

---

# Inhalt

20. Jahrgang  
Heft 5/6/2004

---



Univ.-Prof. Mag. Dr. J. Jurenitsch

## **Vorwort**

U. Kastner\*, B. Keck\*, S. Matthes\*, J.P. Guggenbichler\*\*, C. Peters\*, H. Gadner\*

\* St. Anna Kinderspital, Wien, Österreich

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. H. Gadner)

\*\* Univ.-Klinik für Kinder und Jugendliche der Universität Erlangen/Nürnberg, BRD

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. W. Rascher)

## **Prophylaxe enteraler Infektionen in der pädiatrischen Onkologie:**

### **Orale Dekontamination versus anti-adhäsiver Prophylaxe mit Oligosacchariden aus der Karotte**

S. Guggenbichler

Med. Fakultät der Universität Innsbruck

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. H. Grunicke)

## **Experimentelle Untersuchungen der Adhärenz und Blockierung der Adhärenz von pathogenen Mikroorganismen durch saure Galakturonide am humanen terminalen Ileum**

J.P. Guggenbichler\*, B. Follrich\*\*, Ch. Franz\*\*\*, J. Jurenitsch\*\*

\* Univ.-Klinik für Kinder und Jugendliche der Universität Erlangen/Nürnberg

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. W. Rascher)

\*\* Institut für Pharmakognosie der Universität Wien

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. B. Kopp)

\*\*\* Angewandte Botanik und Pharmakognosie, Veterinärmedizinische Universität Wien

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Ch. Franz)

## **Einsatz von Antibiotika in der Nutztierhaltung. Ersatz durch saure Oligogalakturonide**

M. Guggenbichler

Lehrstuhl für Feingerätebau und Mikrotechnik, TU München

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. J. Heinzl)

## **Entwicklung eines neuen keramischen Port-Kathetersystems mit antimikrobiellen Eigenschaften und einer verbesserten Kammergeometrie**

J.P. Guggenbichler

Univ.-Klinik für Kinder und Jugendliche der Universität Erlangen/Nürnberg

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. W. Rascher)

## **Das häufig kranke Kind – Störung der Mukosa-Immunität als Ursache rezidivierender Infektionen und Möglichkeiten der Intervention**

[zurück zur Übersicht](#)

---

## Vorwort

---

*Die seit 200 Jahren bestehende Wiener Pharmakognosie hat sich als Kompetenz-Zentrum für biogene Arzneistoffe und Nutraceuticals etabliert. Die aufgrund der Änderungen im Gesundheitssystem steigende Nachfrage nach Alternativen besonders in der Vorbeugung, aber auch in der Therapie von Erkrankungen erfordert die intensive interdisziplinäre wissenschaftliche Auseinandersetzung sowohl mit den biogenen Ausgangsmaterialien als auch mit daraus hergestellten Präparaten (Phytopharmaka, Nutraceuticals ...).*

*Die immer komplexeren Forschungsherausforderungen auf dem Gebiet der Pharmakognosie umfassen die Suche nach neuen Wirkstoffen und Modellsubstanzen für innovative Pharmazeutika aus biogenem Material, die biologische und pharmakologische Testung zur Sicherung der therapeutischen Qualität, die Isolierung und Strukturklärung der Wirksubstanzen, die Gewinnung hochwertiger Arzneipflanzen und/oder von Wirkstoffen durch biotechnologische Methoden, die Analytik und Qualitätskontrolle vom Ausgangsmaterial bis zum Präparat.*

*Es ist genau 15 Jahre her, als Prof. Guggenbichler an mich herantrat, ob meine Arbeitsgruppe bei der Aufklärung der keimadhärenzblockierenden Wirkstoffe der Karottensuppe helfen könnte. Seine Überzeugungskraft, Ausstrahlung und Motivation sowie die wissenschaftliche Vorinformation führten zu einer sofortigen Zusage, die Fragestellung passte genau in unser Forschungsprofil. Die Folge: Suppen kochen, wirkungsgeleitete Isolierung, Methodenentwicklung, Strukturaufklärung, 2 Dissertationen, 2 Habilitationen, intensive Zusammenarbeit mit Prof. Guggenbichler und Prof. Franz (Angewandte Botanik der Veterinärmedizinischen Universität) bis zum heutigen Tag. Es war immer spannend, zielorientiert und letztlich erfolgreich.*

*Danke, Herr Kollege Guggenbichler, meine besten Glückwünsche zum Geburtstag, bleiben Sie der Wissenschaft noch lange erhalten, damit es auch in Zukunft so weitergeht.*

*Univ.-Prof. Mag. Dr. J. Jurenitsch  
Institut für Pharmakognosie  
Vizerektor für Ressourcen und Bibliothekswesen  
Universität Wien*

[zurück zum Inhalt](#)

---

# Prophylaxe enteraler Infektionen in der pädiatrischen Onkologie: Orale Dekontamination versus anti-adhäsiver Prophylaxe mit Oligosacchariden aus der Karotte

---

U. Kastner\*, B. Keck\*, S. Matthes\*, J.P. Guggenbichler\*\*, C. Peters\*, H. Gadner\*

\* St. Anna Kinderspital, Wien, Österreich

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. H. Gadner)

\*\* Univ.-Klinik für Kinder und Jugendliche der Universität Erlangen/Nürnberg, Deutschland

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. W. Rascher)

---

- **Schlüsselwörter**
  - **Zusammenfassung**
  - **Key-words**
  - **Summary**
  - **Einleitung**
  - **Mikrobielle Adhärenz in der Pathogenese von gastrointestinalen Infektionen**
  - **Ansätze zur Blockierung der Adhärenz**
  - **Klinische Studie**
  - **Zusammenfassung**
  - **Literatur**
- 

## Schlüsselwörter:

Antiadhäsive Prophylaxe, enterale Infektionen, Oligosaccharide, pädiatrische Onkologie

## Zusammenfassung

Die über Kohlenhydratstrukturen vermittelte Haftung von Keimen an der Oberfläche der Darmmukosa ist ein wesentlicher initialer Schritt in der Pathogenese von gastrointestinalen Infektionen. Wässrige Zubereitungen aus der Karotte enthalten saure Oligosaccharide, die als Rezeptoranaloga *in vitro* die Anhaftung von unterschiedlichen darmpathogenen Keimen blockieren. In einer Pilotstudie an immunsupprimierten pädiatrischen Patienten hat sich gezeigt, dass durch den Einsatz eines Karottendekokts Schwere und Häufigkeit von enteralen Infektionen im Vergleich zur bislang eingesetzten selektiven oralen Darmdekontamination positiv beeinflusst werden können.

