<sup>1</sup> Mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. H. Busse

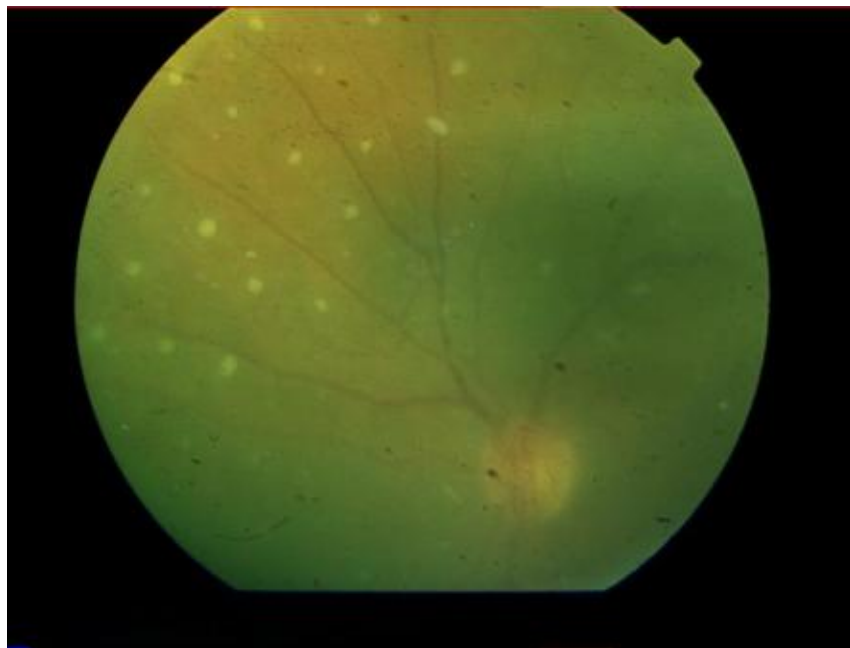
<sup>2</sup> Mit freundlicher Genehmigung von Prof. Gabel; Universitätsaugenklinik Regensburg



---

Abb. 1-3: Bild einer Endophthalmitis; Entzündung im Glaskörperaum<sup>2</sup>

---



---

Abb. 1-4: Bild einer milden Endophthalmitis; Entzündung im Glaskörperaum<sup>2</sup>

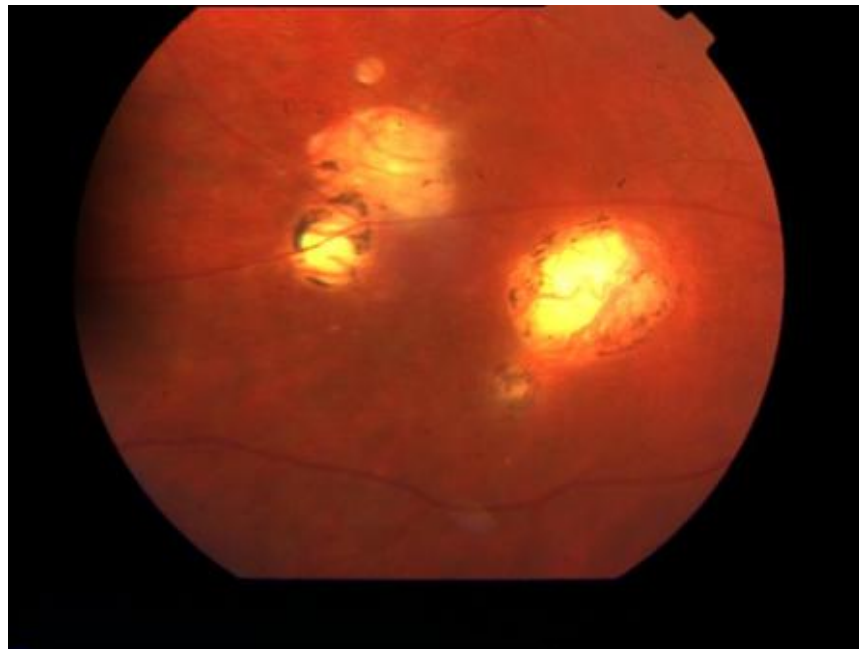
---



---

Abb. 1-5: Bild einer Endophthalmitis; Entzündung im Glaskörperraum<sup>2</sup>

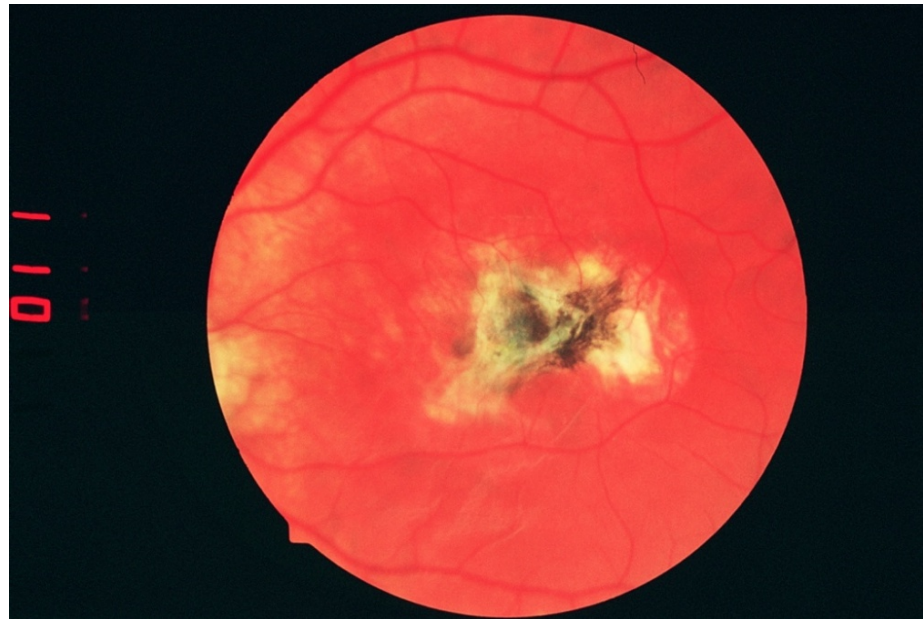
---



---

Abb. 1-6: Bild einer abgelaufenen Chorioretinitis (Narbenbildung)<sup>2</sup>

---



---

Abb. 1-7: Bild einer Chorioretinitis<sup>2</sup>

---



---

Abb.1-8: Bild einer Chorioretinitis<sup>2</sup>

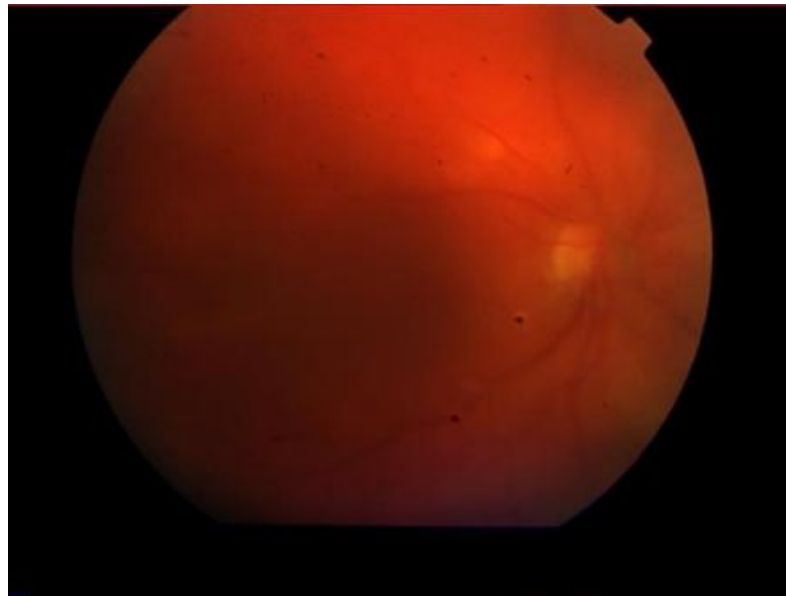
---



---

Abb. 1-9: Bild einer Chorioretinitis<sup>2</sup>

---



---

Abb. 1-10: Bild einer Uveitis posterior; der Einblick in den Fundus ist durch Entzündungszellen beeinträchtigt<sup>2</sup>

---

### 1.3 Ursachen von Uveitiden, Endophthalmitiden und Retinitiden

Es sind Infektionen und immunologische Mechanismen, die im allgemeinen zu einer **Uveitis** führen können. Auch unter immunsuppressiven Zuständen kommt es sehr häufig zu entzündlichen Reaktionen im Auge, aufgrund erhöhter Anfälligkeit des Organismus für Infektionen mit Pathogenen.

Während die **Uveitis anterior**, **Uveitis intermedia** und die **Panuveitis** meist idiopathischer Herkunft sind, ist die **Uveitis posterior** oftmals durch Toxoplasmen verursacht (Foster, Vitale, 2002).

Augenveränderungen bei Toxoplasmose resultieren überwiegend aus sekundär initiierten Immunmechanismen, eventuell auch Autoimmun-Mechanismen, insbesondere wenn Toxoplasmazysten rupturieren.

Bei Neugeborenen mit kongenitaler Toxoplasmose ist in 50-70% der Fälle mit einer Augenbeteiligung zu rechnen, welche sich dann in massiven Glaskörper- und auch Vorderkammerreaktionen, Vaskulitiden und subretinalen Neovaskularisationen äußern.

Im Vergleich dazu führen die erworbenen Toxoplasmosen seltener zu intraokulären Infektionen, dann meist im Rahmen einer Enzephalitis (Zierhut, 1993).

In der folgenden Abbildung ist eine Klassifizierungsmöglichkeit von Uveitiden dargestellt (Abbildung 1-11).

**Table 2.1**  
**Ways of Classifying Uveitis**

Location of Principle Lesion	Severity and Course	Pathology	Demography Laterality Associated Factors		Etiology
Anterior	Acute	Nongranulomatous	Sex distribution	Bacterial:	Tuberculosis
Iritis	Subacute		Race distribution		Syphilis
Iridocyclitis	Chronic	Granulomatous	Age distribution	Viral:	Herpes simplex
Intermediate	Recurrent		Geographic factors		Herpes zoster
Uveitis			Unilaterality or bilaterality		Cytomegalovirus disease
Posterior			Associated illness	Fungal:	Vogt-Koyanagi-Harada disease
Retinitis			Stress factors		Behcet's syndrome
Retinochoroiditis			Personality factors		Histoplasmosis
Chorioretinitis			Use of tobacco, alcohol, drugs	Parasitic	Coccidioidomycosis
Choroiditis			Etc.		Toxoplasmosis
Disseminated					Onchocerciasis
Diffuse				Immunological:	Toxocariasis
					Lens-induced iridocyclitis
				Systemic:	Sympathetic ophthalmia
					Reiter's disease
					Sarcoidosis
					Collagen disease
					Rheumatoid arthritis
					Multiple sclerosis
					Vascular disease
				Neoplastic:	Reticulum sarcoma
					Lymphoma
				Miscellaneous:	Heterochromic iridocyclitis
					Pigmentary syndromes

Abb. 1-11: Klassifizierungsmöglichkeit von Uveitiden aus Smith, Nozik, 1989

Auslöser infektiöser **Endophthalmitiden** sind vor allem Bakterien und Pilze, während Viren und Parasiten extrem selten zu finden sind. Die akute, postoperative Endophthalmitis wird am häufigsten von gram-positiven Bakterien, insbesondere von *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* und Streptokokken verursacht (de Kaspar et al, 1993; Forster et al, 1980; Puliafito et al, 1982; Rowsey et al, 1982).

Zwei Einteilungsmöglichkeiten von Endophthalmitiden werden in untenstehenden Abbildungen dargestellt (Abbildungen 1-12 und 1-13). Zum einen kann man die Endophthalmitis in eine infektiöse und eine nicht infektiöse (Abbildung 1-12), zum anderen in eine akute und eine chronische Form untergliedern (Abbildung 1-13). Infektiöse Endophthalmitiden werden durch Pathogene ausgelöst. Die akute Entzündung findet sich häufig nach einer Operation oder einer Verletzung. Chronische Endophthalmitiden treten oft Monate nach einer Kataraktoperation auf (Baum, 1995; de Kaspar et al, 1993; Fisch et al, 1991; Hatano et al, 1991; Kampik, Dabov, 1986; Peyman, Bassili, 1995; Rowsey et al, 1982; Wilson, 1987; Yanoff, Fine, 1982).



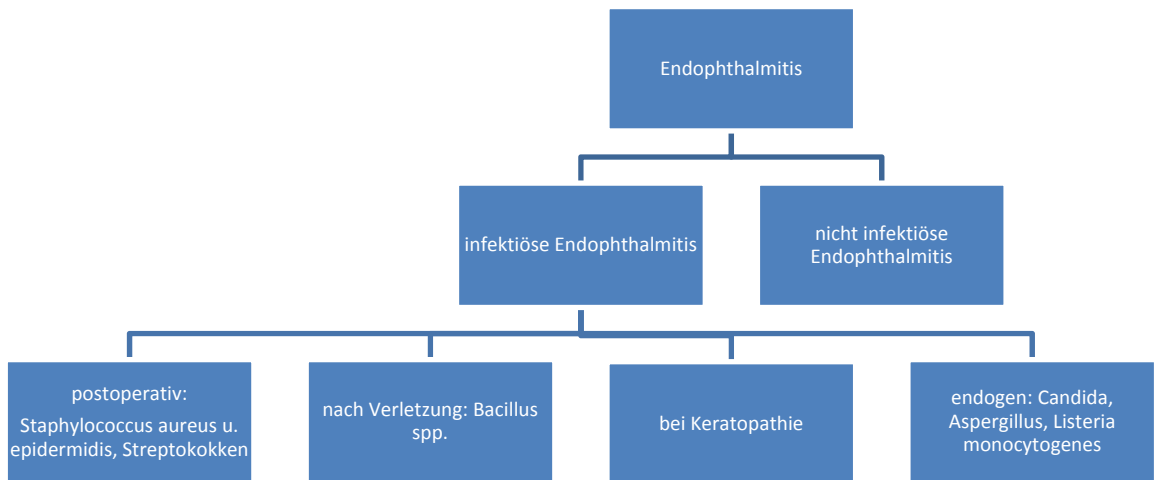


Abb. 1-12: Mögliche Einteilung einer Endophthalmitis und mögliche Erreger

---

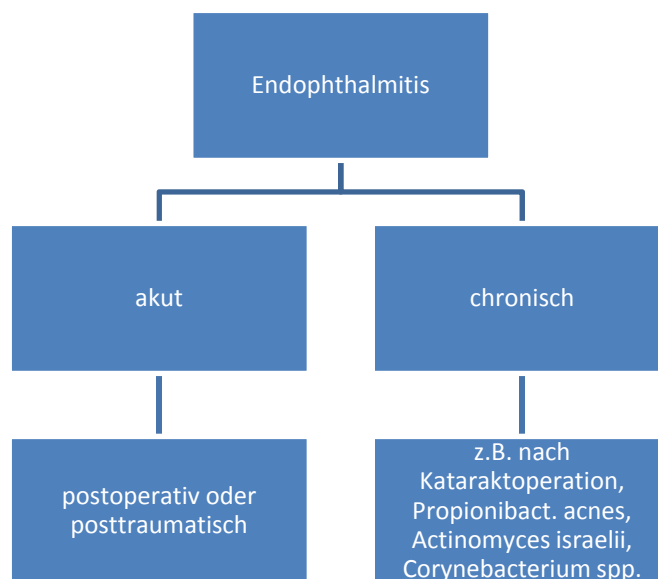


Abb. 1-13: Mögliche Einteilung einer Endophthalmitis und mögliche Erreger

---

Herpes-simplex-Virus (HSV), Varizella-zoster-Virus (VZV), Epstein-Barr-Virus (EBV) und Cytomegalievirus (CMV) gelten als Verursacher viraler Retinitiden und Chorioretini-



Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut  
tiden. Weitere Pathogene stellen Treponema pallidum, Borrelia burgdorferi und Toxoplasma gondii dar. Es können auch Pilze (Candida spp., Aspergillus spp., Cryptococcus neoformans) nachgewiesen werden. Für endogen bedingte Infektionen sind Streptokokken, Serratien oder Klebsiellen verantwortlich. Eine Übersicht über die häufigsten, bei Retinitiden isolierten Erreger zeigt folgende Abbildung (Abbildung 1-14)

---



---

Abb. 1-14: Erreger, die eine Retinitis verursachen können

---

## 1.4 Diagnostik von Entzündungen des hinteren Augenabschnittes

Nach der sorgfältigen Anamnese und der Untersuchung des Auges wird entsprechend der Verdachtsdiagnose Patientenmaterial für die mikrobiologische Untersuchung entnommen. Ein schneller Transport ins Labor ist von großer Bedeutung, um eine Vermehrung der irrelevanten Keime zu verhindern. Für den Erregernachweis stehen im Labor verschiedene Methoden zur Verfügung. Bei Erkrankungen, die durch Bakterien, Pilze und Protozoen verursacht werden, beginnt man meist mit der direkten mikroskopischen Untersuchung des Patientenmaterials.

