

Kultivierung von *Pneumocystis jirovecii* in pseudostratifizierten permanenten Atemwegsepithelien

Verena Schildgen, Stephanie Mai, Soumaya Khalfaoui,
Jessica Lüsebrink, Ramona Liza Tillmann, Michael
Brockmann, und Oliver Schildgen



§ 292

StGB - Jagdwilderei

- (1) Wer unter Verletzung fremden Jagdrechts oder Jagdausübungsrechts
- 1. dem Wild nachstellt, es fängt, erlegt oder sich oder einem Dritten zueignet oder
 - 2. eine Sache, die dem Jagdrecht unterliegt, sich oder einem Dritten zueignet, beschädigt oder zerstört wird mit Freiheitsstrafe bis zu drei Jahren oder mit Geldstrafe bestraft.
- (2) In besonders schweren Fällen ist die Strafe Freiheitsstrafe von drei Monaten bis zu fünf Jahren. Ein besonders schwerer Fall liegt in der Regel vor, wenn die Tat
- 1. gewerbs- oder gewohnheitsmäßig,
 - 2. zur Nachtzeit, in der Schonzeit, unter Anwendung von Schlingen oder in anderer nicht weidmännischer Weise oder
 - 3. von mehreren mit Schußwaffen ausgerüsteten Beteiligten gemeinschaftlich begangen wird.
- (3) Die Absätze 1 und 2 gelten nicht für die in einem Jagdbezirk zur Ausübung der Jagd befugten Personen hinsichtlich des Jagdrechts auf den zu diesem Jagdbezirk gehörenden nach § 6a des [Bundesjagdgesetzes](#) für befriedet erklärten Grundflächen.





Historisches

- 1909: Erstbeschreibung von Carlos Chagas (vor 105 Jahren!!!)
- neue Lebensform der Trypanosomen
- 1910: Antonio Carini findet ähnlichen Organismus in Rattenlungen
- neue Trypanosomen Spezies
- 1912: Pierre und Marie Delanoë, Institut Pasteur
- eigene Spezies: Umbenennung in *Pneumocystis carinii*
- Ursprünglich als Protozoon klassifiziert (wg. Trophocyten- und Cysten-Form)
- 1942: Pathogen beim Menschen? Otto Jirovec
- 1980iger: HIV Pandemie
- 1988: *P. carinii* wird Pilz (sRNA Subunit)
P. carinii forma specialis (f.sp.) hominis
- 2003: *P. carinii* forma specialis (f.sp.) hominis wird *P. jirovecii*
- wird aber unter PCP-Forschern nicht flächendeckend akzeptiert, solange *P. jirovecii* nicht angezüchtet werden kann



Problematik

- Klinik oft weniger spezifisch als angenommen
- Nicht nur bei Immunsupprimierten
- Fast alle radiologischen Befunde sind schon mit PCP verknüpft worden
- Detektion normalerweise im BAL Ausstrich:

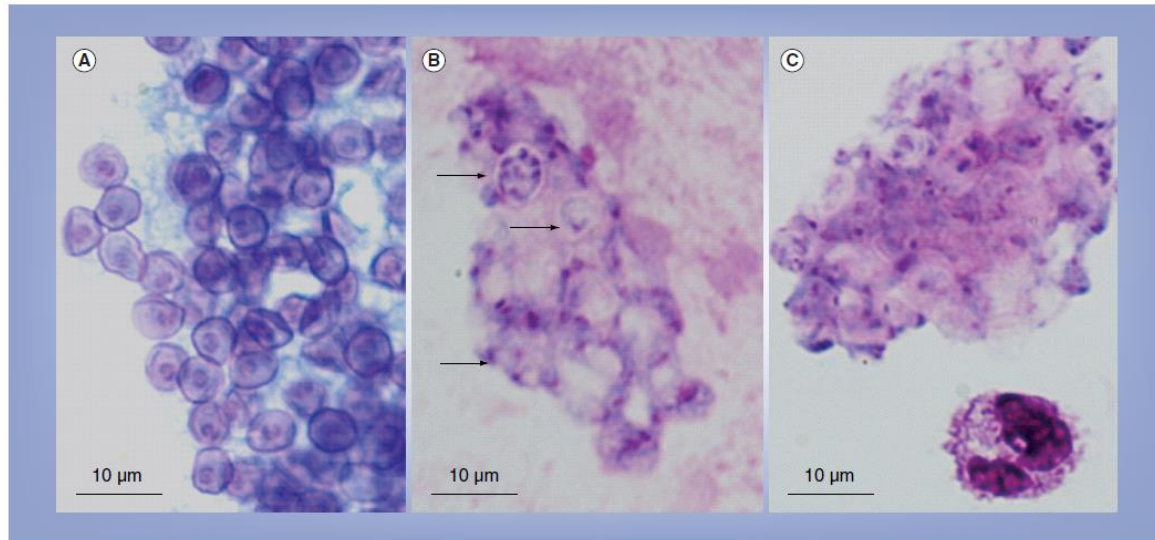


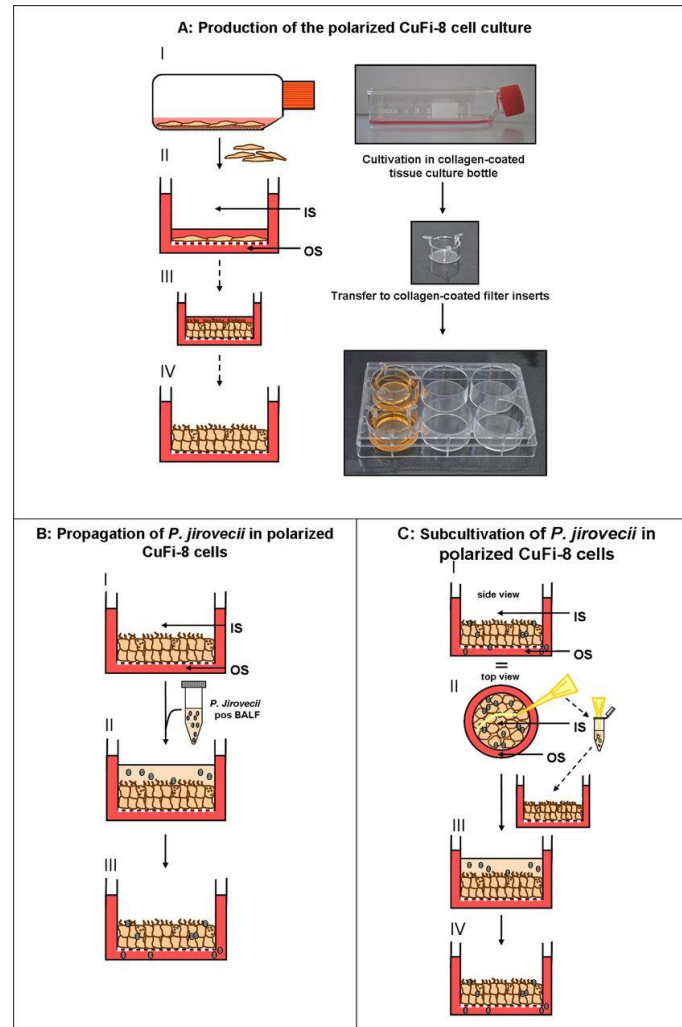
Figure 2. *Pneumocystis* organisms in cytospin smears of human bronchoalveolar lavage fluid samples. **(A)** Clustered cystic forms stained by toluidine blue O. **(B)** *Pneumocystis* life cycle stages stained by methanol-Giemsa: a mature cyst containing eight spores (top arrow), a mononuclear sporocyte (middle arrow), and a group of trophic forms (bottom arrow) are clearly visible. The cell wall of the cystic and sporocytic forms appears as a clear peripheral halo. **(C)** Clustered *Pneumocystis* trophic forms associated with other life cycle stages stained by methanol-Giemsa. A polymorphonuclear leukocyte may also be observed (bottom).

PCP Diagnostik in Köln Merheim

- Mikroskopisch
- LC-PCR
- Eigener Standard, Sequenz mehrfach bestätigt
 - Amplifiziert
 - Kloniert
 - Quantifiziert
 - Sequenziert
- Von Regensburger Kollegen empfohlenes PCR Protokoll (publiziert)
- Ringversuche (INSTAND e.V.) wiederholt erfolgreich absolviert



Schematic overview of the technical procedures performed using CuFi-8 and EpiAirway cells.