## Key-words:

Anti-adhesive prophylaxis, gastrointestinal infections, oligosaccharides, paediatric oncology

## Summary

Adherence of microorganisms to the intestinal mucosa mediated by carbohydrate structures is an important and initial step in the pathogenesis of gastrointestinal infections. Aqueous extracts from carrots contain acidic oligosaccharides, which act as receptor analogues and block the adherence of various enteropathogenic microorganisms. A preliminary study showed a positive effect of aqueous carrot extracts on the incidence and severity of enteral infections in immunocompromised paediatric patients in comparison to the traditional selective oral decontamination.

---

## Einleitung

Prophylaxe und Therapie enteraler Infektionen stellen ein großes Problem im Rahmen der pädiatrischen Onkologie, wie auch der Stammzelltransplantation (SZT) dar. Die Schädigung der Darmschleimhaut durch Zytostatika, insbesondere im Rahmen der Konditionierung, und die mangelhafte enterale Ernährung fördern das Auftreten von invasiven enteralen Infektionen, die auch eine Graft-versus-Host-Erkrankung (GvHD) des Darmes hervorrufen können. Zur Prophylaxe dieser schwerwiegenden Komplikationen hat sich in den vergangenen Jahrzehnten weltweit die selektive Darmdekontamination mit oralen Antibiotika und Antimykotika durchgesetzt, welche allerdings in Kombination mit der zumeist erforderlichen systemischen antimikrobiellen Therapie zu einer Zunahme multiresistenter Keime und enteraler Candidaüberwucherung geführt hat. Eine Alternative zur Minimierung der enteralen Besiedelung stellt die Blockierung der Keimadhäsion durch antiadhäsiv wirksame Oligosaccharide dar. Im Rahmen einer Anwendungsbeobachtung wurde die Effizienz von Oligosaccharid-reichen Zubereitungen aus der Karotte bei Kindern im Rahmen einer allogenen SZT geprüft und retrospektiv den Erfahrungen mit der selektiven oralen Darmdekontamination gegenübergestellt.

## Mikrobielle Adhärenz in der Pathogenese von gastrointestinalen Infektionen

Die Adhärenz von Mikroorganismen an Epithelzellen des Darmtraktes ist ein wesentlicher initialer Schritt einer Magen-Darm-Infektion. Erst wenn Keime (Bakterien, Viren, Pilze u.a.) an der Schleimhaut haften und durch unspezifische Abwehrmechanismen (Schleim, Peristaltik, Epithelabschilferungen) nicht mechanisch entfernt werden können, entwickeln sie die Fähigkeit zur lokalisierten Proliferation, was zur Besiedelung des Darmabschnittes führt. Bakterien, die an der intestinalen Mukosa adhären, können über Signalproteine die Degeneration der angrenzenden Schleimhaut zur Folge haben oder durch Freisetzung von Toxinen zu einer lokalen und systemischen Entzündungsreaktion führen. Eine bereits toxische oder degenerativ vorgeschädigte Schleimhaut verliert die Barrierefunktion, was zum Eindringen der Keime in den Organismus führt (Translokation). Bei entsprechender Abwehrlage des Wirtes kommt es letztlich zu systemischen Entzündungsreaktionen und Krankheitssymptomen. Somit stellt die mikrobielle Adhärenz an der Schleimhaut einen wesentlichen initialen Schritt in der Pathogenese von Infektionen im Gastrointestinaltrakt dar [3].

Der Vorgang der mikrobiellen Adhärenz ist ein komplexer und zeichnet sich durch Gewebetropismus (Keime haften an spezifischen Rezeptoren, die nur an bestimmten Epitheloberflächen exprimiert werden), Speziespezifität (tierpathogene, menschenpathogene Stämme), Altersspezifität (unterschiedliche Ausprägung von Adhärenzrezeptoren in unterschiedlichen Lebensaltern) und genetische Spezifität aus [13, 14].

*Escherichia coli* und andere *Enterobacteriaceae* haften über Fimbrien und membranständige Adhäsine an der Darmschleimhaut und anderen Organstrukturen. Fimbrien sind fingerartige Fortsätze an der Bakterienoberfläche mit einer terminalen Lektin(artigen)-Domäne, welche an distinkten mukosaständigen Oligosaccharid-Epitopen (Glykokonjugaten) binden. Typ-1-Fimbrien werden von den meisten Enterobakterien gebildet und erkennen die alpha-Mannose als Oberflächenrezeptor. P-Fimbrien nützen Gal alpha 1-4 Gal-Sequenzen als Bindungsstelle, während Bakterien mit S-Fimbrien bevorzugt an NeuAc-Resten binden. Darüber hinaus sind noch zahlreiche weitere speziespezifische Oberflächenproteine bekannt, die für die Adhärenz verantwortlich gemacht und als Virulenzfaktoren gewertet werden [7, 8, 10, 11, 12].

## Ansätze zur Blockierung der Adhärenz

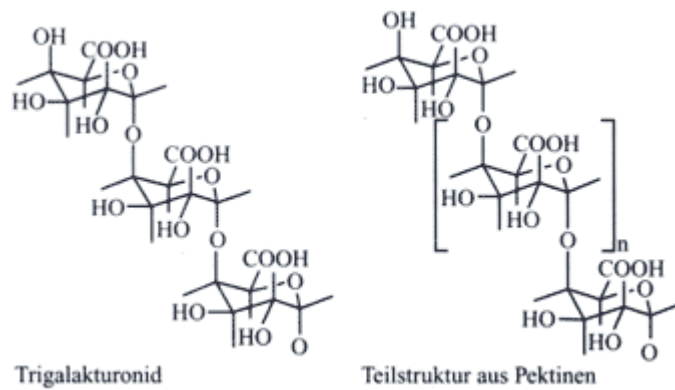
Von großem therapeutischem, aber auch prophylaktischem Interesse ist die Möglichkeit, die Adhärenz als wesentlichen Bestandteil der Virulenz eines Keimes an der Darmschleimhaut zu blockieren.