Zur Bestimmung der Bakterienart und der Antibiotikaresistenzen ist die Anlage von Kulturen unverzichtbar.

Bei viralen und parasitären Infektionen bietet sich die Möglichkeit durch serologische Untersuchungen sowohl Antigene als auch Antikörper nachzuweisen. Mit Hilfe von ELISA (Enzyme-Linked Immuno-Sorbent-Assay), IFT (Immunfluoreszenztest) oder RIA (Radio-Immuno-Assay) ist es nun möglich, die induzierten Immunkomplexe zum Beispiel mit fluoreszierenden Antikörpern nachzuweisen.

Molekularbiologische Verfahren bieten heute neue Möglichkeiten diverse Pathogene zu diagnostizieren. Die Methode der Hybridisierung (spezifische Bindung von Erregernukleinsäuresequenzen an gentechnologisch hergestellte, markierte, komplementäre DNA-Sonden) wird hierbei von der Methode der Amplifizierung erregerspezifischer Gensequenzen (PCR = Polymerase Chain Reaction) unterschieden.

## 1.5 Ziel der Studie

Die Studie untersucht retrospektiv den Erregernachweis bei 52 Patienten mit Uveitis posterior, 125 Patienten mit Endophthalmitis und 51 Patienten mit Retinitis/Chorioretinitis. Die Patienten wurden an der Universitäts-Augenklinik Regensburg von 1996-2003 behandelt.

Mithilfe der Polymerasekettenreaktion (PCR) und herkömmlicher Untersuchungsmethoden (Kultur, Serologie und im Falle der Endophthalmitis Mikroskopie) wurde versucht, diejenigen Erreger nachzuweisen, die diese Entzündungen verursachen.

Durch Vergleich der Erfolgsraten der einzelnen mikrobiologischen Untersuchungsmethoden wird der Stellenwert der PCR evaluiert.

Desweiteren sind auch die identifizierten Erreger aufgeführt, die diese entzündlichen Reaktionen verursachen.

Schließlich stellt sich die Frage, ob es sinnvoll ist, die im Vergleich zu den herkömmlichen Methoden teurere PCR zusätzlich zu Kultur, Serologie und Mikroskopie einzusetzen.

Dazu werden die einzelnen diagnostischen Verfahren und ihre Schwachpunkte beleuchtet und Verbesserungsvorschläge gegeben.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Patientengut und Datengewinnung

Die Daten dieser retrospektiven Studie entstammen Krankenakten von Patienten, die wegen einer Uveitis posterior, einer Endophthalmitis oder einer Retinitis im Zeitraum von 1996-2003 an der Augenklinik der Universität Regensburg behandelt wurden.

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 228 Patienten aller Altersgruppen durchgeführt.

52 Patienten litten an einer Uveitis posterior, 125 an einer Endophthalmitis und 51 an einer Retinitis (vgl. Tabelle 2-1).

	<b>Frauen</b>	<b>Männer</b>
Uveitis posterior (UP)	28	24
Endophthalmitis (E)	63	62
Retinitis (R)	18	33
<b>Summe</b>	<b>109</b>	<b>119</b>

Tabelle 2-1

Bei der Auswertung wurden die PCR-Ergebnisse mit den Kultur- und Serologie-Ergebnissen verglichen. Dabei wurden folgende Gruppen gebildet (vgl. Tabelle 2-2).

	<b>PCR+</b> <b>Kultur+</b>	<b>PCR+</b> <b>Kultur-</b>	<b>PCR-</b> <b>Kultur+</b>	<b>PCR-</b> <b>Kultur-</b>	<b>PCR+</b> <b>Serologie+</b>	<b>PCR+</b> <b>Serologie-</b>	<b>PCR-</b> <b>Serologie+</b>	<b>PCR-</b> <b>Serologie-</b>
UP								
E								
R								

Tabelle 2-2

**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

Bei den Endophthalmitiden wurde als weitere diagnostische Methode die Mikroskopie hinzugezogen.

Dadurch wurde sichtbar, bei welchen Entzündungen die Ergebnisse der einzelnen Methoden einander ebenbürtig waren und wann nur eine Methode zum Erfolg führte.

Folglich konnten die Über- bzw. Unterlegenheit der einzelnen mikrobiologischen Verfahren sowie die Schwachstellen aufgezeigt werden.

## 2.2 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

### 2.2.1 Beschreibung der PCR

Bakterien, Viren oder Pilze können in der Ophthalmologie in Flüssigkeiten (Tränenflüssigkeit, Kammerwasser, Glaskörperaspirat) oder Gewebeproben (Tränendrüse, Hornhaut, Netzhaut) nachgewiesen werden.

Bestimmte Bereiche (Frequenzen) der Erbinformation, die in Form von Desoxyribonukleinsäure (DNA) oder Ribonukleinsäure (RNA) vorliegt, machen jeden Organismus einzigartig. Somit ist es möglich, jedes Lebewesen aufgrund seiner charakteristischen Erbinformation zu typisieren.

Saiki et al (Saiki et al, 1985) entwickelten eine sehr sensitive Methode, DNA oder RNA in klinischen Untersuchungsmaterialien (Blut, Liquor, Zellmaterial) nachzuweisen.

Dabei ähnelt der Replikationszyklus der PCR dem echten Verdopplungszyklus bei der natürlichen Zellteilung.

Durch Erhitzung der DNA wird sie in zwei Einzelstränge zerlegt. Falls das zu replizierende Genom nicht in Form von DNA sondern als RNA vorliegt, wird durch die sogenannte Reverse Transkriptase die DNA gebildet.

Sogenannte Primer dienen der thermostabilen Polymerase (taq-Polymerase) als Startmolekül. Diese dockt an der zu replizierenden DNA an und beginnt den Verdopplungsprozess, indem sie Desoxynukleotidtriphosphate einbaut. Zwei zu den ursprünglichen DNA-Strängen komplementäre Nukleinsäuren entstehen. Diese dienen wiederum als Ausgangsmaterial für weitere Replikationen (vgl. Abbildung 2-1).

Nach 30 Temperaturzyklen wird theoretisch ein Amplifikationsfaktor von  $10^9$  erreicht. In der Praxis führt der Aktivitätsverlust der DNA-Polymerase und der Verbrauch von Primermolekülen und Nukleotiden dazu, dass „nur“ Werte um  $10^6$  erzielt werden können (Ehrlich et al, 1991; Reischl, Mayer, 1993).

### Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

Nach der Amplifikation erfolgt die Zuordnung der DNA zu ihrem Organismus durch Hybridisierung mit Gensonden, Spaltung mit Restriktionsenzymen oder durch Sequenzierung.

Durch Gelelektrophorese ist eine Größenbestimmung möglich.

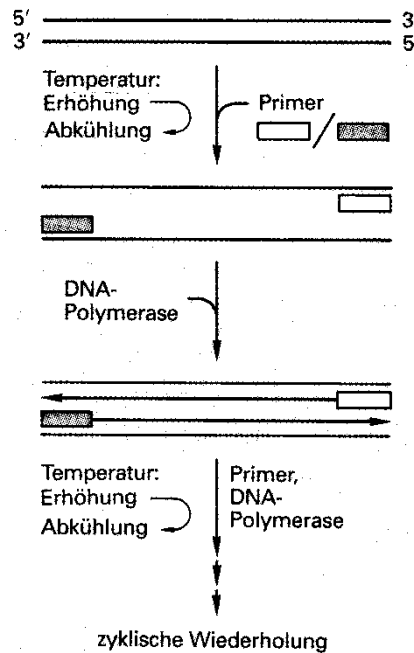


Abb. 2-1: Die Polymerase-Ketten-Reaktion aus Karlson et al, 1994

### 2.2.2 Vorteile der PCR

Die enorme Bedeutung der PCR für die Klinik besteht darin, dass schwer oder nicht anzüchtbare Erreger wie z.B. Chlamydien, Coxiellen, Mykobakterien, Legionellen, Treponemen und Listerien nachgewiesen werden können.

In der Ophthalmologie besteht oftmals ein Problem darin, dass die Probematerialien ein zu geringes Volumen aufweisen und damit entsprechend wenige Erreger enthalten. Deshalb sind die sonst üblichen Nachweisverfahren ungeeignet. Die PCR hingegen kommt mit sehr geringen Gewebemengen aus. Bereits 1µl Glaskörper- oder Vorderkammerflüssigkeit

**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**  
sind zur Infektionsdiagnostik für die PCR ausreichend. Um mit dieser Methode Erfolg zu haben, müssen nur 10-100 Erreger pro ml Probe vorhanden sein, d.h. die PCR besitzt eine sehr hohe Sensitivität (Becker et al, 2003)

Damit ist die PCR unabhängig von einer erfolgreichen kulturellen Anzucht, denn auch nach einer Behandlung mit Antibiotika, wenn fast keine Pathogene mehr vorhanden sind, ist es möglich, die verbliebenen Erreger mittels PCR nachzuweisen. Bei der kulturellen Anzucht gelingt dies meist nicht mehr, da die Erregermenge durch das Antibiotikum zu gering geworden ist.

Genauso ist es möglich mittels der PCR ganze Erregergruppen nachzuweisen, was sich im Sinne der Ausschlussdiagnostik als sinnvoll erweist.

Ein weiterer großer Vorteil der PCR liegt darin, dass schon wenige Stunden nach Probenentnahme erste Ergebnisse vorliegen und eine gezielte Medikation eingeleitet werden kann (Reischl, 2003).

Aufgrund der langen Inkubationszeit sind bei viralen Infektionen oft noch keine Antikörper nachweisbar, und die Serologie liefert negative Ergebnisse. Um diese diagnostische Lücke zu schließen, wird zusätzlich die PCR verwendet, mit deren Hilfe man die Viren direkt nachweist.

### **2.2.3 Nachteile und Fehlermöglichkeiten der PCR**

Die durch die PCR nachgewiesene DNA ist beweisend für das Vorhandensein von Erregern. Es ist aber nicht ersichtlich, ob eine floride oder latente Infektion vorliegt, ob die Erreger tot oder lebendig sind oder ob die Pathogene Resistenzen aufweisen. Deshalb muss man in jede Diagnosestellung die Anamnese und das klinische Bild mit einbeziehen. Es gibt auch die Möglichkeit die RNA eines Erregers nachzuweisen. Sie ist ein Indiz dafür, dass der Erreger gerade Proteinbiosynthese betreibt und damit aktiv ist.

Da der Nachweis mittels PCR, im Gegensatz zum Nachweis mittels Kultur, noch nicht routinemäßig angewendet wird, mangelt es noch an der Standardisierung zwischen den



**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**  
verschiedenen diagnostischen Laboratorien. Desweiteren ist der Nachweis mittels PCR sehr teuer (Reischl, 2003).

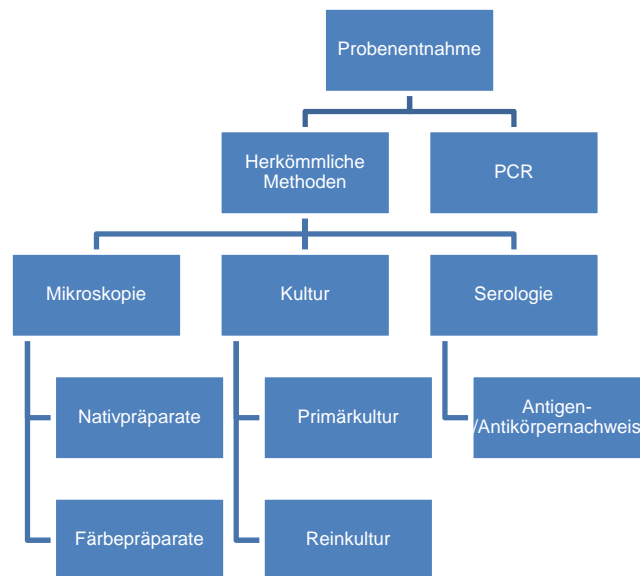
Bei Durchführung der Nukleinsäureamplifikation können verschiedene Fehler auftreten.

Falsch negative Ergebnisse entstehen durch unsachgemäße Entnahme des Probenmaterials, falsche Primer oder DNA-Polymerase Inhibitoren wie z.B. Hämoglobin oder Heparin im Untersuchungsmaterial. Trotz vielfältiger Techniken zur DNA-Präparation gelingt es nicht immer diese Inhibitoren vollständig zu entfernen. Durch das Mitführen geeigneter Positiv- und Negativkontrollen versucht man solche Fehler zu vermeiden.

Da die PCR ein sehr empfindliches Nachweisverfahren ist, können durch Kontaminationen leicht falsch positive Ergebnisse auftreten. Dieses Problem versucht man in der Praxis durch eine strikte räumliche Trennung von Probenaufbereitung, Herstellung des Reaktionsgemisches und der Analyse der Amplifikationsprodukte zu vermeiden (Lohmann, Reischl, 1997).

## 2.3 Herkömmliche Methoden

---



---

Abb. 2-2: Übersicht über mikrobiologische Methoden

---

### 2.3.1 Mikroskopischer Nachweis der Erreger

Um ein positives mikroskopisches Ergebnis zu erhalten, ist eine hohe Konzentration von Keimen notwendig (ca.  $10^5$ ). Folglich zieht ein negatives mikroskopisches Ergebnis noch eine kulturelle Untersuchung der Probe nach sich, um Keimzahlen nachzuweisen, die unter  $10^5$  liegen.