Schildgen V et al. mBio 2014; doi:10.1128/mBio.01186-14

http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Datei Bearbeiten Ansicht Favoriten Extras ?

Favoriten Kliniken der Stadt Köln - Intr... Komplette Kits - Zytomed Sys... Jobs und Karriere Stellenm... Latvijas Zinātnu Akadēmija Kliniken der Stadt Köln - Intr... Announcements from EPA-U... Customize Links

NCBI Blast:Nucleotide Sequence (78 letters)

Seite Sicherheit Extras

☐ Pneumocystis carinii mitochondrial ribosomal RNA large subunit gene	102	102	88%	3e-19	94%	M58605.1
☐ Pneumocystis jirovecii isolate PJ5 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial	95.3	95.3	79%	5e-17	95%	FJ357843.1
☐ Pneumocystis carinii mitochondrial LSU rRNA gene, isolate L42	63.9	63.9	43%	1e-07	100%	AM286266.1

Alignments

Download GenBank Graphics

Next Previous Descriptions

Pneumocystis jirovecii mitochondrion, complete genome

Sequence ID: [gb|JX499143.1](#) Length: 35626 Number of Matches: 1

Range 1: 13186 to 13251 [GenBank](#) [Graphics](#)

Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
108 bits(58)	6e-21	66/69(96%)	3/69(4%)	Plus/Plus
Query 4	AAATTGTTTTGGCAAATTGTTTTATTTCCCTCTAAAAAATAGTAGGTATAGCACTGAATAT	63		
Sbjct 13186	AAATTGTTTTGGCAAATTGTTTT-A-TT-CCTCTAAAAAATAGTAGGTATAGCACTGAATAT	13242		
Query 64	CTCGAGGGA 72			
Sbjct 13243	CTCGAGGGA 13251			

Related Information

Download GenBank Graphics

Next Previous Descriptions

Pneumocystis jirovecii isolate XY74-PAZ102X large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

Sequence ID: [gb|JF733757.1](#) Length: 252 Number of Matches: 1

Range 1: 44 to 109 [GenBank](#) [Graphics](#)

Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
108 bits(58)	6e-21	66/69(96%)	3/69(4%)	Plus/Plus
Query 4	AAATTGTTTTGGCAAATTGTTTTATTTCCCTCTAAAAAATAGTAGGTATAGCACTGAATAT	63		
Sbjct 44	AAATTGTTTTGGCAAATTGTTTT-A-TT-CCTCTAAAAAATAGTAGGTATAGCACTGAATAT	100		
Query 64	CTCGAGGGA 72			
Sbjct 101	CTCGAGGGA 109			

Related Information

Download GenBank Graphics

Next Previous Descriptions

Pneumocystis jirovecii isolate 872 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

Sequence ID: [gb|EU979566.1](#) Length: 308 Number of Matches: 1

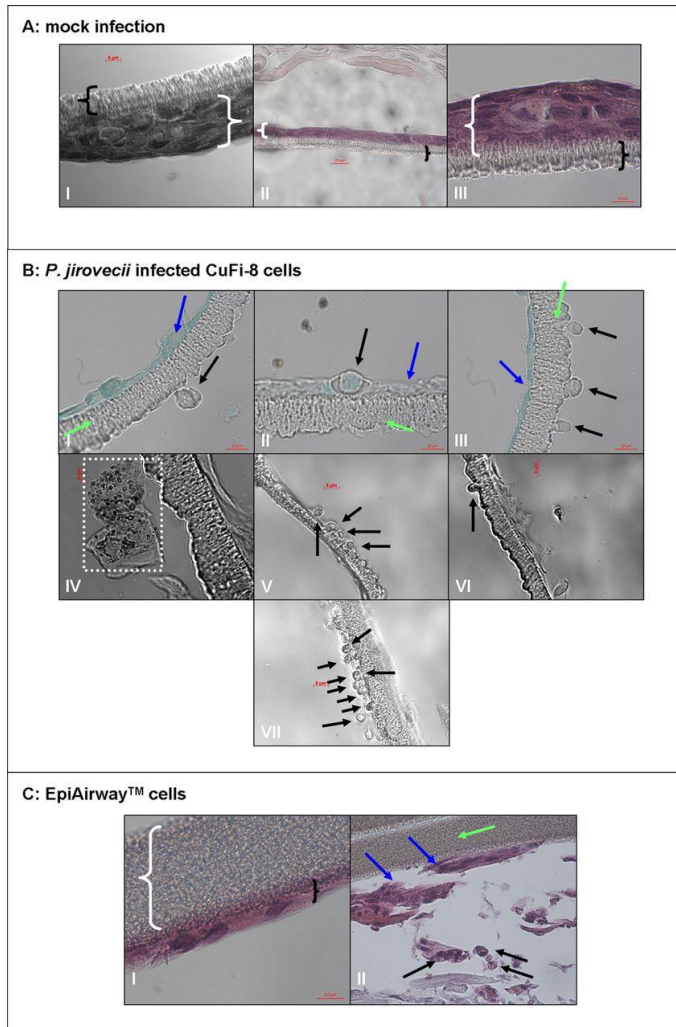
Range 1: 44 to 109 [GenBank](#) [Graphics](#)

Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
-------	--------	------------	------	--------

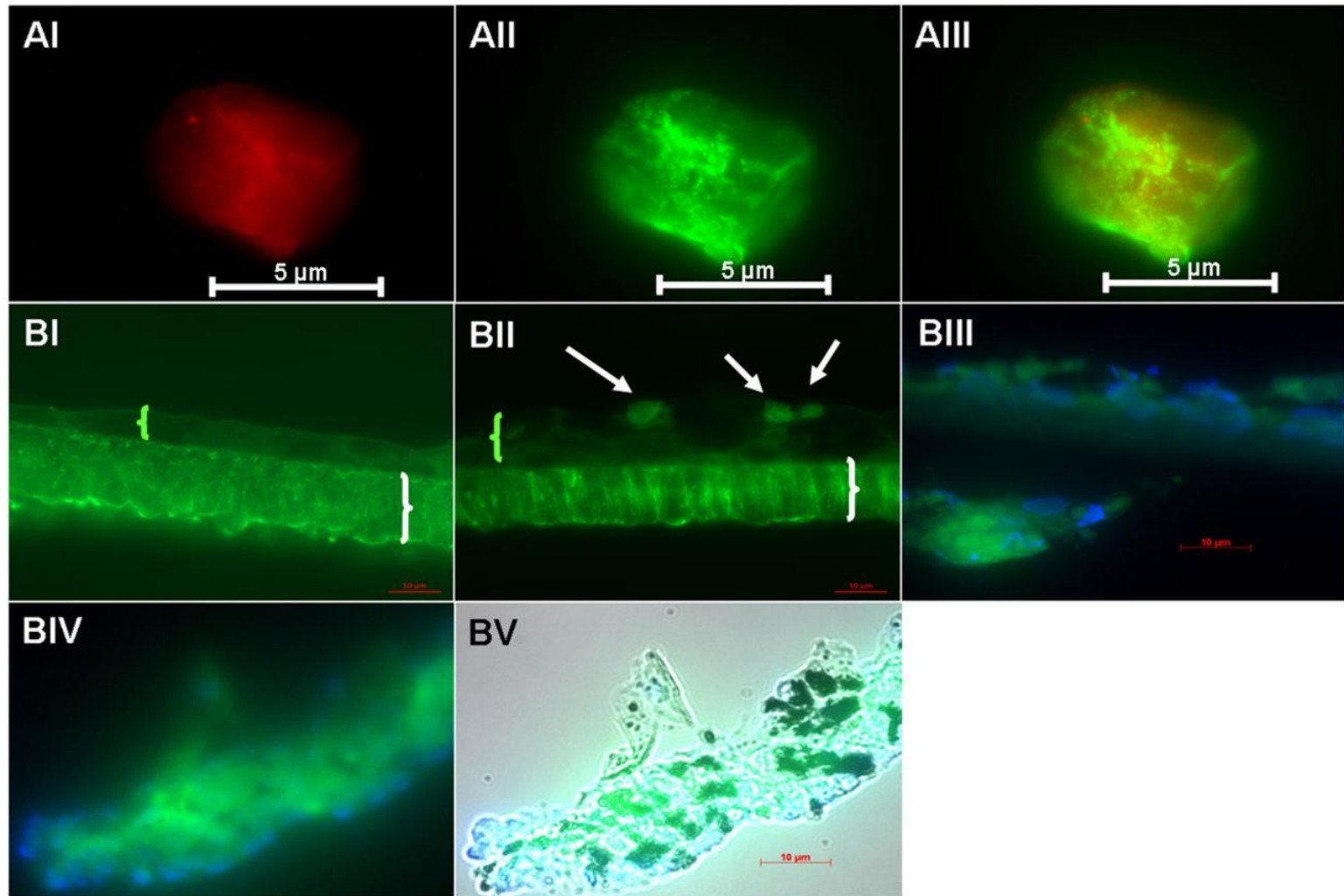
Related Information

Bright-field and fluorescence microscopy were performed with a Zeiss Axioplan I microscope.