In der Muttermilch sind zahlreiche Oligosaccharide mit Adhärenz-blockierender Wirkung beschrieben, die nicht nur prophylaktische Wirkung besitzen, sondern auch wesentlich für die Steuerung der bakteriellen Besiedelung des Neugeborenen verantwortlich sind [1, 8]. Diesem von der Natur vorgegebenen Modell nachgehend, wurden in letzter Zeit Rezeptoranaloga der Epithelzellen definiert, die *in vitro* eine Blockierung mikrobieller Adhärenz zeigten [2, 15]. Mannose, alpha-Methyl-Mannopyranosid und Mannitol erwiesen sich als wirksam in der Blockierung der Anhaftung von *E. coli* mit Typ-1-Fimbrien ebenso wie Glykopeptide vom Oligomannosid-Typ aus der Sojabohne und anderen Leguminosen [10].

Auf der Suche nach dem Wirkprinzip wässriger Zubereitungen aus der Karotte (in Anlehnung an die von E. Moro 1905 eingeführte Karottensuppe zur Behandlung von Durchfallerkrankungen im Säuglingsalter [9]) konnten in einem Wirkstoff-orientierten Fraktionierungsverfahren (Biological Assay Guided Isolation) am Institut für Pharmakognosie der Universität Wien aktive Kohlenhydratfraktionen isoliert werden. Zunächst handelte es sich um ein komplexes Gemisch aus Spaltprodukten der Karottenpektine mit einem Molekulargewicht zwischen 20.000 und 24.000 Dalton, die in einer Konzentration von 1% (v/v) eine nahezu vollständige Blockierung der Haftung von uropathogenen *Escherichia coli* an frisch isolierten humanen Uroepithelien zeigten [4]. Nach wiederholter Auftrennung dieser wässrigen Fraktionen erwiesen sich Oligogalakturonide, welche auch aus Pektinen anderer natürlicher Quellen (z.B. Apfel, Orangen) durch enzymatische und/oder saure Spaltung gewonnen werden können, als besonders wirksam [5, 6]. Mittlerweile ist es an verschiedenen Testmodellen (Adhärenz von enteropathogenen *E. coli* und enterotoxischen *E. coli* an HEp-2, Caco-Zellen und an Gefrierschnitten humaner Darmabschnitte) gelungen, die Hemmwirkung semiquantitativ zu erfassen und dem Polymerisationsgrad der Galakturonsäuren zuzuordnen. Lösungen von aufgereinigten Oligosacchariden von 0,005% führen zu den folgenden Adhäsionsreduktionen, was unter Berücksichtigung der molaren Wechselwirkungen eine maximale Wirksamkeit der Trigalakturonsäure bedeutet (Abbildung 1).

- Penta-, Hexagalakturonsäuren: 23,8% Hemmung
- Tetragalakturonsäure: 52,7% Hemmung
- Trigalakturonsäure: 84,6% Hemmung
- Digalakturonsäure: 91,7% Hemmung
- Galakturonsäure (mono): keine Hemmung

**Abbildung 1:** Antiadhäsiv wirksames Trigalakturonid und Teilstruktur aus Pektin

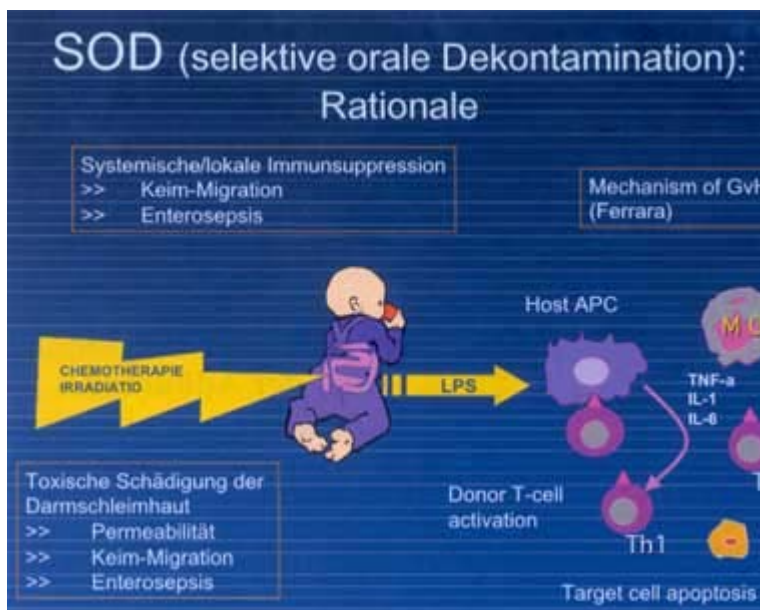


## Klinische Studie

In Anlehnung an die Erfahrungen bei immunkompetenten Kindern mit Magen-Darm-Infektionen und mit dem Wissen um die Adhärenz-blockierende Wirkung von Oligosacchariden aus natürlichen Quellen wurde im St. Anna Kinderspital ein Pilotprojekt induziert, welches den klinischen Benefit wässriger Karottenzubereitungen im Vergleich zur bislang durchgeführten selektiven Darmdekontamination (SOD: Paromomycin 30 mg/kg tägl. p.o., Vancomycin 20 mg/kg tägl. p.o.) bei einem gut monitorisierten Patientenkollektiv (Abteilung für Stammzelltransplantation nach Zustimmung der Ethikkommission und „informed consent“) prüfen sollte (Abbildung 2, Abbildung 3).