Lichtmikroskopisch ist es möglich, Pilze und Protozoen bereits bei 400-facher Vergrößerung zu betrachten, während für den Nachweis von Bakterien eine Vergrößerung um den Faktor 1000 notwendig ist.

Grundsätzlich lassen sich bei konventionell gefärbten Materialien die Nativpräparate (d.h. ungefärbte Präparate) von den gefärbten Präparaten unterscheiden.

Die Beweglichkeitsprüfung eines Pathogens kann mit Hilfe von Nativpräparaten bzw. Deckglaspräparaten erfolgen.

#### Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

Bei den gefärbten Präparaten kann man Differentialfärbungen wie z.B. diejenigen nach Gram, Ziehl-Neelsen und Neisser von Einfachfärbungen (z.B. Methylenblau) unterscheiden (Hahn et al, 1994).

Letztendlich kann man sagen, dass die Mikroskopie beim Nachweis von Pathogenen als „Erste Hilfe-Methode“ angesehen werden kann, da sie einen wesentlichen Baustein zur schnellen Diagnostik einer Infektion bildet.

### 2.3.2 Kultureller Nachweis der Erreger

Zur Identifizierung von Bakterien und Pilzen durch Anzucht ist es unumgänglich, die meist geringe Anzahl der Erreger durch Vermehrung in eine Primärkultur zu überführen. Dann wird versucht aus der Primärkultur eine Reinkultur herzustellen.

Um den Pathogenen einen optimalen Raum zur Vermehrung zu schaffen, kann man diese auf flüssigen und auf festen Nährböden wachsen lassen.

Bei der Erregerdifferenzierung auf flüssigen Nährböden gilt es zu erkennen, ob die Lösung eine Trübung aufweist, welche Menge Sauerstoff ein optimales Wachstum bietet oder ob auf der Lösung eine Kahmhaut sichtbar ist.

Bei festen Nährböden spielen die Ausprägungsformen der Kolonien eine wichtige Rolle. Insbesondere ist es bedeutend, auf die Form, die Erhebung sowie die Ränder einer Kolonie zu achten. Desweiteren können die  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Hämolyse unterschieden werden.

Bei der Herstellung einer Reinkultur aus einer Primärkultur ist es schwierig, dem vermuteten Erreger die optimalen Nährstoffbedingungen zu bieten. Eine Verdachtsdiagnose aufgrund der klinischen Merkmale ist dann wegweisend, um dem Pathogen möglichst optimale Wachstumsbedingungen schaffen zu können (Hahn et al, 1994).

### 2.3.3 Serologischer Nachweis der Erreger

Bei einigen Infektionen im Auge ist es möglich, dass der nachzuweisende Keim schon verschwunden ist oder die Probe nicht gewonnen werden kann. Dann ist man darauf angewiesen, den Erreger durch Nachweis seiner Antikörper zu identifizieren.

Prinzipiell können zwei Klassen von Antikörpern gebildet werden. Bei einer akuten Infektion entstehen zuerst IgM-Antikörper, dann nach einiger Zeit werden IgG-Antikörper produziert. IgG-Antikörper persistieren lebenslang, während IgM-Antikörper nach Überwindung der Infektion wieder verschwinden. Ein Durchseuchungstiter kennzeichnet sich durch das alleinige Vorhandensein von IgG-Antikörpern.

Verfahren wie beispielsweise Enzymimmunoassays (ELISA), indirekte Immunfluoreszenztests (IFT), Immunoblots, Neutralisationstests, Präzipitationsreaktionen, Agglutinationsreaktionen sowie Komplementbindungsreaktionen bieten sich an, spezielle Antikörper nachzuweisen.

Immunologisch gesehen stellt das Auge eine Sonderstellung dar. Beim Gesunden werden Blutkreislauf des Körpers von den Flüssigkeiten im Auge durch die sogenannte Blut-Retina- und Blut-Kammerwasser-Schranke getrennt. Jedoch kann diese Barriere z.B. bei einer viralen Infektion durchlässig werden. Dann diffundieren Antikörper passiv vom Blut ins Auge. Weiterhin können auch Antikörper direkt im Auge von B-Zellen bzw. Plasmazellen produziert werden. Aus diesem Grund ist es notwendig, die Antikörper sowohl im Auge als auch im Blut zu bestimmen (Thurau, 2003).

## **2.4 Statistik**

Die Signifikanzen wurden nach dem „exakten Test von McNemar“ berechnet (Witting, 1985). Ein Promill wurde als Signifikanzniveau akzeptiert.

Die genaue statistische Auswertung befindet sich im Anhang.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Anzahl der Entzündungsarten

Insgesamt wurden in den Jahren 1996-2003 52 Patienten mit Uveitis posterior, 125 Patienten mit Endophthalmitis und 51 Patienten mit Retinitis behandelt (Tabelle 3-1).

Es wurden 87 akute und 38 chronische Endophthalmitiden diagnostiziert.

Jahr	Uveitis posterior	Endophthalmitis	Retinitis
1996	1	11	0
1997	1	23	1
1998	8	25	8
1999	6	13	5
2000	12	10	14
2001	9	16	11
2002	11	14	10
2003	4	13	2
<b>Gesamt</b>	52	125 (davon: 87 akut, 38 chronisch)	51

Tabelle 3-1

### 3.2 Geschlechterverteilung

Es wurden insgesamt 28 Frauen und 24 Männer mit Uveitis posterior, 63 Frauen und 62 Männer mit Endophthalmitis und 18 Frauen und 33 Männer mit Retinitis untersucht (Tabellen 3-2 bis 3-4.).

#### Uveitis posterior

Jahr	Frauen	Männer
1996	1	0
1997	0	1
1998	5	3
1999	2	4
2000	5	7
2001	5	4
2002	7	4
2003	3	1
Gesamt	28	24

Tabelle 3-2

### Endophthalmitis

Jahr	Frauen	Männer
1996	5	6
1997	11	12
1998	14	11
1999	6	7
2000	5	5
2001	12	4
2002	6	8
2003	4	9
Gesamt	63	62

Tabelle 3-3

### Retinitis

Jahr	Frauen	Männer
1996	0	0
1997	0	1
1998	3	5
1999	2	3
2000	8	6
2001	4	7
2002	1	9
2003	0	2
Gesamt	18	33

Tabelle 3-4



### 3.3 Alter der Patienten

Die Häufungen der Patienten mit Uveitis posterior und Retinitis lagen in den Altersgruppen zwischen 31 und 40 Jahren und ab 61 Jahren. Endophthalmitiden traten gehäuft bei Patienten höheren Lebensalters auf (Abbildungen 3-1 bis 3-3).

#### Uveitis posterior

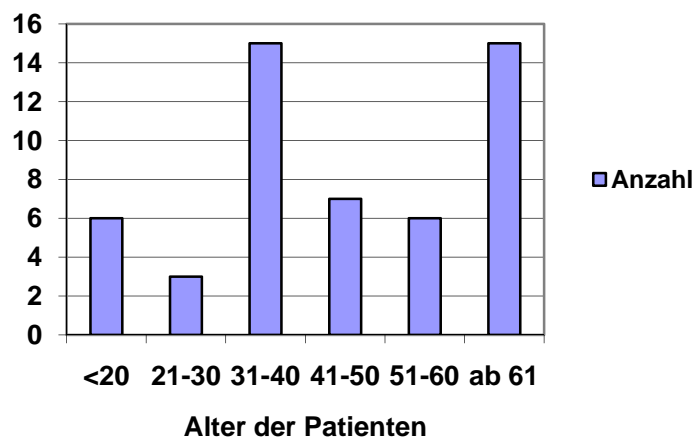


Abbildung 3-1

---

### Endophthalmitis

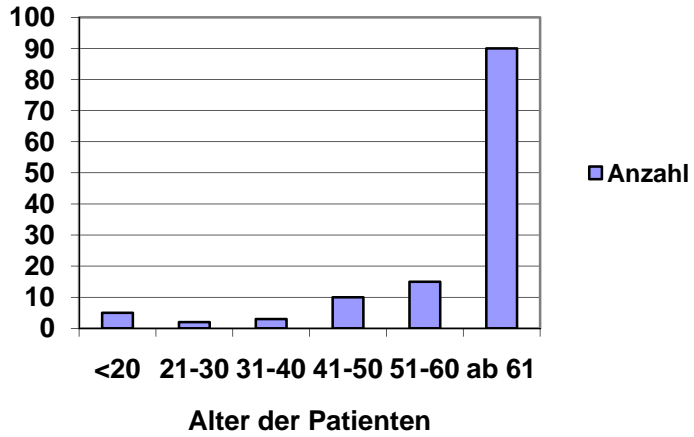


Abbildung 3-2

### Retinitis

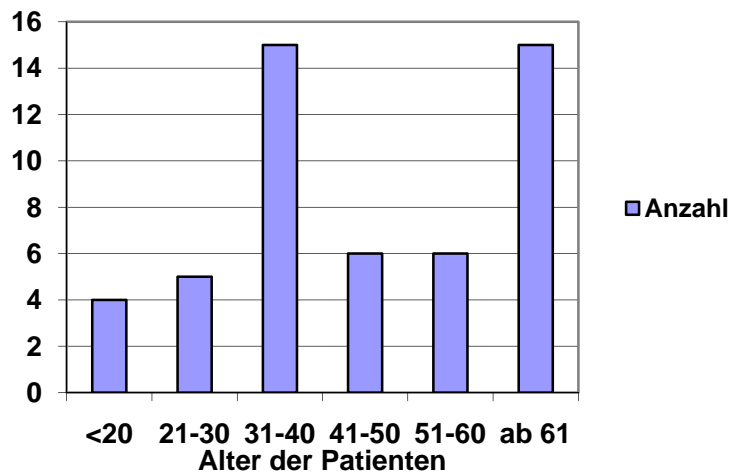


Abbildung 3-3

### 3.4 Probematerialien

#### 3.4.1 Uveitis posterior

Kammerwasser aus der Vorderkammer wurde bei 39 der 52 Patienten mit Uveitis posterior entnommen. In 21 Fällen konnte ein Erreger nachgewiesen werden. Glaskörpermaterial wurde in 13 Fällen entnommen. Bei 7 Patienten war der Erregernachweis erfolgreich (Tabelle 3-5).

	Vorderkammerpunktion	Glaskörperaspirat	Gesamt
<b>Entnahme</b>	39 75%	13 25%	52 100%
<b>Erfolgreicher Erregernachweis</b>	21 <b>53,8%</b>	7 <b>53,8%</b>	28 53,8%

Tabelle 3-5

Ausgehend von diesen Untersuchungsmaterialien wurde bei 52 Patienten PCR (100%) und bei 19 Patienten (36,5%) eine serologische Untersuchung durchgeführt. In 33 Fällen (63,5%) wurde eine Kultur angelegt.

#### 3.4.2 Endophthalmitis

Bei 55 von den 125 Endophthalmitis-Patienten wurde eine Vorderkammerpunktion durchgeführt. In diesem Material konnte in 34 Fällen ein Erreger nachgewiesen werden. Bei 70 Patienten wurde Material aus dem Glaskörper entnommen, in 54 Fällen konnte darin ein Erreger identifiziert werden (Tabelle 3-6).

Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

	Vorderkammerpunktion	Glaskörperaspirat	Gesamt
<b>Entnahme</b>	55 44%	70 56%	125 100%
<b>Erfolgreicher Erregernachweis</b>	34 61,8%	54 77,1%	88 70,4%

Tabelle 3-6

Bei den 87 Patienten mit **akuter** Endophthalmitis wurde in 36 Fällen eine Vorderkammerpunktion durchgeführt und in 51 Fällen Glaskörpermaterial entnommen. Bei 33 Patienten konnte ein Erreger aus dem Vorderkammerpunktat und bei 51 Patienten aus dem Glaskörpermaterial isoliert werden (Tabelle 3-7).

	Vorderkammerpunktion	Glaskörperaspirat	Gesamt
<b>Entnahme</b>	36 41,4%	51 58,6%	87 100%
<b>Erfolgreicher Erregernachweis</b>	33 <b>91,7%</b>	51 <b>100%</b>	84 96,6%

Tabelle 3-7

38 Patienten waren an einer **chronischen** Endophthalmitis erkrankt, es wurden jeweils 19 Glaskörper- und Vorderkammerpunktionen durchgeführt. Dabei war der Erregernachweis im Vorderkammerpunktat in einem Fall positiv und bei drei Patienten konnten Pathogene im Glaskörpermaterial nachgewiesen werden (Tabelle 3-8).

	Vorderkammerpunktion	Glaskörperaspirat	Gesamt
<b>Entnahme</b>	19 50%	19 50%	38 100%
<b>Erfolgreicher Erregernachweis</b>	1 <b>5,3%</b>	3 <b>15,8%</b>	4 10,5%

Tabelle 3-8

Diese Untersuchungsmaterialien dienten als Grundlage für die Durchführung von 125 PCR- Reaktionen (100%), 2 serologischen Untersuchungen (1,6%) und die Anlage von 123 Kulturen (98,4%).

### 3.4.3 Retinitis

Eine Vorderkammerpunktion wurde bei 37 Patienten von 51 Erkrankten durchgeführt. In 17 Fällen konnte in diesem Untersuchungsmaterial auch ein Pathogen nachgewiesen werden. Glaskörpermaterial wurde bei 14 Patienten entnommen, wobei in 6 Fällen ein Erreger identifiziert werden konnte (Tabelle 3-9).

	Vorderkammerpunktion	Glaskörperaspirat	Gesamt
<b>Entnahme</b>	37 72,5%	14 27,5%	51 100%
<b>Erfolgreicher Erregernachweis</b>	17 45,9%	6 42,9%	23 45,1%

Tabelle 3-9

Die Materialien aller 51 Retinitis-Patienten (100%) wurden mit der PCR untersucht. In 30 Fällen (58,8%) wurde eine Kultur angelegt. Bei 21 Patienten wurde eine serologische Untersuchung (41,2%) veranlasst.

### 3.5 Erfolgsraten der mikrobiologischen Diagnostik

#### 3.5.1 Bei Uveitis posterior

Von den Materialien, die von 52 Patienten mit Uveitis posterior mikrobiologisch untersucht wurden, war die PCR in 11 Fällen positiv, bei gleichzeitig negativem Kulturergebnis (21,2%). In nur einem Fall waren PCR und Kultur gleichzeitig positiv (1%). Die Kultur war der PCR in 2 Fällen überlegen (3,8%). Bei 19 Patienten konnte weder mit PCR noch mit Kultur ein positives Ergebnis erzielt werden (36,5%). PCR und Serologie erzielten in 2 Fällen gleichzeitig ein positives Ergebnis (3,8%), in 5 Fällen gleichzeitig ein negatives Ergebnis (9,6%). Die Serologie war der PCR in 12 Fällen überlegen (23,1%). In einem Fall wurde die PCR inhibiert und lieferte folglich kein Ergebnis (Tabellen 3-10 und 3-11).