Schildgen V et al. mBio 2014; doi:10.1128/mBio.01186-14

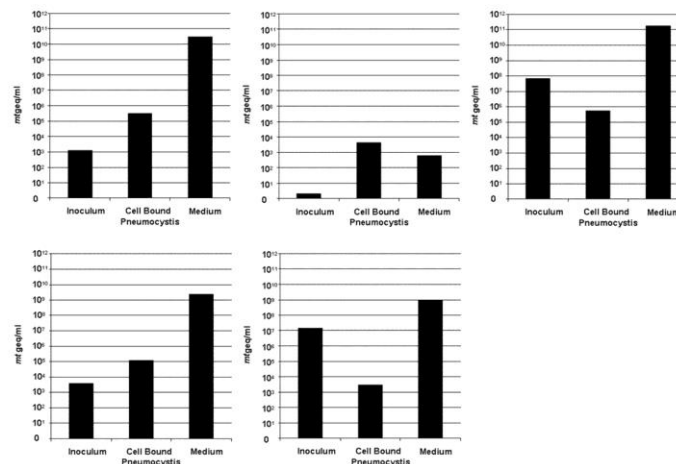
(A) A cytospin preparation from the basal cell culture medium that tested positive for *P. jirovecii* via qPCR.



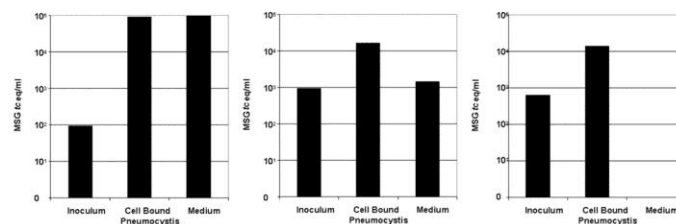
Schildgen V et al. mBio 2014; doi:10.1128/mBio.01186-14

(A) Five independent trials of *P. jirovecii* productive culturing from BALF samples collected from patients who had tested positive for *P. jirovecii* via qPCR amplification of the ribosomal mtLSU gene (19).

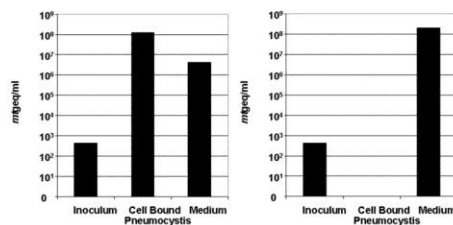
A: Detection of mtLSU in CuFi-8 cells



B: Detection of MSG in CuFi-8 cells

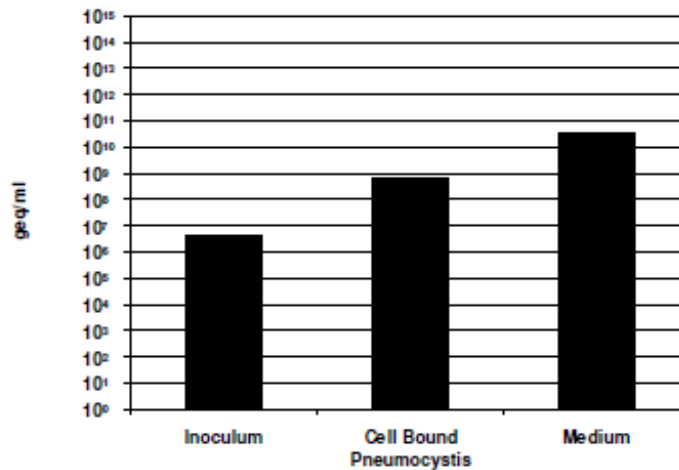
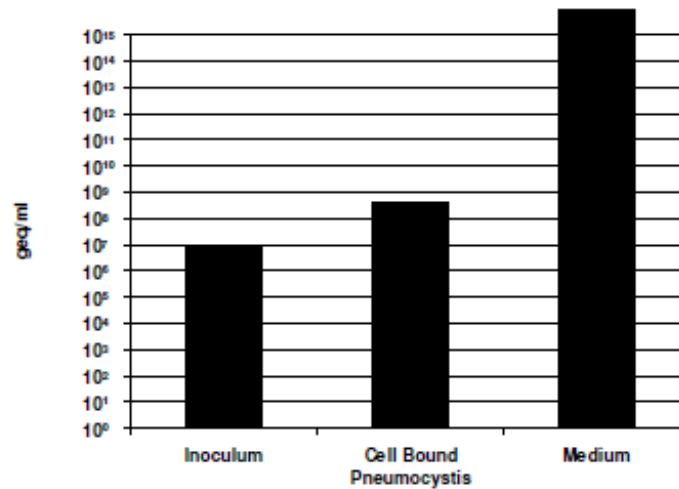