**Abbildung 2:** Selektive orale Darmdekontamination in der Stammzelltransplantation – Rationale

**Abbildung 3:** Antiadhäsive Wirkung von sauren Oligosacchariden aus der Karotte im Gefrierschnittmodell



Die Karottensuppe nach Moro wurde zur besseren Verträglichkeit und Akzeptanz der Patienten modifiziert

Wirkung der Pektine vermieden werden konnte. In der noch laufenden Pilotstudie sind bislang 27 Patienten auswertbar, welche einer allogenen Knochenmark- bzw. Stammzelltransplantation unterzogen wurden und „Moro-Saft“ anstatt der üblichen selektiven oralen Darmdekontamination mit dem Zeitpunkt der „Dekontamination“, 10 Tage vor Beginn der Konditionierung, in einer Dosierung von 10 ml/kg/die (bei guter Akzeptanz bis zu 15-20 ml/kg/die) bis zum Tag +28 nach Transplantation und/oder Anzahl der mononukleären Zellen ANC>500/µl und adäquater oraler Ernährung erhielten. Der Beginn der „Moro-Saft“-Gabe ist bewusst noch vor der Schädigung der Darmschleimhaut durch Chemo- und/oder Radiotherapie festgesetzt, um das Anhaften der potenziell pathogenen Mikroorganismen bereits in einem sehr frühen Stadium zu reduzieren, die Dosierung wurde empirisch gewählt.

Survival und Inzidenz von Enteroseptitiden wurden mit 25 Patienten mit konventioneller SOD-Prophylaxe verglichen. Beide Gruppen waren bezüglich Alter, Grunderkrankung (maligne vs. nichtmaligne), Anzahl der Zweittransplantationen, Dauer der Aplasie und Konditionierungsschemata vergleichbar (Leukämie n=30, inborn errors/Schwere Aplastische Anämie (SAA) n=22, Spender: Geschwisterspender (MSD) n=16, haploidenter Spender n=7, Fremdspender (MUD) n=29, T-cell-Depletion: 19/52, Tabelle 1). Neben der Erfassung von Schwere und Verlauf von enteralen Septitiden werden zusätzlich Daten über das Keimspektrum der Stuhlkulturen mit entsprechendem Antibiogramm sowie über Anzahl und Schweregrad entstehender Darm-GvHD erhoben und einem entsprechenden, mit SOD geführten Patientengut gegenübergestellt. Bezüglich der Anzahl der fieberhaften Episoden während der Aplasie bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Enteroseptitiden traten bei 2/27 (7%) Patienten mit antiadhäsiver Prophylaxe versus 2/25 (8%) Patienten mit SOD auf. Die Transplantations-assoziierte Mortalität war 18,5%, bei Patienten mit antiadhäsiver Prophylaxe versus 32% bei Patienten mit SOD (Tabelle 2).

**Tabelle 1:** Patientendaten zur Pilotstudie (selektive orale Dekontamination (SOD) versus „Moro-Saft“)

<b>Patientendaten</b>			
25 Patienten mit konventioneller SOD			
versus			
27 Pilot-Patienten mit „Moro-Saft“ (MORO)			
Exklusion: - Patienten mit schwerem Immundefekt (SCID)			
- Patienten nach „mini“-Konditionierung			
	SOD	MORO	p
Alter (median)	8,28	9,73	n.s.
Tage bis >500 ANC	17,5	16	n.s.
maligne Grunderkrankung	60%	76%	n.s.
T-cell Depletion	52%	22%	p=0,026
alternative Spender	76%	65%	n.s.
reduzierte Konditionierung	44%	33%	n.s.
GvHD > Gr II	16%	33%	n.s.
Darm-GvHD	8%	4%	n.s.

**Tabelle 2:** Ergebnisse zur Pilotstudie (selektive orale Dekontamination (SOD) versus „Moro-Saft“)

Ergebnisse		
	SOD	MORO
Entero-Sepsis	8%	7%
Candida in Stuhlkultur	64%	66%
Dauer der parenteralen Ernährung (Tage, median)	21	21
Darm-GvHD	8%	4%
Transplant-assoziierte Mortalität	32%	18,5%

Für eine statistische Auswertung ist das bislang überblickbare Patientengut noch zu gering, ebenso kann noch keine klare Aussage bezüglich einer Prophylaxe von Transplantations-assoziierten Komplikationen wie z.B. der GvHD des Darmes gegeben werden, da der Beobachtungszeitraum zu gering ist.

Während der Einsatz von „Moro-Saft“ auf der Transplantationsstation des St. Anna Kinderspitals unter kontrollierten Studienbedingungen erfolgt, wird der „Moro-Saft“ auch fallweise an den onkologischen Basisstationen bei Auftreten von schweren enteralen Infektionen bei neutropenischen Patienten und bei Problemen mit dem Nahrungsaufbau bei durch Chemotherapie vorgeschädigter Darmschleimhaut eingesetzt. „Moro-Saft“ wurde hier erst bei Auftreten von klinischen Krankheitszeichen mit der Dosierung von 15-20 ml/kg/die und bis zum Abklingen der Symptome, wenn erforderlich, auch per nasogastraler Sonde verabreicht. Die Erfahrungen, welche sich bislang nur auf Einzelbeobachtungen stützen, zeigen eine gute Verträglichkeit und ein rasches Abheilen der Infektionen, was für die Zukunft einen breiteren Einsatz der Karottenzubereitung versprechen lässt.

## Fallbericht

3-jährige Patientin (13 kg) mit pleuropulmonalem Blastom, Therapie gemäß MAKEI-98-Protokoll, Chemotherapie-induzierte Aplasie, Bauchschmerzen, Fieber und Diarrhoe mit sonographisch massiv verdickten Darmwänden im Bereich von Rektum, Sigma und Colon descendens und positivem Nachweis von *Clostridium difficile* im Stuhl. Bei oraler Nahrungskarenz enterale Zufuhr von „Moro-Saft“ (10 ml/kg KG/die), parenterale Ernährung und breite systemische antibiotische Therapie (Ceftazidim, Amikacin, Teicoplanin, Metronidazol); Steigerung von „Moro-Saft“ auf 20 ml/kg/die nach 2 Tagen, Verringerung der Stuhlfrequenz und Besserung der Stuhlkonsistenz sowie deutlicher Rückgang der Darmwandverdickungen innerhalb von 48 Stunden, nach weiteren 2 Tagen enterale Zufuhr von Pregomin 15%ig und „Moro-Saft“ mit täglicher Mengensteigerung bei guter Toleranz.