PCR+ Kultur+	PCR+ Kultur-	PCR- Kultur+	PCR- Kultur-	PCR+ Se- rologie+	PCR+ Se- rologie-	PCR- Sero- logie+	PCR- Se- rologie-
1	11	2	19	2	0	12	5

Tabelle 3-10

PCR+ Kultur+	PCR+ Kultur-	PCR- Kultur+	PCR- Kultur-	PCR+ Sero- logie+	PCR+ Se- rologie-	PCR- Sero- logie+	PCR- Se- rologie-
1,9%	21,2%	3,8%	36,5%	3,8%	0%	23,1%	9,6%

Tabelle 3-11

Alle positiven PCR-, Kultur- und Serologie-Ergebnisse wurden jeweils addiert. Ebenso verfuhr man mit den negativen Ergebnissen.

Die PCR erreichte damit insgesamt eine Erfolgsrate von 26,9%. Die Anzucht war in 5,7% und die Serologie in 26,9% der Fälle erfolgreich. In 73% der Fälle konnte mittels PCR kein Pathogen nachgewiesen werden. Allerdings war auch die Kultur bei 57,7% der Untersuchungsmaterialien nicht erfolgreich. Die Serologie war in 9,6% der Fälle negativ (Tabelle 3-12).

Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

PCR+	Kultur+	Serologie+	PCR-	Kultur-	Serologie-
26,9%	5,7%	26,9%	73%	57,7%	9,6%

Tabelle 3-12

Vergleichende Darstellung der **positiven** Ergebnisse der einzelnen mikrobiologischen Methoden bezogen auf 52 Untersuchungsmaterialien bei Patienten mit Uveitis posterior (Abbildung 3-4).

Die Ordinate gibt die Prozentzahlen der erfolgreichen Nachweisverfahren (PCR, Kultur, Serologie) an.

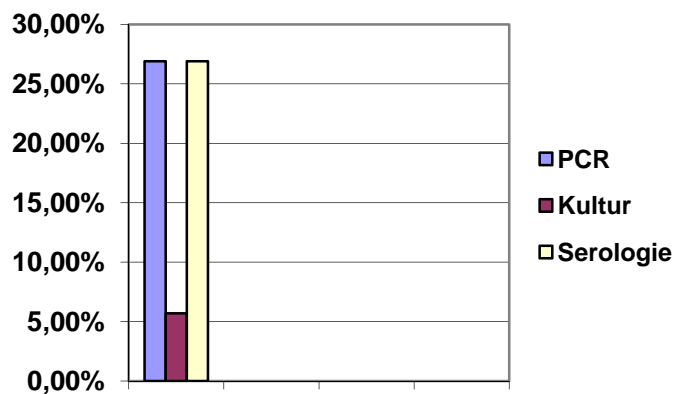


Abbildung 3-4

Vergleichende Darstellung der **negativen** Ergebnisse der einzelnen mikrobiologischen Methoden bezogen auf 52 Untersuchungsmaterialien bei Patienten mit Uveitis posterior (Abbildung 3-5).

**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

Die Ordinate gibt die Prozentzahlen der nicht erfolgreichen Nachweisverfahren (PCR, Kultur, Serologie) an.

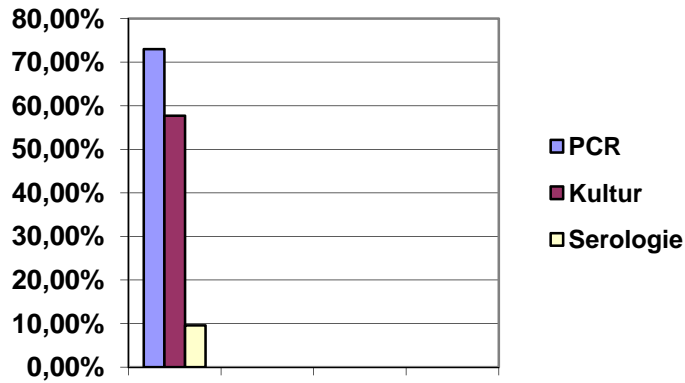


Abbildung 3-5

**3.5.2 bei Endophthalmitis**

Von den Materialien, die von 125 Patienten mit Endophthalmitis mikrobiologisch untersucht wurden, waren PCR und Kultur gleichzeitig in 40 Fällen positiv (32%). Bei 35 Patienten war die PCR der Kultur überlegen (28%), in 12 Fällen unterlegen (9,6%). In 36 Fällen konnte weder mit PCR noch mit Kultur ein Erreger nachgewiesen werden (28,8%). PCR und Serologie waren in jeweils einem Fall gleichzeitig positiv (0,8%) und gleichzeitig negativ (0,8%). Bei einem Patienten wurde die PCR inhibiert und es konnte deshalb kein Ergebnis erzielt werden (Tabellen 3-13 und 3-14).

PCR+ Kultur+	PCR+ Kultur-	PCR- Kultur+	PCR- Kultur-	PCR+ Sero- logie+	PCR+ Se- rologie-	PCR- Sero- logie+	PCR- Se- rologie-
40	35	12	36	1	0	0	1

Tabelle 3-13



**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

<b>PCR+ Kultur+</b>	<b>PCR+ Kultur-</b>	<b>PCR- Kultur+</b>	<b>PCR- Kultur-</b>	<b>PCR+ Serologie+</b>	<b>PCR+ Serologie-</b>	<b>PCR- Serologie+</b>	<b>PCR- Serologie-</b>
32%	28%	9,6%	28,8%	0,8%	0%	0%	0,8%

Tabelle 3-14

In 84 von 125 Fällen konnten mittels Mikroskopie Zelldetritus und Leukozyten nachgewiesen werden. Bei 18 Patienten war es möglich schon durch Mikroskopie den Erreger (gram-positive Kokken) zu identifizieren. Bei einigen Patienten konnte man den Erreger, Zelldetritus und Leukozyten im Mikroskop erkennen. Die Mikroskopie war in 3 Fällen negativ, in 38 Fällen wurde keine Mikroskopie gemacht (Tabellen 3-15 und 3-16).

<b>Mikroskopie+ Detritus, Leukozyten</b>	<b>Mikroskopie+ Erreger</b>	<b>Mikroskopie-</b>	<b>keine Mikroskopie gemacht</b>
84	18	3	38

Tabelle 3-15

Bezogen auf 125 Patienten:

<b>Mikroskopie+ Detritus, Leukozyten</b>	<b>Mikroskopie+ Erreger</b>	<b>Mikroskopie-</b>	<b>keine Mikroskopie gemacht</b>
66,7%	14,3%	2,4%	30,2%

Tabelle 3-16

Bei 54 der 87 Patienten (62,1%) mit akuter Endophthalmitis wurden lediglich Detritus und Leukozyten, bei 15 der 87 Patienten (17,2%) Pathogene mikroskopisch identifiziert.

Bei 30 der 38 Patienten (78,9%) mit chronischer Endophthalmitis fanden sich Detritus und Leukozyten, bei 3 Patienten (7,9%) wurden Bakterien identifiziert.

Alle positiven und negativen PCR-, Kultur- und Serologie-Ergebnisse wurden addiert. Ebenso wurde mit den negativen Ergebnissen verfahren.

**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

Die PCR erreichte damit insgesamt eine Erfolgsrate von 60,3%. Die Anzucht war in 41,2% und die Serologie in 0,8% der Fälle erfolgreich. In 38,9% der Fälle konnte mittels PCR kein Pathogen nachgewiesen werden. Allerdings war auch die Kultur bei 56,4% der Untersuchungsmaterialien nicht erfolgreich. Die Serologie war in 0,8% der Fälle negativ (Tabelle 3-17).

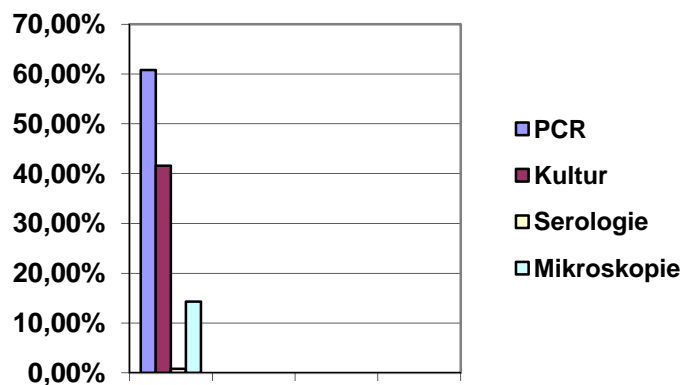
<b>PCR+</b>	<b>Kultur+</b>	<b>Serologie+</b>	<b>PCR-</b>	<b>Kultur-</b>	<b>Serologie-</b>
60,8%	41,6%	0,8%	39,2%	56,8%	0,8%

Tabelle 3-17

**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

Vergleichende Darstellung der **positiven** Ergebnisse der einzelnen mikrobiologischen Methoden bezogen auf 125 Untersuchungsmaterialien bei Patienten mit Endophthalmitis (Abbildung 3-6).

Die Ordinate gibt die Prozentzahlen der erfolgreichen Nachweisverfahren (PCR, Kultur, Serologie, Mikroskopie) an.



---

Abbildung 3-6

Vergleichende Darstellung der **negativen** Ergebnisse der einzelnen mikrobiologischen Methoden bezogen auf 125 Untersuchungsmaterialien bei Patienten mit Endophthalmitis (Abbildung 3-7).

Die Ordinate gibt die Prozentzahlen der nicht erfolgreichen Nachweisverfahren (PCR, Kultur, Serologie, Mikroskopie) an.

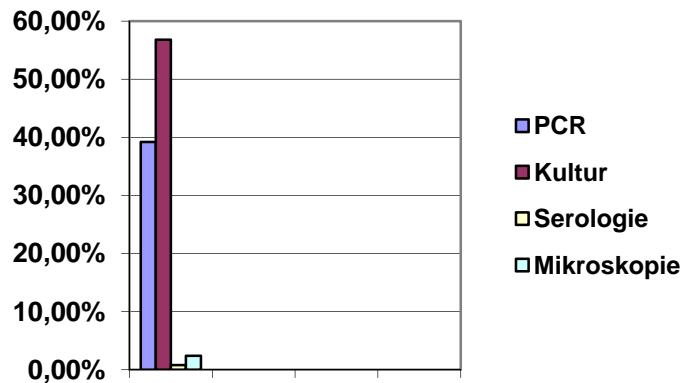


Abbildung 3-7

### 3.5.3 Bei Retinitis

Von den Materialien, die von 51 Patienten mit Retinitis mikrobiologisch untersucht wurden, waren 7 PCR-positiv, bei gleichzeitig negativer Kultur (13,7%). In 23 Fällen waren sowohl Kultur als auch PCR negativ (45,1%). Bei 6 Patienten konnte der Erreger mittels PCR und Serologie nachgewiesen werden (11,8%). Die Serologie war der PCR in 10 Fällen überlegen (19,6%). PCR und Serologie erzielten in 5 Fällen gleichzeitig ein negatives Ergebnis (9,8%) (Tabellen 3-18 und 3-19).

PCR+ Kultur+	PCR+ Kultur-	PCR- Kultur+	PCR- Kultur-	PCR+ Sero- logie+	PCR+ Se- rologie-	PCR- Serologie+	PCR- Sero- logie-
0	7	0	23	6	0	10	5

Tabelle 3-18

PCR+ Kultur+	PCR+ Kultur-	PCR- Kultur+	PCR- Kultur-	PCR+ Serologie+	PCR+ Se- rologie-	PCR- Serologie+	PCR- Sero- logie-
0%	13,7%	0%	45,1%	11,8%	0%	19,6%	9,8%

Tabelle 3-19

**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

Alle positiven und negativen PCR-, Kultur- und Serologie-Ergebnisse wurden addiert. Ebenso wurde mit den negativen Ergebnissen verfahren.

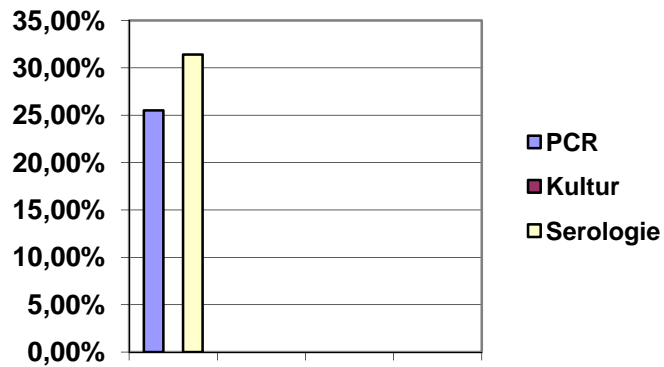
Die PCR erreichte damit insgesamt eine Erfolgsrate von 25,5%. Die Anzucht war nie und die Serologie in 31,4% der Fälle erfolgreich. In 74,5% der Fälle konnte mittels PCR kein Pathogen nachgewiesen werden. Allerdings war auch die Kultur bei 58,8% der Untersuchungsmaterialien nicht erfolgreich. Die Serologie war in 9,8% der Fälle negativ (Tabelle 3-20).

PCR+	Kultur+	Serologie+	PCR-	Kultur-	Serologie-
25,5%	0%	31,4%	74,5%	58,8%	9,8%

Tabelle 3-20

Vergleichende Darstellung der **positiven** Ergebnisse der einzelnen mikrobiologischen Methoden bezogen auf 51 Untersuchungsmaterialien bei Patienten mit Retinitis (Abbildung 3-8).

Die Ordinate gibt die Prozentzahlen der erfolgreichen Nachweisverfahren (PCR, Kultur, Serologie) an.



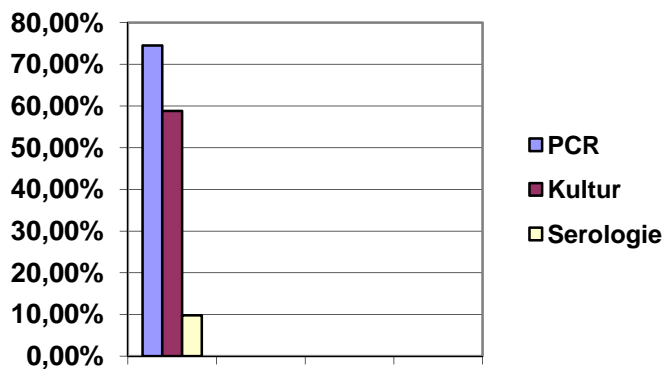
---

Abbildung 3-8

Vergleichende Darstellung der **negativen** Ergebnisse der einzelnen mikrobiologischen Methoden bezogen auf 51 Untersuchungsmaterialien bei Patienten mit Retinitis (Abbildung 3-9).

Die Ordinate gibt die Prozentzahlen der nicht erfolgreichen Nachweisverfahren (PCR, Kultur, Serologie) an.

---



---

Abbildung 3-9

### 3.6 Nachgewiesene Pathogene

#### 3.6.1 Uveitis posterior

##### 3.6.1.1 Nachweis der Pathogene mit PCR

Mittels PCR konnten bei jeweils 4 Patienten mit Uveitis posterior *Pseudomonas* spp. und *Candida* spp. nachgewiesen werden. In 2 Fällen wurde *Toxoplasma gondii* identifiziert. *Staphylococcus* spp., *Borrelia burgdorferi* und *Meliola niessleana* galten in jeweils einem Fall als Verursacher der Entzündung. In ebenfalls einem Fall konnte der Erreger nicht identifiziert werden (Tabelle 3-21).