C: Detection of mtLSU in EpiAirway™ cells



Schildgen V et al. mBio 2014; doi:10.1128/mBio.01186-14

Erfolgreiche Passage



Schlussfolgerung

- Unserer Arbeitsgruppe ist die erstmalige nennenswerte Vermehrung und Passage von *P. jirovecii* gelungen!!!
- Bedeutsam für:
 - Antibiotikaentwicklung
 - Diagnostik
 - Therapiemonitoring
 - Tenazitätsstudien

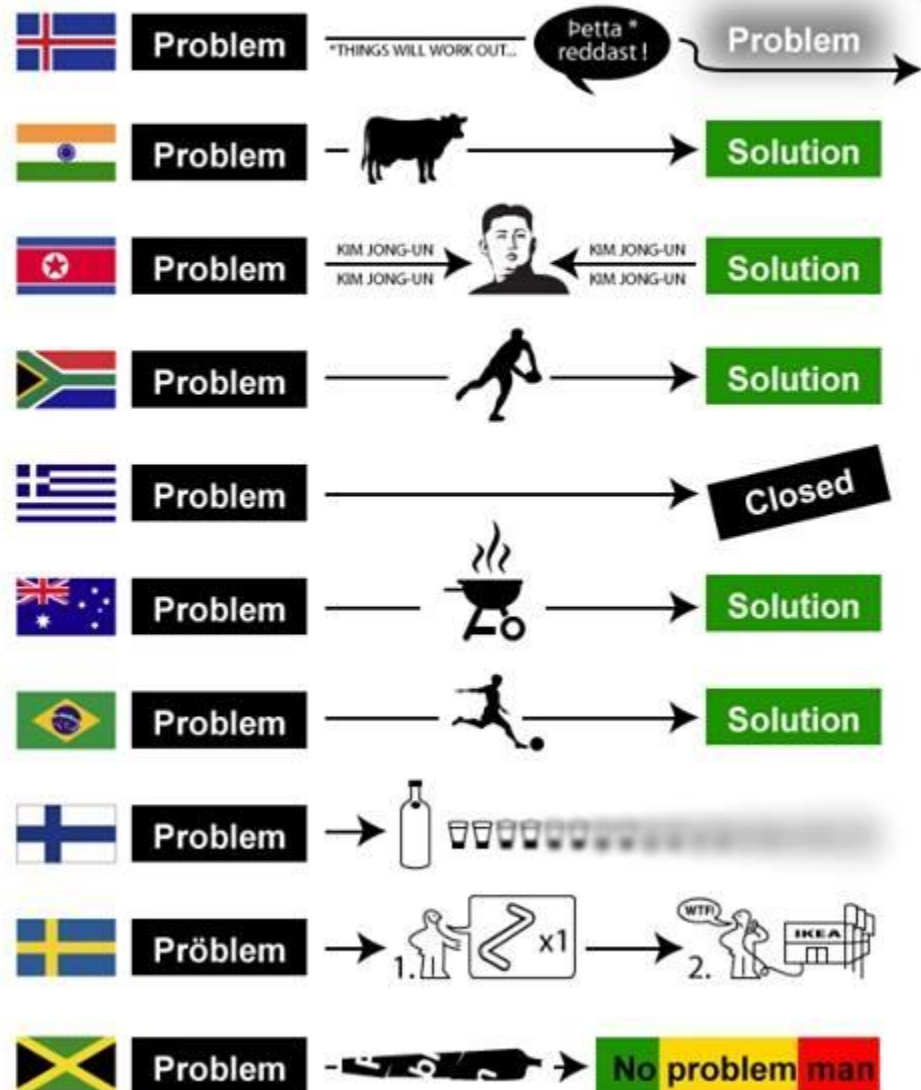
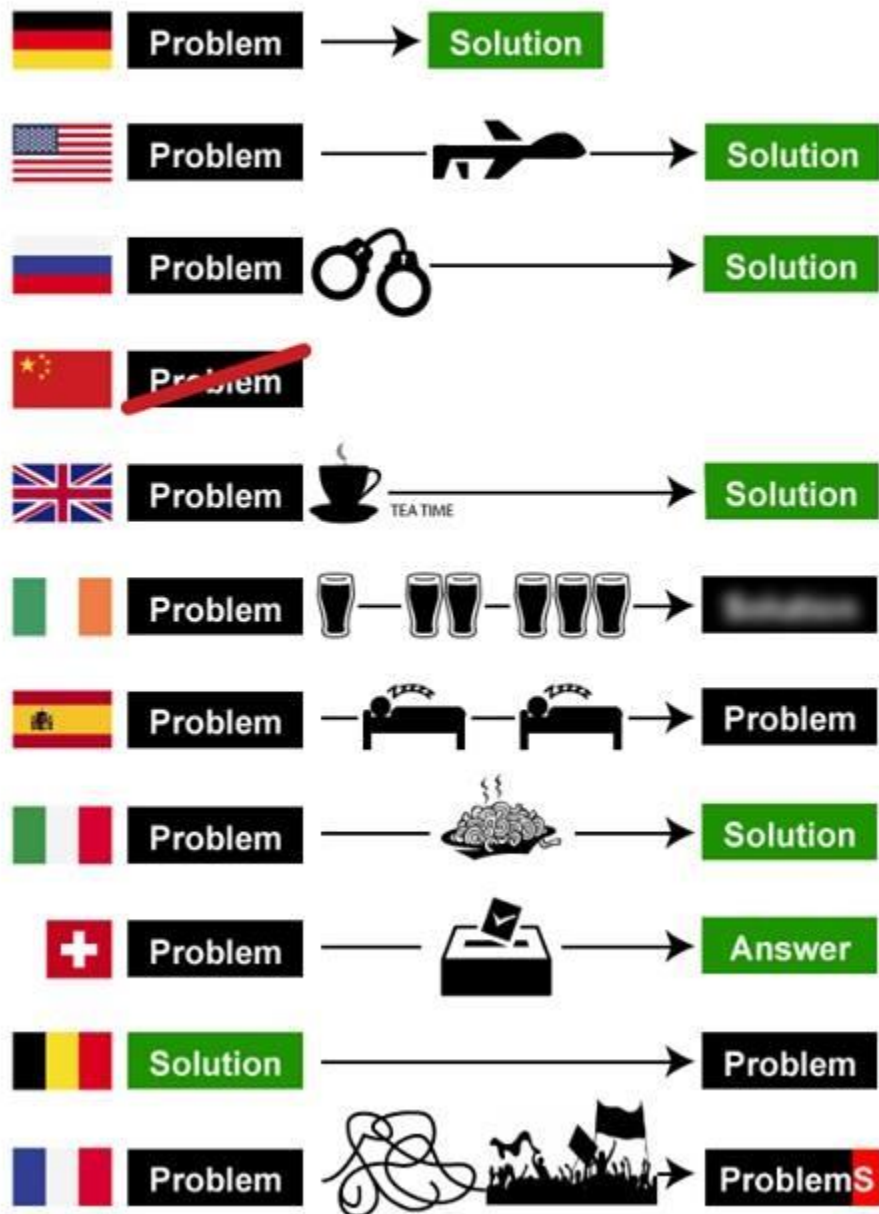




INTERNATIONAL GUIDELINES FOR PROBLEM SOLVING

Send me your comments or ideas:
facebook/jeromevadon or @jeromevadon

3.0
UPDATED
by popular request



Send me your comments or ideas facebook/jeromevadon or @jeromevadon