## Zusammenfassung

Zusammenfassend erscheint der klinische Einsatz von wässriger Karottenzubereitung nicht nur im internen pädiatrischen Bereich sinnvoll. In der Prophylaxe und Therapie von gastrointestinalen Komplikationen bei immunsupprimierten Patienten mit hämato-onkologischer Grunderkrankung hat sich in ersten Pilotstudien gezeigt, dass Schwere und Häufigkeit der enteralen Infektionen positiv beeinflusst werden können, obgleich die Anzahl der bislang mit „Moro-Saft“ behandelten Patienten keinesfalls noch eine definitive Aussage rechtfertigt. Es bleibt somit weiteren prospektiven Studien vorbehalten, ob die Oligosaccharide aus der Karotte oder anderen natürlichen Quellen generell die mikrobielle Fehlbesiedelung des Magen-Darm-

Traktes, die sehr häufig als klinisches Problem nach langfristigen Antibiotikagaben, Chemotherapie oder Radiatio gesehen wird, verhindern und somit als Alternative zur bislang durchgeführten selektiven Darmdekontamination gesehen werden können.

## Literatur:

1. Cravioto A., Gross R.J., Scotland S.M., Rowe B.: „An adhesive factor found in strains of Escherichia coli belonging to the tradition-al infantile enteropathogenic serotypes.“ *Curr. Microbiol.* 3 (1997) 95-99.
2. Dai D., Nanthkumar N., Newburg D.S., Walker W.A.: „Role of oligosaccharides and glycoconjugates in intestinal host defense.“ *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 30 (2000) 23-33.
3. Donneberg M.S.: „Interaction between enteropathogenic Escherichia coli and epithelial cells.“ *Clin. Infect. Dis.* 28 (1999) 451-455.
4. Guggenbichler J.P., De Bettignies A., Meissner P., Schellmoser S. et al.: „Acidic oligosaccharides from natural sources block adherence of E. coli on uroepithelial cells.“ *Pharm. Pharmacol. Lett.* 1 (1997) 35-38.
5. Guggenbichler J.P., Meissner P., Jurenitsch J., De Bettignies-Dutz A.: Offenlegungsschrift; DE 4330773 A1, 16.03.95.
6. Guggenbichler J.P., Jurentisch J.: „Blockierung der Anlagerung von Keimen an Epithelzellen.“ Kurzinformation zu Patent, 1995.
7. Karlsson K.A.: „Microbial recognition of target-cell glycoconjugates.“ *Curr. Opin. Struct. Biol.* (1995) 622-635.
8. Kunz C., Rudloff S.: „Biological functions of oligosaccharides in human milk.“ *Acta Pediatr.* 82 (1993) 903-912.
9. Moro E.: „Karottensuppe bei Ernährungsstörungen der Säuglinge.“ *Münch. Med. Wschr.* 31 (1908) 1637-1640.
10. Neeser J.R., Koellreuter B.: „Oligomannoside type glycopeptides inhibiting adhesion of Escherichia coli strains mediated by type 1 pili: preparation of potent inhibitors from plantglycoproteins.“ *Infect. Immun.* 52 (1986) 428-436.
11. Ofek I., Sharon N.: „Adhesins as lectins: specificity and role in infection.“ *Curr. Top Microbiol. Immunol.* 150 (1990) 91-114.
12. Ofek I., Mirelman D., Sharon N.: „Adherence of Escherichia coli to human mucosa cells mediated by mannose receptors.“ *Nature* 265 (1977) 623-625.
13. Phillips A.D., Frankel G.: „Intimin mediated tissue specificity in enterpathogenic Escherichia coli interaction with human intestinal organ cultures.“ *J. Infect. Dis.* 181 (2000) 1496-1500.
14. Service R.F.: „Sugar separates humans from apes.“ *Science* 2001; 291 (2001) 2340-2341.
15. Zopf D., Roth S.: „Oligosaccharides as anti-infective agents.“ *Lancet* 347 (1996) 1017-1021.

## Anschrift der Verfasserin:

Univ.-Doz. DDr. Ulrike Kastner  
St. Anna Kinderspital  
A-1090 Wien, Kinderspitalgasse 6

E-Mail: [ulrike.kastner@stanna.at](mailto:ulrike.kastner@stanna.at)

[zurück zum Inhalt](#)

---

# Experimentelle Untersuchungen der Adhärenz und Blockierung der Adhärenz von pathogenen Mikroorganismen durch saure Galakturonide am humanen terminalen Ileum

---

S. Guggenbichler  
Med. Fakultät der Universität Innsbruck  
(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. H. Grunicke)

---

- **Schlüsselwörter**
  - **Zusammenfassung**
  - **Key-words**
  - **Summary**
  - **Einleitung**
  - **Material und Methode**
  - **Ergebnisse**
  - **Diskussion**
  - **Ausblick**
  - **Literatur**
- 

## **Schlüsselwörter:**

*Escherichia coli*, Gefrierschnitte, Adhärenz, Blockierung der Adhärenz

## **Zusammenfassung**

Es wird ein *In vitro*-Testsystem zur Testung der Adhärenz pathogener Mikroorganismen vorgestellt. Dieses Testsystem eignet sich außerdem auch zur Testung verschiedener Kohlenhydrate, die die Adhärenz pathogener Mikroorganismen blockieren.

Zur Testung werden Gefrierschnitte menschlichen terminalen Ileums verwendet. Die Blockierung der Adhärenz ist durch saure Oligogalakturonide möglich, welche durch Fermentation aus Pektin gewonnen werden. Der klinische Einsatz geht von Sondennahrung in der Intensivmedizin bis zu Tierfuttermittelzusätzen als antibiotischer Leistungsfördererersatz.