Erreger	Anzahl der Erreger	Anteil der einzelnen Erreger bezogen auf eine Gesamtzahl von 14
<b>Bakterien</b>		
<i>Pseudomonas</i> spp.	4	28,6%
<i>Staphylococcus</i> spp.	1	7,1%
<i>Borrelia burgdorferi</i>	1	7,1%
<b>Pilze</b>		
<i>Candida</i> spp.	4	28,6%
<i>Meliola niessleana</i>	1	7,1%
<b>Parasiten</b>		
<i>Toxoplasma gondii</i>	2	14,3%
unbekannt	1	7,1%
<b>Gesamt</b>	14	100%

Tabelle 3-21

### 3.6.1.2 Kultureller Nachweis der Pathogene

Es wurden 3 Pathogene identifiziert. *Meliola niessleana*, *Candida* und *Staphylococcus* spp. wurden bei jeweils einem Patienten isoliert (Tabelle 3-22).

Erreger	Anzahl der Erreger	Anteil der einzelnen Erreger bezogen auf eine Gesamtzahl von 3
<b>Bakterien</b>		
<i>Staphylococcus</i> spp.	1	33,3%
<b>Pilze</b>		
<i>Candida</i> spp.	1	33,3%
<i>Meliola niessleana</i>	1	33,3%
<b>Gesamt</b>	3	100%

Tabelle 3-22



### 3.6.1.3 Serologischer Nachweis der Pathogene

Borrelia burgdorferi konnten bei 6 Patienten isoliert werden. In 5 Fällen wurden Toxoplasmen für die Entzündung verantwortlich gemacht. Herpes-simplex-Viren (HSV) wurden zweimal nachgewiesen. In einem Fall wurde Epstein-Barr-Virus (EBV) identifiziert. Insgesamt konnte die Serologie in 14 Fällen das Pathogen bestimmen (Tabelle 3-23).

Erreger	Anzahl der Erreger	Anteil der einzelnen Erreger bezogen auf eine Gesamtzahl von 14
<b>Bakterien</b>		
Borrelia burgdorferi	6	42,9%
<b>Viren</b>		
HSV	2	14,3%
EBV	1	7,1%
<b>Parasiten</b>		
Toxoplasma gondii	5	35,7%
<b>Gesamt</b>	14	100%

Tabelle 3-23.

### 3.6.1.4 Erregerspektrum bei Uveitis posterior

Bei den Uveitis posterior-Patienten wurde in 28 Fällen der Erreger identifiziert. Das sich ergebende Erregerspektrum ist folgender Tabelle zu entnehmen (Tabelle 3-24).

Erreger	Anzahl der Erreger	Anteil der einzelnen Erreger bezogen auf eine Gesamtzahl von 28
<b>Bakterien</b>		
<i>Borrelia burgdorferi</i>	7	25%
<i>Pseudomonas</i> spp.	4	14,3%
<i>Staphylococcus</i> spp.	2	7,1%
<b>Pilze</b>		
<i>Candida</i> spp.	5	17,9%
<i>Meliola niessleana</i>	1	3,6%
<b>Viren</b>		
HSV	2	7,1%
EBV	1	3,6%
<b>Parasiten</b>		
<i>Toxoplasma gondii</i>	5	17,9%
unbekannt	1	3,6%
<b>Gesamt</b>	28	100%

Tabelle 3-24

## **3.6.2 Endophthalmitis**

### **3.6.2.1 Nachweis der Pathogene mit PCR**

Mittels PCR wurden in 35 Fällen Staphylokokken und in 10 Fällen Streptokokken nachgewiesen. In jeweils 3 Fällen wurden Enterokokken und Moraxella spp. identifiziert. Bei jeweils 4 Patienten galten Pseudomonas spp., Pneumokokken und Candida als Auslöser der Entzündung. Acinetobacter traten in zwei Fällen auf. Die restlichen Pathogene traten bei jeweils einem Patienten auf. In einem Fall konnte der Erreger nicht identifiziert werden (Tabelle 3-25).

Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

Erreger	Anzahl der Erreger	Anteil der einzelnen Erreger bezogen auf eine Gesamtzahl von 76
<b>Bakterien</b>		
Staphylococcus spp.	35	46,1%
Streptococcus spp.	10	13,2%
Pseudomonas spp.	4	5,3%
Pneumokokken	4	5,3%
Enterococcus faecalis	3	3,9%
Moraxella spp.	3	3,9%
Acinetobacter spp.	2	2,6%
Borrelia burgdorferi	1	1,3%
Propionibacterium acnes	1	1,3%
Listeria monocytogenes	1	1,3%
Actinomyces israelii	1	1,3%
Sphingomonas	1	1,3%
Bacillus spp.	1	1,3%
Morganella morganii	1	1,3%
Spiroplasma spp.	1	1,3%
Burgholderi solana	1	1,3%
<b>Pilze</b>		
Candida spp.	4	5,3%
<b>Viren</b>		
VZV	1	1,3%
unbekannt	1	1,3%
<b>Gesamt</b>	76	100%

Tabelle 3-25

### 3.6.2.2 Kultureller Nachweis der Pathogene

Insgesamt wurden 52 Erreger mittels Kultur nachgewiesen. Bei 32 Patienten wurden Staphylococcus spp. identifiziert. Streptococcus spp. wurden in 7 und Pneumokokken in 4 Fällen nachgewiesen. Pseudomonas spp. und Enterokokken wurden in jeweils 3 Fällen bestimmt. Candida spp. ließ sich bei 2 und Listeria monocytogenes bei einem Patienten anzüchten (Tabelle 3-26).

Erreger	Anzahl der Erreger	Anteil der einzelnen Erreger bezogen auf eine Gesamtzahl von 52
<b>Bakterien</b>		
Staphylococcus spp.	32	61,5%
Streptococcus spp.	7	13,5%
Pseudomonas spp.	3	5,8%
Pneumokokken	4	7,7%
Enterococcus faecalis	3	5,8%
Listeria monocytogenes	1	1,9%
<b>Pilze</b>		
Candida spp.	2	3,8%
<b>Gesamt</b>	52	100%

Tabelle 3-26

### 3.6.2.3 Serologischer Nachweis der Pathogene

Mit dieser Methode konnte nur ein Erreger bestimmt werden (Tabelle 3-27).

Erreger	Anzahl der Erreger	Anteil der einzelnen Erreger bezogen auf eine Gesamtzahl von 1
<b>Viren</b>		
VZV	1	100%
<b>Gesamt</b>	1	100%

Tabelle 3-27

### 3.6.2.4 Erregerspektrum bei Endophthalmitis

Es wurden 88 Erreger identifiziert. Das dabei entstandene Spektrum ist in folgender Tabelle aufgeführt (Tabelle 3-28).

Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

Erreger	Anzahl der Erreger	Anteil der einzelnen Erreger bezogen auf eine Gesamtzahl von 88
<b>Bakterien</b>		
Staphylococcus spp.	44	50%
Streptococcus spp.	12	13,6%
Pseudomonas spp.	5	5,7%
Pneumokokken	4	4,5%
Enterococcus faecalis	3	3,4%
Moraxella spp.	3	3,4%
Acinetobacter spp.	2	2,3%
Borrelia burgdorferi	1	1,1%
Propionibacterium acnes	1	1,1%
Listeria monocytogenes	1	1,1%
Actinomyces israelii	1	1,1%
Sphingomonas	1	1,1%
Bacillus spp.	1	1,1%
Morganella morganii	1	1,1%
Spiroplasma spp.	1	1,1%
Burgholderi solana	1	1,1%
<b>Pilze</b>		
Candida spp.	4	4,5%
<b>Viren</b>		
VZV	1	1,1%
unbekannt	1	1,1%
<b>Gesamt</b>	88	100%

Tabelle 3-28

### 3.6.3 Retinitis

#### 3.6.3.1 Nachweis der Pathogene mit PCR

Die Retinitiden wurden in 4 Fällen durch *Toxoplasma gondii* verursacht. In jeweils 2 Fällen wurden mittels PCR *Borrelia burgdorferi* und *Candida* spp. nachgewiesen. *Pseudomonas* spp., *Saccharomyces* spp., *Hämophilus influenzae*, Cytomegalie-Virus (CMV) und Varizella-zoster- Virus (VZV) wurden bei jeweils einem Patienten identifiziert (Tabelle 3-29).

Erreger	Anzahl der Erreger	Anteil der einzelnen Erreger bezogen auf eine Gesamtzahl von 13
<b>Bakterien</b>		
<i>Borrelia burgdorferi</i>	2	15,4%
<i>Pseudomonas</i> spp.	1	7,7%
<i>Saccharomyces</i> spp.	1	7,7%
<i>Hämophilus influenzae</i>	1	7,7%
<b>Pilze</b>		
<i>Candida</i> spp.	2	15,4%
<b>Viren</b>		
CMV	1	7,7%
VZV	1	7,7%
<b>Parasiten</b>		
<i>Toxoplasma gondii</i>	4	30,8%
<b>Gesamt</b>	13	100%

Tabelle 3-29

#### 3.6.3.2 Kultureller Nachweis der Pathogene

Durch Anzucht wurde kein Pathogen nachgewiesen.



### 3.6.3.3 Serologischer Nachweis der Pathogene

16 Erreger konnten mittels Serologie identifiziert werden. Dabei wurden Toxoplasmen bei 7 Patienten und *Borrelia burgdorferi* bei 5 Patienten nachgewiesen. Herpes-simplex-Virus (HSV), Epstein-Barr-Virus (EBV), Cytomegalie-Virus (CMV) und Varizella-zoster-Virus (VZV) wurden jeweils einmal bestimmt (Tabelle 3-30).

Erreger	Anzahl der Erreger	Anteil der einzelnen Erreger bezogen auf eine Gesamtzahl von 16
<b>Bakterien</b>		
<i>Borrelia burgdorferi</i>	5	31,3%
<b>Viren</b>		
CMV	1	6,3%
VZV	1	6,3%
HSV	1	6,3%
EBV	1	6,3%
<b>Parasiten</b>		
<i>Toxoplasma gondii</i>	7	43,8%
<b>Gesamt</b>	16	100%

Tabelle 3-30

### 3.6.3.4 Erregerspektrum bei Retinitis

Bei den Retinitiden ließen sich insgesamt 23 Erreger nachweisen. Das dabei entstandene Erregerspektrum kann folgender Tabelle entnommen werden (Tabelle 3-31).

Erreger	Anzahl der Erreger	Anteil der einzelnen Erreger bezogen auf eine Gesamtzahl von 23
<b>Bakterien</b>		
<i>Borrelia burgdorferi</i>	7	30,4%
<i>Pseudomonas</i> spp.	1	4,3%
<i>Saccharomyces</i> spp.	1	4,3%
<i>Hämophilus influenzae</i>	1	4,3%
<b>Pilze</b>		
<i>Candida</i> spp.	2	8,7%
<b>Viren</b>		
CMV	1	4,3%
VZV	1	4,3%
HSV	1	4,3%
EBV	1	4,3%
<b>Parasiten</b>		
<i>Toxoplasma gondii</i>	7	30,4%
<b>Gesamt</b>	23	100%

Tabelle 3-31

## 4 Diskussion

### 4.1 Diskussion Uveitis posterior

Da bei einer Uveitis posterior irreparable Schäden an der Netzhaut entstehen können, ist es äußerst wichtig, eine rasche und genaue Diagnose zu stellen und sofort eine gezielte Therapie einzuleiten. Möglichkeiten der mikrobiologischen Diagnostik bestehen in der Anlage von Kulturen, der Durchführung einer serologischen Untersuchung und in der PCR.

Das klinische Bild dieser Entzündung wird von retinaler Vaskulitis, Neovaskularisationen, Nekrosen und Makulaödemen bestimmt.

Bei den 52 Patienten, die an einer Uveitis posterior erkrankt waren, wurde in 39 Fällen ein Vorderkammerpunktat und in 13 Fällen Glaskörpermaterial entnommen. Dabei glückte bei 21 Patienten der Erregernachweis aus dem Vorderkammerpunktat. Bei 7 Patienten konnten in dem Glaskörperaspirat Pathogene nachgewiesen werden.

Prinzipiell stehen drei herkömmliche Untersuchungsmethoden (Kultur, Mikroskopie und Serologie) zur Verfügung. Die Anlage einer Kultur ist aber bei weitem nicht so sinnvoll wie die Veranlassung einer serologischen Untersuchung, da die Uveitis posterior häufig von viralen und parasitären Erregern, aber auch von Pathogenen wie *Borrelia burgdorferi*, die alle nicht oder nur schwer anzüchtbar sind, verursacht wird. Diese Tatsache spiegelt sich auch in den Ergebnissen der aktuellen Studie wieder. So wurde mittels Kultur ein positives Ergebnis von nur 5,7% erzielt. In 57,7% der Fälle fiel die Kultur negativ aus.

Die Serologie erreichte in 26,9% der Fälle ein positives und in 9,6% der Fälle ein negatives Ergebnis. Bei dieser Methode ist es wichtig sowohl den intraokulären als auch den Antikörpertiter des peripheren Blutes zu bestimmen. Nur dann kann der Goldmann-Witmer-Koeffizient berechnet werden, der schließlich eine Interpretation der nachgewiesenen Antikörper zulässt.

#### **Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

Zum Nachweis von extrem geringen Keimzahlen, also Bedingungen wie man sie gerade im Auge vorfindet, eignet sich vor allem die PCR. Diese molekularbiologische Methode ist auch besonders zur Anwendung bei Patienten geeignet, bei denen mit herkömmlichen Verfahren ein Nachweis des Keimes nicht möglich war oder die sich schon vor Entnahme des Probenmaterials einer Antibiotikabehandlung unterzogen hatten.

Zusammengefasst lässt sich das Grundprinzip der PCR folgendermaßen beschreiben: Die DNA von potentiellen Pathogenen wird aus dem Untersuchungsmaterial isoliert und mit Hilfe der PCR auf eine Anzahl vermehrt, die dann im Labor leicht nachgewiesen werden kann.

In der aktuellen Studie wurde ein positives PCR-Ergebnis von 26,9% erreicht.

Montoya et al untersuchten bei atypischer Retinochoroiditis ebenfalls den Stellenwert der PCR. Die Diagnose wurde in 7 von 15 Fällen gesichert, was einer Erfolgsrate von fast 50% entspricht (Montoya et al, 1999). Der Unterschied zur aktuellen Studie kann durch die verschieden großen Patientenpopulationen (15 Patienten in der früheren, 52 Patienten in der aktuellen Studie) erklärt werden. Obwohl die Durchführung der PCR unter hohen Reinheitsbedingungen stattfindet, können falsch positive Ergebnisse auftreten. Außerdem ist es trotz Mitführung von Positiv- und Negativkontrollen möglich, dass falsch negative Ergebnisse vorkommen. Auch auf diese Weise lassen sich die unterschiedlichen PCR-Erfolge in den verschiedenen Studien begründen.

Anfängliche Studien, bei denen die PCR zur Diagnose einer Toxoplasmose eingesetzt wurde, zeigten eine Sensitivität von weniger als 50% (Aouizerate et al, 1993; Garweg et al, 1996).