## **Key-words:**

*Escherichia coli*, frozen sections, adherence, blockage of adherence

## **Summary**

An *in vitro* test model for investigations of adherence of pathogenic microorganisms has been developed. This test system can also be used for the investigations of various carbohydrates expected to block the adherence of pathogenic microorganisms. Frozen sections of human terminal ileum obtained by operations were used in this assay. The blockage of adherence can be achieved by acidic oligogalacturonides, which are fermented from pectin. Isomaltose and D-mannose did not show any reduction of adherence in this blinded investigation. Acidic oligogalacturonides can be used for tube feeding in critically ill patients e.g. after bone marrow transplantation in exchange of selective bowel decontamination. These substances also can be used instead of antibiotic growth promoters in veterinary medicine and are valuable alternatives in the food chain.

---

## Einleitung

Die Entstehung einer bakteriellen Infektion ist ein komplexes Geschehen, das von unterschiedlichen Faktoren sowohl auf Seiten des Erregers als auch auf der des Wirtes abhängt. Bisher wurde die Virulenz pathogener Mikroorganismen weitgehend auf die Bildung von Toxinen reduziert, die zum Zelltod oder zu schweren funktionellen Störungen von Körperfunktionen Anlass geben.

Die Adhärenz pathogener Mikroorganismen an Schleimhautoberflächen wurde jedoch als essenzieller, initialer Schritt für eine Infektion erkannt [1]. Nur Bakterien, die an Epithelzellen adhärieren und dadurch nicht von der unspezifischen körpereigenen Abwehr wie der mukoziliären Clearance, Peristaltik, Sekretfluss etc. beseitigt werden können, entwickeln die Fähigkeit zur lokalisierten Proliferation, die die Besiedelung von Epitheloberflächen ermöglicht; dadurch werden Toxine direkt an den Rezeptor herangebracht. Bakterien, die an der intestinalen Mukosa adhärieren, können über Signalproteine zur proteolytischen Auflösung der angrenzenden Schleimhaut oder durch Freisetzung von Toxinen zu einer lokalen oder systemischen Entzündung bzw. zu funktionellen Störungen führen. Eine bereits toxisch oder degenerativ vorgeschädigte Schleimhaut verliert die Barrierefunktion, was zum Eindringen von Mikroorganismen in den Körper führt. Dieser Vorgang wird als bakterielle Translokation bezeichnet.

Die Adhärenz wird heute als gleichwertiger Virulenzfaktor wie z.B. die Bildung von Toxinen oder die Gewebszerstörung durch bakterielle Enzyme gewertet. Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass Toxin-bildende Mikroorganismen (ETEC) nur in Kombination mit dem Kolonisationsfaktor zur Manifestation einer Erkrankung führen. Ein weiterer Hinweis für die klinische Bedeutung der Adhärenz kann darin gesehen werden, dass pathogene Mikroorganismen (z.B. EHEC) isoliert wurden, die zwar imstande sind, spezifische Toxine wie zum Beispiel das Verotoxin zu bilden, jedoch ohne Adhärenzfaktoren apathogen bleiben.

*Escherichia coli*, Salmonellen, *Campylobacter jejuni* und andere Mikroorganismen werden häufig bei bakteriellen Infektionen gefunden. Klinisch manifestieren sich diese als akuter oder protrazierter Durchfall, als Harnwegsinfekt, Tonsillitis, Pneumonie, Bronchitis etc. [2]. *E. coli*, vor allem „p“-Fimbrien-tragende Stämme mit besonderer Haftfähigkeit, werden bei Infektionen der oberen Harnwege isoliert [3].

Bakterien adhärieren durch hoch spezifische Mechanismen an Epithelzellen: mit Hilfe von Pili, Fimbrien oder Fibrillen stellen sie einen festen Kontakt mit der Wirtszelle her [4]. Auf der Seite des Wirtes sind Adhärenzrezeptoren Glykolipide mit einem Tetrasaccharid als Kohlenhydratanteil [5]. Diese Tetrasaccharide bestehen aus 1 Molekül Glukose und 3 Molekülen Galaktose, die in Globoserie angeordnet sind. „p“-Fimbrien nützen Gal alpha1-4 Gal-Sequenzen als Bindungsstelle, Bakterien mit Typ I-Fimbrien D-Mannose. Darüber hinaus sind jedoch noch eine Reihe von Spezies-spezifischen Oberflächenstrukturen bekannt, die für die Adhärenz, eher aber für die weitere feste Bindung nach dem Erstkontakt des Keimes mit der Epitheloberfläche verantwortlich gemacht werden. Auch für invasive Erreger ist eine feste Bindung an die Wirtszelle zu Beginn der Infektion von entscheidender Bedeutung [6]. Wenn der initiale Schritt der Adhärenz unterbunden werden kann, ist das Risiko für das Angehen einer Infektion wesentlich geringer.

Die Untersuchung der Adhärenz bakterieller Mikroorganismen als Virulenzfaktor wurde bisher jedoch weitgehend vernachlässigt. Für die Untersuchung der Adhärenz von ETEC und EPEC sind Referenzmodelle mit Zellkulturlinien bekannt (Hep-2-Zellen für EPEC,

CaCo-2-Zellen für ETEC). Für EHEC existiert jedoch keine Referenz-Zelllinie.

Für die Untersuchung der bakteriellen Adhärenz wird ein Modell benötigt, welches einen guten Einblick in die Verhältnisse *in vivo* zulässt. Die Möglichkeit, in Zellkulturen eine große Zahl an Versuchszellen gleichzeitig zur Verfügung zu haben und damit viele verschiedene Proben unter gleichen Bedingungen zu untersuchen, macht die Verwendung von Zellkulturen attraktiv.

Jedoch bestehen hierbei einige gravierende Probleme:

- Nichtpolarisierte Zellen wie HeLa-, Hep-2- oder MadinDary-Nieren-Zellen spiegeln die Verhältnisse im menschlichen Körper in keiner Weise wider.
- Immortalisierte Zellen von menschlichen intestinalen Tumoren wie CaCo-2 und HAT-29 sind zwar in der Lage zu differenzieren und können sogar eine apikale und basolaterale Seite ausbilden. Die Expression von Membranproteinen und intestinalen Enzymen hängt jedoch vom Differenzierungsgrad ab und ist ebenso nicht mit den *In-vivo*-Verhältnissen vergleichbar.
- Die Bildung von Rezeptor-Epitopen ist stark von der Kultivierungsdauer und von Wachstumsbedingungen wie dem Nährmedium abhängig.
- Gesunde menschliche Enterozyten sind schwierig zu isolieren und variieren sehr stark von Spender zu Spender.