Ronday et al verglichen die Ergebnisse der PCR aus intraokulären Flüssigkeiten mit der lokalen Produktion verschiedener Antikörpertypen bei 78 Patienten mit Verdacht auf parasitäre Retinochoroiditis (okuläre Toxoplasmose). Als Kontrolle dienten 77 Patienten mit Uveitis, die nicht auf eine Toxoplasmose zurückzuführen war. Auf diese Weise konnten 88 Patienten mit Toxoplasmose identifiziert werden (68 aus der ersten Gruppe, 20 aus

#### Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

Gruppe 2). Die Kombination von PCR und intraokulärer IgG-Produktion, bestimmt durch eine serologische Untersuchung, erbrachte eine Sensitivität von 77% (Ronday et al, 1999). Im Vergleich dazu wurde in unserer Studie mit 52 Patienten ein positives PCR- und Serologie-Ergebnis von jeweils 26,9% erreicht. Die im Vergleich zur früheren Studie niedrige Erfolgsrate kann durch die Tatsache erklärt werden, dass Ronday et al eine Vorauswahl der Patienten trafen. Da der Verdacht auf eine okuläre Toxoplasmose bestand, wurde sofort eine Serologie veranlasst und es wurden folglich mehr positive Ergebnisse erzielt. In unserer Studie wurde keine Vorauswahl getroffen, es kamen auch mehr Pathogene als Verursacher der Uveitis posterior in Frage als in der früheren Studie. Die Tatsache, dass die PCR in unserem Fall schlechter abschnitt, kann wie oben schon erwähnt auf falsch positive und falsch negative Ergebnisse zurückgeführt werden.

Knox et al führten eine PCR bei 37 Augen von 38 Patienten mit Uveitis posterior durch. Eine Diagnosestellung mittels PCR war bei 25 Augen möglich (Knox et al, 1998). Diese Erfolgsrate von fast 70% liegt wieder deutlich über der der aktuellen Studie.

Cytomegalie-Virus (CMV), Varizella-zoster-Virus (VZV) und Toxoplasmen gelten als Hauptverursacher einer Uveitis posterior. Dies stellten auch Mitchell et al in einer Studie fest (Mitchell et al, 1994). Dabei wurden bei 4 von 9 Patienten CMV, bei 3 Patienten VZV und bei den restlichen Patienten Toxoplasmen isoliert.

McCannel et al fanden in einer Studie ebenfalls heraus, dass CMV und Toxoplasmen bei Uveitis posterior häufig nachgewiesen werden (McCannel, 1996). Meist gelangen diese Pathogene von anderen Infektionsherden im Körper über den Blutweg ins Auge, wobei die starke Durchblutung der Uvea begünstigend für eine Besiedlung mit Mikroorganismen wirkt.

In der aktuellen Studie machten *Toxoplasma gondii* und *Candida* spp. 17,6% der Erreger aus. CMV oder VZV konnten nicht identifiziert werden. *Borrelia burgdorferi* wurden in 7 Fällen und damit am häufigsten isoliert (25%). Dies liegt wohl daran, dass die Region Regensburg/Passau, aus der die meisten Patienten stammten, zu den Zeckenballungszentren

Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut Deutschlands gehört. Die Erreger, die in der aktuellen Studie nachgewiesen wurden, werden in folgender Tabelle zur Übersicht dargestellt (Tabelle 4-1).

	<b>Erregerspektrum der aktuellen Studie</b> (bezogen auf 28 nachgewiesene Erreger)
<b>Viren</b>	
HSV	7,1%
EBV	3,6%
<b>Bakterien (gram-positiv)</b>	
Staphylococcus spp.	7,1%
<b>Bakterien (gram-negativ)</b>	
Borrelia burgdorferi	25,0%
Pseudomonas spp.	14,3%
<b>Pilze</b>	
Candida spp.	17,9%
Meliola niessleana	3,6%
<b>Parasiten</b>	
Toxoplasma gondii	17,9%
unbekannt	3,6%

Tabelle 4-1

## 4.2 Diskussion Endophthalmitis

Um eine Endophthalmitis adäquat therapieren zu können, ist es wichtig eine rasche und genaue Diagnose zu stellen. Die Möglichkeiten der Diagnostik einer Endophthalmitis bestehen sowohl in der klinischen Untersuchung als auch in mikrobiologischen Verfahren.

Das klinische Bild ist durch einen verstärkten Reizzustand der vorderen Augenabschnitte, Hypopyon in der Vorderkammer und Zellen im Glaskörperraum gekennzeichnet. Die Klinik wird von starken, periokulären Schmerzen und einer Sehverschlechterung bis hin zum Sehverlust gekennzeichnet (Callegan et al, 1999).

Der Keimnachweis sollte prinzipiell aus intraokularem Material erfolgen, insbesondere sind dafür Kammerwasser und Glaskörperaspirat geeignet.

In der aktuellen Untersuchung wurde bei 55 Patienten die Vorderkammer punktiert. Diese Punktion erfolgte bei 36 Patienten mit akuter und bei 19 Patienten mit chronischer Endophthalmitis. Bei insgesamt 34 Patienten konnte man in diesem Kammerwasser einen Erreger nachweisen (61,8%). 33 dieser 34 Patienten waren an akuter Endophthalmitis erkrankt.

Im Glaskörpermaterial, das 70 Patienten (51 Patienten mit akuter und 19 Patienten mit chronischer Endophthalmitis) entnommen wurde, konnte in 54 Fällen ein Pathogen isoliert werden (77,1%). In den 51 Fällen mit akuter und in drei Fällen mit chronischer Endophthalmitis glückte der Erregernachweis aus dem Glaskörperpunktat. Die Angaben in der Literatur über die Nachweishäufigkeit von Erregern im Glaskörper gehen weit auseinander und liegen zwischen 50 und 83% (de Kaspar et al, 1993; Fisch et al, 1991; Forster et al, 1980; Hatano et al, 1991; Kampik, Dabov, 1986; Olk, Bohigian, 1987; Puliafito et al, 1982; Rowsey et al, 1982; Rowsey et al, 1987; Weber et al, 1986). Dies wird durch unser Ergebnis bestätigt.

Lohmann et al gelang ein positiver Keimnachweis im Glaskörper in 50% der Fälle (Lohmann et al, 1997a). Aufgrund der bisher publizierten Untersuchungen ist vor allem die

Untersuchung des Glaskörpers von großem diagnostischen Wert, da im Vorderkammerpunktat mit Ausnahme von Leukozyten gehäuft falsch negative Befunde erzielt werden (Lohmann et al, 1997a).

Derzeit erfolgt der mikrobiologische Nachweis der Erreger einer Endophthalmitis standardmäßig mikroskopisch und kulturell. Die Mikroskopie eignet sich besonders zur schnellen Diagnostik und zur Differenzierung von gram-positiven und gram-negativen Bakterien. Eine Abgrenzung von Bakterien und Pilzen ist mit dieser Methode ebenfalls möglich. Diese Schnelldiagnostik findet besonders bei operativen Eingriffen Anwendung. Dabei wird aus dem infiltrierte Bereich des Auges Flüssigkeit entnommen, diese auf einen Objektträger gebracht und dann mit einer 40-fachen Vergrößerung im Mikroskop betrachtet. Während Lohmann et al in einer früheren Studie zeigten, dass die Mikroskopie in 33% der Fälle positiv war (Lohmann et al, 1997a), wurden in der aktuellen Studie in 14,3% der Fälle mikroskopisch gram-positive Kokken identifiziert. Bei 15 der 87 Patienten mit akuter Endophthalmitis konnten Bakterien im Mikroskop nachgewiesen werden (17,2%), bei 38 Patienten mit chronischer Endophthalmitis ließen sich die Pathogene in 3 Fällen (7,9%) mikroskopisch identifizieren. In insgesamt 66,7% der Fälle wurden lediglich Zelldetritus und Leukozyten nachgewiesen. Normalerweise wird bei einer Endophthalmitis immer eine mikroskopische Untersuchung veranlasst, jedoch könnte die niedrige Zahl von 14,3% in unserer Studie aus der Tatsache resultieren, dass bei 38 von 125 Patienten in den Akten kein Mikroskopieergebnis vermerkt war. Fest steht jedoch, dass die Schnelldiagnostik mittels Mikroskopie generell in 31% erfolgreich ist (de Kaspar et al, 1993; Forster et al, 1980; Olk, Bohigian, 1987; Peyman, Bassili, 1995; Rowsey et al, 1982).

Um eine infektiöse Endophthalmitis zu diagnostizieren, ist es sinnvoll eine Kultur anzulegen. Dadurch ist eine höhere Keimausbeute, eine bessere Differenzierung und auch eine Antibiotikatestung möglich. In der aktuellen Studie wurde bei 123 von 125 Patienten eine kulturelle Untersuchung durchgeführt. Diese war bei 41,6% der Patienten positiv. Lohmann et al erzielten in einer früheren Studie ein Ergebnis von 67% (Lohmann et al, 1997b). In einer weiteren Untersuchung wurde ein Wert von 50% erreicht (Lohmann et al, 1997a).



#### Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

Es ist bemerkenswert, dass die Kultur in 56,8% der Fälle negativ bleibt. Ursachen liegen in der Tatsache, dass die Kultivierbarkeit eines Keimes artspezifisch ist, von der Keimzahl, der Vorschädigung des Keimes und wachstumshemmenden Faktoren abhängt.

Die ohnehin schon geringe Keimzahl im Untersuchungsmaterial wird durch Aufteilung des Probenmaterials aus Gründen der Differentialdiagnose häufig noch weiter minimiert. Hinzu kommt noch, dass Leukozyten und Komplement, toxische Faktoren aus Entzündungsreaktionen des Körpers, das Wachstum der Keime behindern können. Auf diese Weise könnte das positive Kulturergebnis von nur 41,6% und das falsch negative Ergebnis von 56,8% zustande gekommen sein.

Bei geringen Erregerzahlen erweist sich die PCR als recht hilfreich. Durchgeführt wurde sie bei allen 125 Patienten. Mit einer Erfolgsrate von 60,8% in unserer Studie übertrifft sie die Erfolgsrate der Kultur (41,6%). Lohmann et al untersuchten eine Patientengruppe von 12 Personen. Bei allen Patienten (100%) konnte die Nukleinsäure des Pathogens mittels PCR aus dem Vorderkammerpunktat amplifiziert werden. Mit Ausnahme von 2 Patienten mit chronischer Endophthalmitis ließen sich die Erreger auch im Glaskörperaspirat nachweisen (Lohmann et al, 1997a). Die Unterschiede zwischen der früheren und aktuellen Studie können durch die unterschiedlichen Patientenzahlen (12 Patienten in der früheren, 125 Patienten in der aktuellen Studie) und damit durch die unterschiedliche Repräsentativität der Ergebnisse bedingt sein.

Die hohe Sensitivität der PCR erweist sich zwar als vorteilhaft gegenüber den konventionellen diagnostischen Verfahren, jedoch muss bei der Interpretation der Befunde darauf geachtet werden, daß die hohe Sensitivität der PCR auch zu falsch positiven Ergebnissen führen kann. Bei einem positiven PCR-Ergebnis kann man nicht zwischen dem Keim unterscheiden, der eine Infektion auslöst und einer Kontamination, die während der Proben-gewinnung oder Verarbeitung im mikrobiologischen Labor entsteht. Folglich ist höchstes Reinheitsgebot während der Probeentnahme und der Weiterverarbeitung der Proben obligatorisch. Um falsch negative Ergebnisse zu verhindern, wurden Positiv- und Negativkontrollen mitgeführt.

#### Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

Da die Endophthalmitis fast immer durch Bakterien wie z.B. Staphylokokken ausgelöst wird, beträgt die Erfolgsrate bei serologischer Untersuchung nur 0,8%. Dies spiegelt sich auch in dem von uns gefundenem Erregerspektrum wieder (Tabelle 4.2.). Varizella-zoster-Virus (VZV) wurde als einziger viraler Erreger bei einer Gesamterregerzahl von 88 einmal isoliert (1,1%). Ebenso wurden *Borrelia burgdorferi*, die ebenfalls durch Serologie nachgewiesen werden, bei nur einem Patienten gefunden (1,1%). In der aktuellen Studie wurde folglich eine serologische Untersuchung nur in 2 Fällen durchgeführt.

Nachdem die Endophthalmitis in unserer Studie zu 50% durch Staphylokokken und 13,6% durch Streptokokken ausgelöst wurde, muss die Kultur höhere positive Ergebnisse als die Serologie liefern. Dies wurde mit einer Erfolgsquote von 41,6% auch erreicht. Die dritthäufigsten Bakterien die eine Endophthalmitis auslösten, waren *Pseudomonas* spp. mit 5,7%. Pneumokokken wurden viermal (4,5%), *Enterococcus faecalis* und *Moraxella* spp. wurden jeweils dreimal (jeweils 3,4%) und *Acinetobacter* spp. zweimal (2,3%) isoliert. *Candida* galt in 4 Fällen (4,5%) als Verursacher der Endophthalmitis. Das gesamte Erregerspektrum ist untenstehender Tabelle zu entnehmen (Tabelle 4-2).

Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

	<b>Erregerspektrum der aktuellen Studie</b> (bezogen auf 88 nachgewiesene Erreger)
<b>Viren</b>	
VZV	1,1%
<b>Bakterien</b>	
Staphylococcus spp.	50,0%
Streptococcus spp.	13,6%
Pseudomonas spp.	5,7%
Pneumokokken	4,5%
Moraxella spp.	3,4%
Enterococcus spp.	3,4%
Acinetobacter spp.	2,3%
Propionibacterium acnes	1,1%
Actinomyces israelii	1,1%
Bacillus spp.	1,1%
Listeria monocytogenes	1,1%
Borrelia burgdorferi	1,1%
Sphingomonas	1,1%
Morganella morganii	1,1%
Spiroplasma spp.	1,1%
Burgholderia solana	1,1%
<b>Pilze</b>	
Candida spp.	4,5%
unbekannt	1,1%

Tabelle 4-2

Das in der aktuellen Studie erstellte Erregerspektrum stimmt mit den sonst beschriebenen auslösenden Pathogenen überein. So gelten Staphylococcus spp. als häufigste Verursacher einer akuten Endophthalmitis, gefolgt von Pseudomonas spp. Auch Candida spp. werden als Verursacher einer Endophthalmitis erwähnt. Viren und Parasiten kommen nicht vor.

#### **Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

In der Studie von Lohmann et al verursachten Staphylokokken über die Hälfte aller Endophthalmitiden (Lohmann et al, 1997a). Genau dieser Wert wurde auch in der aktuellen Studie erzielt. Weiterhin wurden in der früheren Studie je zweimal *Actinomyces israelii* und *Propionibacterium acnes* isoliert. *Moraxella catarrhalis* wurde einmal nachgewiesen.

Die Diagnostik und die daraus resultierende Behandlung der Endophthalmitis erfährt durch die PCR sicherlich eine starke Verbesserung, jedoch stellen die konventionellen Methoden immer noch einen wichtigen Teil zur Identifizierung der Erreger dar. Die Vorteile, wie Preisgünstigkeit und Möglichkeit zur Sensitivitätstestung gegenüber Antibiotika, die die kulturelle Anzucht bietet, sind momentan noch nicht wegzudenken. Obwohl die Kultur im Vergleich zur PCR lange dauert und auch nicht immer einen positiven Keimnachweis ermöglicht, sind Antibiogramme für die gezielte Behandlung unumgänglich.