Es ist also nicht möglich, selbst für alle Vertreter der *E. coli*-Familie (ETEC, EPEC, EHEC und „p“-Fimbrien-tragende *E. coli*) eine Zelllinie zu definieren, die alle erforderlichen Eigenschaften besitzt, um ihre Adhärenz in vergleichenden Studien zu untersuchen. Deshalb wird die Forderung nach einem verbesserten Testmodell erhoben: Menschliches intestinales Dünndarmgewebe entspricht der *In-vivo*-Situation am besten und wird daher für die weiteren Untersuchungen ausgewählt. Dieses Gewebe wird in Gefrierschnitten präpariert, um die physiologischen Verhältnisse so gut wie möglich erhalten zu können und damit die Testung der Adhärenz wie *in vivo* zu ermöglichen. Dieses Testsystem kann auch für Untersuchungen zur Blockierung der Adhärenz pathogener Mikroorganismen verwendet werden.

## Material und Methode

### Bakterienstämme

Folgende Bakterienstämme wurden in die Untersuchung einbezogen:

Es sind dies einerseits Referenzstämme, die in der internationalen Literatur (1-3) beschrieben sind, Referenzstämme vom Salmonella-Referenzzentrum Hamburg (4-6), Referenzstämme vom EHEC-Referenzzentrum Würzburg (7) sowie frische klinische Isolate aus der Klinik für Kinder und Jugendliche in Erlangen (8-12).

1. ETEC: human pathogenic strain H10407 serotype O78:H11 with CFA/I
2. ETEC H1407g Nataro, Institute for Vaccine development, Maryland
3. EPEC P2348, Serotype O127:H6 (Cravioto)

4. SATH Dt104c
5. SAEN 2
6. Sat 02-01427
7. EHEC 9436/46
8. *Salmonella typhimurium* (frisches klinisches Isolat) SaTh1
9. *Salmonella typhimurium* (frisches klinisches Isolat) SaTh2
10. ETEC 117/86
11. EPEC 25496
12. EHEC W3674/92

### **Wachstums- und Kulturbedingungen der Keime**

- Die Stämme werden bei -70°C in Mikrobanks (ProLab Diagnostics, Neston GB) gelagert.
- 1 Einheit dieser tiefgefrorenen Keime wird in TSB-Y (30 g Trypcase Soja + 10 g Hefeextrakt/l Aqua bidest)-Bouillon angezüchtet: Bebrütung erfolgt bei 37°C über 12 Stunden.
- 0,3 ml der trüben Bouillon wird in 10 ml TSB-Y eingebracht und für 3 Stunden im Shaker bei 37°C bebrütet. Dies resultiert in einer Ausgangskeimzahl von  $5 \times 10^8$  CFU/ml.
- Die Bouillon wird zentrifugiert (1500 rpm, 10 min, in Raumtemperatur) der Überstand wird abgekippt. Die Zellsuspension wird 1 x in 10 ml NaCl 0,9% gewaschen und anschließend in 1 ml Blockierungspuffer zur Hemmung der unspezifischen Adhärenz resuspendiert. Der Blockierungspuffer enthält 2% Mannose + 0,05% Tween 20 in NaCl 0,9%.
- Eine Keimzahl von  $10^7$  CFU/ml in der Testlösung wird durch Verdünnung mit NaCl 0,9% hergestellt. Trübungsmessung bei 475 nm im Photometer ergibt bei einer OD von 0,15 die gewünschte Inokulumdichte von  $10^7$  CFU/ml.

### **Gefrierschnitte**

Gefrierschnitte aus dem terminalen Ileum von Patienten wurden zur Untersuchung verwendet. Die Gewebeproben wurden bei einer Operation – z.B. Resektion eines Tumors im Colon ascendens, Reoperation eines Ileostomas – gewonnen. Das Gewebe wurde im Gesunden abgesetzt und histologisch als unversehrt dokumentiert. Die Patienten weisen präoperativ keine Minderdurchblutung der Darmschleimhaut auf.

Die Darmabschnitte werden sofort zur Herstellung der Gefrierschnitte vorbereitet, mit Kohlendioxid tiefgefroren und mit einem Gefriermikrotom in 6 µm dicke Schnitte geschnitten und auf Objektträger aufgenommen. Die Lagerung der Schnitte erfolgt bei -70°C.

Es ist sichergestellt, dass jeweils mindestens 300 sequenzielle Proben, die zur Untersuchung eines Keimes notwendig sind, von einem Patienten stammen.

## **Untersuchungsgang**

### *Untersuchung der Adhärenz*

Die Gefrierschnittprobe auf dem Objektträger wird mit einem Daco Pen (DACO A/S Dänemark) eingekreist, anschließend werden 200 µl der Bakteriensuspension auf den Gefrierschnitt aufgebracht.

EPEC, ETEC und Salmonellen werden für 30 Minuten mit dem Gefrierschnitt inkubiert, EHEC für 60 Minuten. Nach der entsprechenden Kontaktzeit wird der Gefrierschnitt mit PBS sorgfältig gewaschen, getrocknet und nach Pappenheim gefärbt.

Nach der Färbung wird der Gefrierschnitt mit einem Deckglas zur Auszählung und weiteren Aufbewahrung geschützt.

## **Kohlenhydrate**

3 verschiedene Kohlenhydrate (Galfres, Isomalt, Mannose) werden geblindet in doppelter Ausführung hergestellt. Die Konzentration beträgt 2% in der Ausgangslösung, um mit der 1:1 Keimverdünnung eine ultimative Konzentration von 1% zu erreichen. Der pH-Wert von 6 der Probe mit dem Kohlenhydrat stellt sich nach 1:1 Mischung mit der Keimsuspension auf ca. 6,5-6,7 ein.