### 4.3 Diskussion Retinitis

Da eine Retinitis eine Zerstörung der Retina und einen Sehverlust zur Folge haben kann, ist eine rasche und genaue Diagnosestellung von großer Bedeutung. Mikrobiologische Verfahren wie Kultur, Serologie und PCR stehen für den Keimnachweis zur Verfügung.

Die sicherste Nachweismethode einer Retinitis stellt die Virusisolierung aus Glaskörper- oder Vorderkammerpunktat dar (Zierhut, 1993). In der aktuellen Studie wurde bei 37 Patienten die Vorderkammer punktiert, wobei aus diesem Material in 17 Fällen ein Erreger isoliert werden konnte (45,9%). Bei 14 Patienten wurde Glaskörpermaterial entnommen. In 6 Fällen konnte darin das Pathogen nachgewiesen werden (42,9%).

Der mikrobiologische Keimnachweis kann mittels herkömmlicher Methoden wie Kultur und Serologie erfolgen. Obwohl bei 30 der insgesamt 51 Patienten ein kultureller Nachweis versucht wurde, konnte auf diese Weise kein Erreger nachgewiesen werden (0%). Die Kultur war in 58,8% der Fälle negativ. Bei der serologischen Untersuchung hingegen, die bei 21 Patienten durchgeführt wurde, konnte eine Erfolgsrate von 31,4% erzielt werden. Diese Ergebnisse spiegeln die Tatsache wieder, dass Retinitiden mit Ausnahme von endogenen Infektionen und Pilzinfektionen sehr häufig durch Viren, Parasiten und Bakterien wie *Treponema pallidum* ausgelöst werden, die sich nur durch serologische Untersuchung nachweisen lassen.

Die neue Methode der Nukleinsäureamplifikation (PCR), die bei allen Patienten durchgeführt wurde, war in unserer Studie in 25,5% der Fälle erfolgreich und liegt damit knapp hinter dem Ergebnis der Serologie (31,4%).

Tran et al untersuchten Vorderkammerpunktate von 22 Patienten (Tran et al, 2003). Diese Patienten wurden in zwei Gruppen aufgeteilt. Die eine Gruppe (n=19) beinhaltete Patienten mit dem akuten Retina Nekrosesyndrom (ARN), die andere (n=3) fasste Patienten zusammen, die unter progressiver retinaler Nekrose (PORN) litten. Das ARN ist von der „American Uveitis Society“ durch folgende Symptome beschrieben worden: unbegrenzte retinale Nekrose in der Peripherie, rasche, kreisförmige Ausbreitung, Vaskulopathie,

#### Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

Glaskörper und Vorderkammerinfiltration. Es kann sowohl Immungesunde, als auch immunsupprimierte Patienten betreffen (Tabbara, Hyndiuk, 1996). In der Studie wurde mittels PCR in der Gruppe von 19 Patienten in 86,4% der Fälle virale DNA nachgewiesen. Bei den 3 Patienten mit PORN wurde in allen Fällen der Erreger mittels PCR identifiziert (Tran et al, 2003). Das Ergebnis der früheren Studie fällt deutlich besser aus als das der aktuellen Studie. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass Tran et al bei ihren Patienten gezielt nach viraler DNA (Vorauswahl) gesucht haben, wohingegen bei der vorliegenden Untersuchung keine Einschränkung gemacht wurde. Zudem können trotz Mitführung von Kontrollproben bei der Durchführung der PCR falsch negative Ergebnisse entstehen.

Garweg et al zeigten ebenso die Wichtigkeit und hohe Sensitivität der PCR im Rahmen von Retinaentzündungen auf (Garweg et al, 1991). Es wurden 5 AIDS-Patienten mit den typischen klinischen Zeichen einer CMV-Retinitis mit 10 immunkompetenten, gesunden Kontrollpatienten verglichen. Mittels PCR wurde bei 4 von 5 AIDS-Patienten CMV nachgewiesen. Bei der Kontrollgruppe wurde kein Pathogen isoliert. CMV-Antikörper konnten bei den immunschwachen Patienten nicht gefunden werden (Garweg et al, 1991). Diese Studie ist aufgrund der Tatsache, dass es sich um immunsupprimierte Patienten handelt, nur schwer mit der aktuellen Studie zu vergleichen, soll aber den hohen diagnostischen Wert der PCR aufzeigen.

Nogueira et al konnten in 11 von 17 Untersuchungsmaterialien Herpesvirus-DNA nachweisen. Dies entspricht einer Erfolgsrate von über 60%. Das hohe positive Ergebnis gegenüber der aktuellen Studie (25,5%) lässt sich dadurch erklären, dass gezielt nach viraler Nukleinsäure gesucht wurde (Nogueira et al, 2001).

Die PCR eignet sich sehr gut, um klinisch diagnostizierte Entzündungen zu bestätigen. So verwendeten Ganatra et al die PCR bei 30 Augen von 28 Patienten, um die Diagnose des ARN zu bestätigen, das Folge einer Retinitis sein kann. Dies gelang bei 96,5% der Patienten (Ganatra et al, 2000).

Die Hauptursache von Retinitiden stellen Vertreter aus der Gruppe der Herpesviren (HSV, CMV und VZV) dar (Tabbara, Hyndiuk, 1996). Tran et al konnten dies mit ihrer Studie

#### Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

belegen: bei 19 Patienten mit ARN herpetischer Genese wurde in 6 Fällen VZV, in 2 Fällen HSV-1 und in jeweils vier Fällen HSV-2 und CMV isoliert (Tran et al, 2003).

In der aktuellen Studie wurden CMV, VZV, HSV und EBV jeweils einmal (4,3%) nachgewiesen.

*Mycobacterium tuberculosis* und *Treponema pallidum* sind häufige bakterielle Erreger einer Retinitis (Tabbara, Hyndiuk, 1996). Diese wurden bei uns nicht identifiziert.

Im Spätstadium einer Lymeborreliose, die durch *Borrelia burgdorferi* verursacht wird, findet man häufig Retinitiden. Dieses Pathogen galt in der aktuellen Studie als Auslöser von 7 Entzündungen dieser Art. Wie schon bei den Erregern der Uveitis posterior dargelegt, ist der Grund für eine derartige Häufung von Borrelien-bedingten Entzündungen in der Herkunft der Patienten zu suchen. Die Region Regensburg/Passau, aus der die meisten Patienten stammten, ist eines der größten Zeckenballungszentren Deutschlands.

Endogene Infektionen der Retina werden durch *Streptococcus pneumoniae*, Serratien, Klebsiellen, *E.coli*, Listerien und Enterokokken verursacht. Keines dieser Bakterien wurde in der aktuellen Studie nachgewiesen. *Pseudomonas* spp., *Saccharomyces* spp. und *Hämophilus influenzae* wurden hingegen je einmal identifiziert.

*Toxoplasma gondii* hat vor allem bei AIDS-Patienten eine Retinitis zur Folge (Zierhut, 1993).

Dieser Parasit zählt in unserer Studie zusammen mit den Borrelien zu den häufigsten nachgewiesenen Pathogenen (30,4% aller Erreger).

Fungal bedingte Entzündungen der Retina werden oft durch *Candida* spp., *Aspergillus* spp. und *Cryptococcus neoformans* ausgelöst. *Candida* spp. wurde bei uns zweimal isoliert.

**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

Eine Übersicht über das Erregerspektrum der aktuellen Studie gibt folgende Tabelle (Tabelle 4-3).

	<b>Erregerspektrum der aktuellen Studie</b> (bezogen auf 23 nachgewiesene Erreger)
<b>Viren</b>	
HSV	4,3%
EBV	4,3%
CMV	4,3%
VZV	4,3%
<b>Bakterien</b>	
Borrelia burgdorferi	30,4%
Pseudomonas spp.	4,3%
Saccharomyces spp.	4,3%
Hämophilus influenzae	4,3%
<b>Pilze</b>	
Candida spp.	8,7%
<b>Parasiten</b>	
Toxoplasma gondii	30,4%

Tabelle 4-3

Zusammenfassend ist die PCR ein wertvolles Instrument zur Diagnostik einer Retinitis, insbesondere wenn gezielt nach der Nukleinsäure eines Pathogens gesucht wird, d.h. wenn eine Vorauswahl der Patienten getroffen wird.



## 5 Zusammenfassung

In der aktuellen Studie konnte bei Patienten mit **Uveitis posterior** mittels serologischer Untersuchung das gleiche mikrobiologische Ergebnis erzielt werden wie mit der PCR. Diese Methoden waren in 26,9% der Fälle positiv, wohingegen mittels Kultur in nur 5,7% der Fälle ein Erreger nachgewiesen werden konnte.

Bei den **Endophthalmitis**-Patienten konnten mittels PCR die besten Erfolge erreicht werden (60,8%). Kultur und Serologie waren mit 41,6% und 0,8% weniger erfolgreich. Es konnte demonstriert werden, dass es bei Endophthalmitiden weniger sinnvoll ist, ein serologisches Verfahren zu veranlassen, da diese hauptsächlich durch Bakterien verursacht werden, die sich durch das Anlegen einer Kultur nachweisen lassen.

Die Erreger von **Retinitiden** konnten mittels Serologie am besten bestimmt werden (31,4%). Die PCR verfehlte diesen Wert knapp (25,5%). Durch Anzucht ließ sich kein Erreger identifizieren.

Im Vergleich zu früheren Studien war auffallend, dass die PCR bei allen Entzündungen ein deutlich besseres Ergebnis erzielte, wenn eine Vorauswahl der Patienten getroffen wurde. Dabei wird gezielt nach einer bestimmten Nukleinsäure, d.h. einem bestimmten Erreger gesucht. Damit liegen die Erfolgsquoten höher. Die Vergleichsstudien hatten zudem oft eine deutlich geringere Patientenzahl und sind damit weniger aussagekräftig.

Das für Uveitis posterior, Endophthalmitis und Retinitis gefundene Erregerspektrum wurde im Ergebnis durch frühere Studien und auch durch die allgemein in der Literatur beschriebenen Pathogene bestätigt.

Insgesamt kann man feststellen, dass die PCR wie beispielsweise bei der Endophthalmitis sehr gute Ergebnisse erreichte. Trotzdem sollte die Nukleinsäureamplifikation immer in Kombination mit den etablierten Verfahren angewendet werden. Nur so können die Vorteile der einzelnen Methoden genutzt werden.

## 6 Schlussfolgerungen

Um okulare Entzündungszustände schnell und zuverlässig abklären zu können, stellt die PCR eine ideale Ergänzung zu den herkömmlichen mikrobiologischen Methoden wie Mikroskopie, Kultur und Serologie dar. Vor allem bei Verfügbarkeit von nur kleinsten Probenmengen, beim Vorliegen von geringen Erregerzahlen im Untersuchungsmaterial oder zum schnellen Nachweis von schwer oder nicht-kultivierbaren Erregern erweist sich die PCR als äußerst vorteilhaft.

Trotz dieser enormen Vorteile der PCR, behalten die konventionellen Verfahren jedoch immer noch ihren Stellenwert.

Im Gegensatz zur PCR stellt die Kultur eine relativ billige und sensitive Methode dar. Darüberhinaus erlaubt die kulturelle Anzucht eine gezielte Sensibilitätstestung gegenüber verschiedenen Antibiotika. Auch wenn die Kultur nicht immer einen positiven Keimnachweis ermöglicht, und in den meisten Fällen mindestens 24 Stunden in Anspruch nimmt, so sind solche Antibiogramme für die gezielte Behandlung und Verlaufskontrolle ein wichtiger klinischer Parameter.

Erfahrungsgemäß kann die mikroskopische Untersuchung von okularem Untersuchungsmaterial nur bei relativ hoher Erregerzahl erfolgreich eingesetzt werden und liefert nur Hinweise auf die Morphologie der Erreger. Ein Vorteil der Mikroskopie ist aber, dass man in relativ kurzer Zeit erste Ergebnisse erhält.

Serologische Verfahren sind aufgrund der privilegierten immunologischen Stellung des Auges in vielen Fällen nur bedingt aussagekräftig, sie sind aber genauso wie Mikroskopie und PCR rasch durchzuführen.

Die PCR sollte im Idealfall in Kombination mit den etablierten mikrobiologischen Verfahren angewendet werden. So kann diese molekularbiologische Methode als „Schnelltest“ fungieren, wohingegen die Kultur die Antibiotikasensibilitätstestung übernimmt. Bei vira-

**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**  
len Infektionen ist es sinnvoll neben der PCR immer eine serologische Untersuchung zu veranlassen, um vorhandene Durchseuchungstiter des Patienten festzustellen.

Vor der Entscheidung, eine PCR-Untersuchung anzufordern, sollte erst eine genaue Abwägung zwischen der erzielbaren bzw. erforderlichen Schnelligkeit, Sensitivität und Spezifität des Erregernachweises im Vergleich mit den bewährten konventionellen Methoden erfolgen. Um nach Erhalt der mikrobiologischen Ergebnisse den Befund richtig zu interpretieren, ist es wichtig das klinische Bild in die Diagnosestellung miteinzubeziehen.

Zusammengefasst sollte sich die Diagnostik von intraokulären Infektionen auf zwei Pfeiler stützen: zum einen auf die herkömmlichen Verfahren in Kombination mit der PCR, zum anderen auf das klinische Bild der Entzündung und die Anamnese des Patienten.

Generell sind die Möglichkeiten der Nukleinsäureamplifikation noch nicht ausgeschöpft und es ist zu erwarten, dass diese Technik in Zukunft standardmäßig in jeder Klinik zur mikrobiologischen Diagnostik eingesetzt wird. Bevor dies möglich ist, müssen jedoch noch die derzeit hohen Kosten durch z.B. Teilautomatisierung gesenkt werden.

## Literaturverzeichnis

- (1) Aouizerate F, Cazenave J, Poirier L (1993) Detection of *Toxoplasma gondii* in aqueous humour by the polymerase chain reaction. *Br J Ophthalmol* 77: 107-109
- (2) Baum J (1995) Infections of the eye. *Clin Infect Dis* 21:479-486
- (3) Becker MD, Bodaghi B, Holz FG, Harsch N, Le Hoang P (2003) Diagnostische Vitrektomie bei Uveitis. *Ophthalmologie* 100:796-801
- (4) Bloch-Michel E, Nussenblatt RB (1987) International uveitis study group recommendations for the evaluation of intraocular inflammatory disease. *Am J Ophthalmol* 103:234-235
- (5) Callegan MC, Booth MC, Jett BD, Gilmore MS (1999) Pathogenesis of gram-positive bacterial endophthalmitis. *Infection and immunity* 7:3348-3356
- (6) de Kaspar MH, Kollmann M, Klaus V (1993) Endophthalmitis. Bedeutung mikrobiologischer Untersuchungen für Therapie und Prognose. *Ophthalmologie* 90:726-736
- (7) Ehrlich HA, Gelfant D, Sninski JJ (1991) Recent advances in the polymerase chain reaction. *Science* 252:1643-1651
- (8) Fisch A, Salvanet A, Prazuck Tk, Forestier F, Gerbaud L, Coscas G, Lafaix C (1991) Epidemiology of infective endophthalmitis in France. *Lancet* 338:1373-1376
- (9) Forster RK, Abbott RL, Gelender H (1980) Management of infectious endophthalmitis. *Ophthalmology* 87:313-319
- (10) Foster CS, Vitale AT. *Diagnosis and treatment of uveitis*. 1. Auflage, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2002; 17-22, 25

**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

- (11) Ganatra J, Chandler D, Santos C, Kuppermann B, Margolis TP (2000) Viral causes of the acute retinal necrosis syndrome. *Am J Ophthalmol* 129:166-172
- (12) Garweg J, Boehnke M, Koerner F (1996) Restricted applicability of the polymerase chain reaction for the diagnosis of ocular toxoplasmosis. *Ger J Ophthalmol* 5:104-108
- (13) Garweg J, Fenner T, Schmitz H, Boehnke M (1991) Nachweis von HCMV-DNA im Kammerwasser zur Diagnosesicherung der viralen Retinitis. *Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft* 6:735-739
- (14) Hahn H, Falke D, Klein P. *Medizinische Mikrobiologie*. 2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1994; 233-234, 236
- (15) Hatano H, Inoue K, Matoba H, Kurita M, Ikeda S, Taqawa Y, Kamei S, Sakamoto S, Ishibashi Y, Watanabe R (1991) Endophthalmitis in Japan. a nationwide study with reference to type and etiology. *Acta Soc Ophthalmol Jpn* 95:369-376
- (16) Kampik A, Dabov B. Akute Endophthalmitis. In: Lund OE, Waubke TN. *Akute Augenerkrankungen-Akute Symptome*. Büch Augenarzt, Bd 109, Enke Verlag, Stuttgart, 1986 ; 117-193
- (17) Karlson P, Doenecke D, Koolman J. *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*. 14. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1994; 127
- (18) Knox CM, Chandler D, Short GA, Margolis TP (1998) Polymerase chain reaction-based assays of vitreous samples for the diagnosis of viral retinitis. Use in diagnostic dilemmas. *Ophthalmology* 105:37-44
- (19) Lohmann CP, Linde HJ, Reischl U (1997a) Die Schnelldiagnostik einer infektiösen Endophthalmitis mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR): Eine Ergänzung zu den konventionellen mikrobiologischen Diagnostikverfahren. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 211: 22-27

**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

- (20) Lohmann CP, Reischl U, Linde HJ, Gabel VP (1997b) Improved Detection of Microorganisms in Endophthalmitis by Polymerase Chain Reaction. 1-14
- (21) McCannel CA, Holland GN, Helm CJ, Cornell PJ, Winston JV, Rimmer TG (1996) Causes of uveitis in the general practice of ophthalmology. *Am J Ophthalmol* 121:35-46
- (22) Mitchell SM, Fox JD, Tedder RS (1994) Vitreous fluid sampling and viral genome detection for the diagnosis of viral retinitis in patients with AIDS. *J Med Virol* 43: 336-340
- (23) Montoya J, Parmley S, Liesenfeld O, Jaffe GJ, Remington JS (1999) Use of the polymerase chain reaction for diagnosis of ocular toxoplasmosis. *Ophthalmology* 106:1554-1563
- (24) Nogueira ML, Siqueira RC, Freitas N, Amorim JB, Bonjardim CA, Ferreira PC, Orfice F, Kroon EG (2001) Detection of herpesvirus DNA by the polymerase chain reaction (PCR) in vitreous samples from patients with necrotising retinitis. *Journal of clinical pathology* 2:103-106
- (25) Olk RJ, Bohigian GM (1987) The management of endophthalmitis: diagnostic and therapeutic guidelines including the use of vitrectomy. *Ophthalmic Surg* 18:262-267
- (26) Peyman GA, Bassili SS (1995) A practice guideline for management of endophthalmitis. *Ophthalmic Surg* 26: 294-303
- (27) Puliafito CA, Baker AS, Haaf J, Foster CS (1982) Infectious endophthalmitis. *Ophthalmology* 89:921-929
- (28) Rowsey JJ, Newsom DL, Sexton DJ, Harms WK (1982) Endophthalmitis: current approaches. *Ophthalmology* 89:1055-1066
- (29) Reischl U (2003) Vorlesung Medizinische Mikrobiologie. Teil 2: Bakteriologie, Pilze, Parasiten. Materialien. Molekularbiologische Diagnostik (PCR). Skript 8:1-10

**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

(30) Reischl U, Lohmann CP (1997) Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und ihre Anwendungsmöglichkeiten zur infektiologischen Diagnostik in der Ophthalmologie. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 211:227-234

(31) Reischl U, Mayer J (1993) Moderne Methoden der Nukleinsäure-Diagnostik. *Lab med* 17:456-464

(32) Ronday M, Ongkosuwito J, Rothova A, Kijlstra A (1999) Intraocular anti-Toxoplasma gondii IgA antibody production in patients with ocular toxoplasmosis. *Am J Ophthalmol* 127:294-300

(33) Rowsey JJ, Jensen H, Sexton DJ (1987) clinical diagnosis of endophthalmitis. *Int Ophthalmol Clin* 27:82-88

(34) Rowsey JJ, Newsom DL, Sexton DJ, Harms WK (1982) Endophthalmitis: current approaches. *Ophthalmology* 89:1055-1066

(35) Saiki, RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N (1985) Enzymatic amplification of  $\beta$ -globin sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230:1350-1354

(36) Smith RE, Nozik RA. Uveitis. A clinical approach to diagnosis and management. Williams and Wilkins, Baltimore, 1989; 6,15-20

(37) Tabbara KF, Hyndiuk RA. Infections of the eye. 2.Auflage, Little, Brown and Company, Boston, New York, Toronto, London, 1996; 503, 512, 513

(38) Thureau S (2003) Praktische Hinweise zur Gewinnung und erfolgreichen Aufbereitung von Vorderkammerpunktat und Vitrektomiematerial. *Ophthalmologe* 100:802-807

(39) Tran TH, Rozenberg F, Cassoux N, Rao NA, LeHoang P, Bodaghi B (2003) Polymerase chain reaction analysis of aqueous humour samples in necrotising retinitis. *The British journal of ophthalmology* 1:79-83

**Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut**

(40) Weber DJ, Hoffman KL, Thoft RA, Baker AS (1986) Endophthalmitis following intraocular lens implantation: report of 30 cases and review of the literature. Rev Infect Dis 8: 12-20

(41) Wilson FM (1987) Causes and prevention of endophthalmitis. Int Ophthalmol Clin 27: 67-73

(42) Witting H. Mathematische Statistik I. Teubner, Stuttgart, 1985; 385

(43) Yanoff M, Fine BS. Nongranulomatous inflammation: uveitis, endophthalmitis, panophthalmitis and sequelae. In: Ocular pathology: a text and atlas. 2.Auflage, Harper & Row, New York, 1982; 60-76

(44) Zierhut M. Uveitis. Band1: Differentialdiagnose. Kohlhammer, Stuttgart, 1993; 75-79, 95-97, 100



## Anhang

Statistik

Übersicht über die positiven Ergebnisse der einzelnen Nachweisverfahren

	PCR+	Kultur+	Serologie+
Uveitis posterior	26,9%	5,7%	26,9%
Endophthalmitis	60,8%	41,6%	0,8%
Retinitis	25,5%	0%	31,4%

Tabelle 8-1

Berechnung von Signifikanzen

Die Berechnung der Signifikanzen erfolgt mit dem „exakten Test nach McNemar“.

Dieser Test hat eine 2x2 Vierfeldertafel (Kontingenztafel) zur Grundlage.

	B+	B-
A+	n <sub>++</sub>	n <sub>+-</sub>
A-	n <sub>-+</sub>	n <sub>--</sub>

Tabelle 8-2

„A“ und „B“ bezeichnen jeweils die mikrobiologischen Tests (PCR, Kultur, Serologie), die durchgeführt wurden. „+“ bzw. „-“ bezeichnet jeweils, ob mit dem jeweiligen Verfahren ein Pathogen nachgewiesen werden konnte oder nicht. „n“ bezeichnet die Anzahl der Patienten (Tabelle 8-2).

Nullhypothese (nach Möglichkeit abzulehnen): „Altes Verfahren (Kultur, Serologie) weist Pathogene mit einer höheren Erfolgswahrscheinlichkeit nach als neues Verfahren (PCR).“

## Uveitis posterior

Zur Übersicht:

PCR+ Kultur+	PCR+ Kultur-	PCR- Kultur+	PCR- Kultur-	PCR+ Sero- logie+	PCR+ Se- rologie-	PCR- Sero- logie+	PCR- Sero- logie-
1	11	2	19	2	0	12	5

Tabelle 8.3.

McNemar-Test:

	Kultur+	Kultur-
PCR+	1	11
PCR-	2	19

Tabelle 8-4

p-Wert: 0,011

Man nimmt eine Fehlerwahrscheinlichkeit von 0,011 in Kauf, wenn man die Hypothese ablehnt, dass Erfolgswahrscheinlichkeit (PCR) < Erfolgswahrscheinlichkeit (Kultur).

Entsprechend nimmt man eine Fehlerwahrscheinlichkeit von  $1-0,011 = 0,989$  in Kauf, wenn man die Hypothese ablehnt, dass die Erfolgswahrscheinlichkeit (PCR) > Erfolgswahrscheinlichkeit (Kultur).

=> keine 1-promill-, keine 1-prozent-signifikante Aussage möglich

=> PCR hat 5-prozent-signifikant niedrigere Erfolgswahrscheinlichkeit als Kultur

Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

	Serologie+	Serologie-
PCR+	2	0
PCR-	12	5

Tabelle 8-5

p-Wert: 1

Man nimmt eine Fehlerwahrscheinlichkeit von 1 in Kauf, wenn man die Hypothese ablehnt, dass Erfolgswahrscheinlichkeit (PCR) < Erfolgswahrscheinlichkeit (Serologie).

Entsprechend nimmt man eine Fehlerwahrscheinlichkeit von  $1-1 = 0$  in Kauf, wenn man die Hypothese ablehnt, dass die Erfolgswahrscheinlichkeit (PCR) > Erfolgswahrscheinlichkeit (Serologie).

=> PCR hat 1-promill-signifikant höhere Erfolgswahrscheinlichkeit als Serologie

## Endophthalmitis

Zur Übersicht:

PCR+ Kultur+	PCR+ Kultur-	PCR- Kultur+	PCR- Kultur-	PCR+ Sero- logie+	PCR+ Se- rologie-	PCR- Sero- logie+	PCR- Sero- logie-
40	35	12	36	1	0	0	1

Tabelle 8-6

Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

McNemar-Test:

	Kultur+	Kultur-
PCR+	40	35
PCR-	12	36

Tabelle 8-7

p-Wert: 0,001

Man nimmt eine Fehlerwahrscheinlichkeit von 0,001 in Kauf, wenn man die Hypothese ablehnt, dass Erfolgswahrscheinlichkeit (PCR) < Erfolgswahrscheinlichkeit (Kultur).

Entsprechend nimmt man eine Fehlerwahrscheinlichkeit von  $1-0,001 = 0,999$  in Kauf, wenn man die Hypothese ablehnt, dass die Erfolgswahrscheinlichkeit (PCR) > Erfolgswahrscheinlichkeit (Kultur).

=> Kultur hat eine 1-promill-signifikant niedrigere Erfolgswahrscheinlichkeit als die PCR

	Serologie+	Serologie-
PCR+	1	0
PCR-	0	1

Tabelle 8-8

Keine Aussage treffbar!

**Retinitis**

Zur Übersicht:

PCR+ Kultur+	PCR+ Kultur-	PCR- Kultur+	PCR- Kultur-	PCR+ Sero- logie+	PCR+ Sero- logie-	PCR- Sero- logie+	PCR- Sero- logie-
0	7	0	23	6	0	10	5

Tabelle 8-9

McNemar-Test:

	Kultur+	Kultur-
PCR+	0	7
PCR-	0	23

Tabelle 8-10

p-Wert: 0,008

Man nimmt eine Fehlerwahrscheinlichkeit von 0,008 in Kauf, wenn man die Hypothese ablehnt, dass Erfolgswahrscheinlichkeit (PCR) < Erfolgswahrscheinlichkeit (Kultur).

Entsprechend nimmt man eine Fehlerwahrscheinlichkeit von  $1 - 0,008 = 0,992$  in Kauf, wenn man die Hypothese ablehnt, dass die Erfolgswahrscheinlichkeit (PCR) > Erfolgswahrscheinlichkeit (Kultur).

=> keine 1-promill-signifikante Aussage möglich

=> PCR hat 1-prozent-signifikant höhere Erfolgswahrscheinlichkeit als Kultur

Stellenwert der PCR zur Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen des Glaskörpers und der Netzhaut

	Serologie+	Serologie-
PCR+	6	0
PCR-	10	5

Tabelle 8-11

p-Wert: 0,999

Man nimmt eine Fehlerwahrscheinlichkeit von 0,999 in Kauf, wenn man die Hypothese ablehnt, dass Erfolgswahrscheinlichkeit (PCR) < Erfolgswahrscheinlichkeit (Serologie).

Entsprechend nimmt man eine Fehlerwahrscheinlichkeit von  $1-0,999 = 0,001$  in Kauf, wenn man die Hypothese ablehnt, dass die Erfolgswahrscheinlichkeit (PCR) > Erfolgswahrscheinlichkeit (Serologie).

=> Serologie hat 1-promill-signifikant höhere Erfolgswahrscheinlichkeit als PCR

## **Danksagung**

Herrn Prof. Dr. med. Dr. Chris P Lohmann danke ich aufrichtig für die Überlassung des Themas und für die tatkräftige Unterstützung und Betreuung meiner Arbeit.

Mein Dank gilt ebenso Prof. Udo Reischl und den Mitarbeitern der Mikrobiologie.

Für seine stetige Hilfsbereitschaft möchte ich Dr. med. Christoph Winkler von Mohrenfels danken.

Weiterhin gilt Frau Botzler aus Regensburg und Frau Schmelzer aus München mein Dank für ihre freundliche Hilfe bei organisatorischen Fragen.

Ich möchte auch den Damen der Leitstelle Augenheilkunde in Regensburg für ihre Mithilfe danken.

## Curriculum vitae

Name: Eckert

Vorname: Christoph Sebastian

Anschrift: Bucherstr. 58  
89171 Illerkirchberg

Geburtsdatum: 23.07.1980

Geburtsort: Ulm

Familienstand: ledig

Eltern: Dr. med. Georg Eckert, Augenarzt  
Dr. med. Dorothe Eckert, Kinderärztin

Geschwister: Dr. med. dent. Tobias Eckert, geb. am 29.04.1977; in Ausbildung zum Kieferorthopäden

Schulbildung: 1987-1991: Grundschule Illerkirchberg  
1991-2000: Gymnasium Wiblingen bei Ulm

Zivildienst: Sept. 2000-Aug. 2001 an der Bodelschwingh-Schule in Ulm (Schule für Körperbehinderte)

Studium: seit Wintersemester 2001 Studium der Humanmedizin an der Universität Regensburg  
Ärztliche Vorprüfung September 2003  
Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung November 2007

Christoph Eckert