### *Untersuchung der Blockierung der Adhärenz durch Kohlenhydrate*

150 µl Keimsuspension + 150 µl Kohlenhydratsuspension werden in Mikrotiterplatten eingebracht und 1 Stunde bei 37°C vorinkubiert. Die weitere Untersuchung erfolgt wie bei der Adhärenztestung.

## **Auszählung der Proben**

Die Keime, die in 20 aneinander liegenden Krypten liegen, werden gezählt und der Mittelwert der Keimzahl pro Krypte kalkuliert. Bei einer Schnittdicke von 6 µm liegen die auszählenden Krypten in den entsprechenden Proben aneinander und ermöglichen dadurch den direkten Vergleich. Die Auswahl der Gefrierschnitte erfolgt so, dass ein direkter Vergleich zwischen Adhärenz und Blockierung der Adhärenz durch aufeinander folgende Schnitte möglich ist.

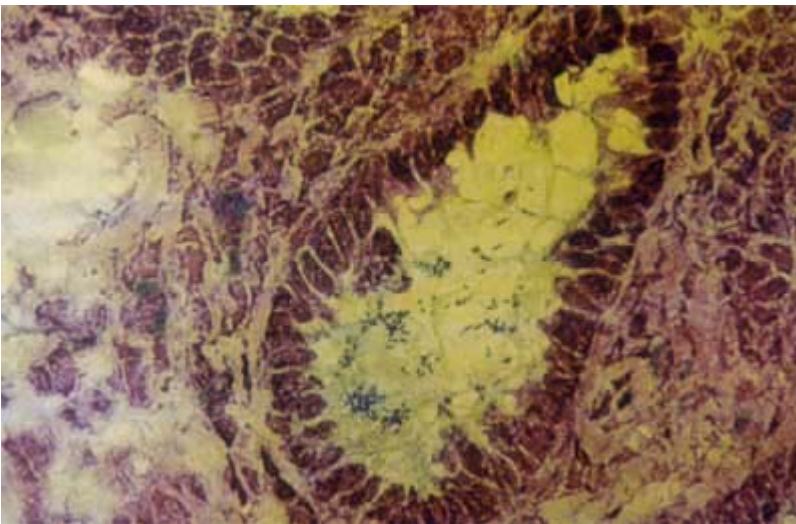
## **Ergebnisse**

### **Adhärenzuntersuchungen**

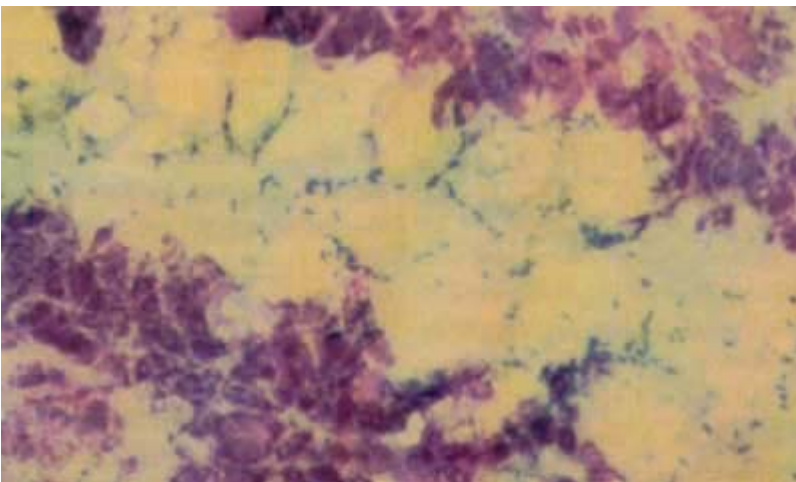
Die Adhärenzmuster unterschiedlicher Mikroorganismen werden als diffus, lokalisiert oder aggregativ auf die Epithelschicht bezogen beschrieben. Im darunter liegenden

Bindegewebe werden keine adhärenenden Mikroorganismen beobachtet. Für die einzelnen Bakterienstämme zeigen sich charakteristische Adhärenzmuster, die für die jeweilige Bakterienart typisch und reproduzierbar sind. Durch die Verwendung des Gefrierschnittmodells und nach ausführlicher Testung der jeweiligen Bakterienstämme konnte die Adhärenz standardisiert werden. So konnte gezeigt werden, dass ETEC nur an der Oberfläche der Epithelzellen haftet, EHEC aber den Verband der Epithelzellen zerstört und in das Stroma unter der Epithelschicht vordringt; EPEC zerstört den Mikrovillisaum und wird intrazellulär beobachtet (Abbildung 1a, 1b, 1c).

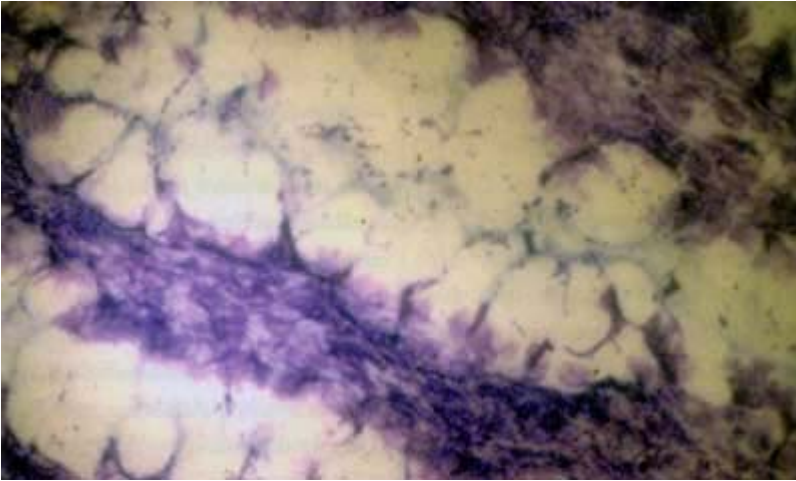
**Abbildung 1a:** EPEC intrazellulär



**Abbildung 1b:** ETEC an der Epitheloberfläche



**Abbildung 1c:** Aggregative Adhärenz von EHEC

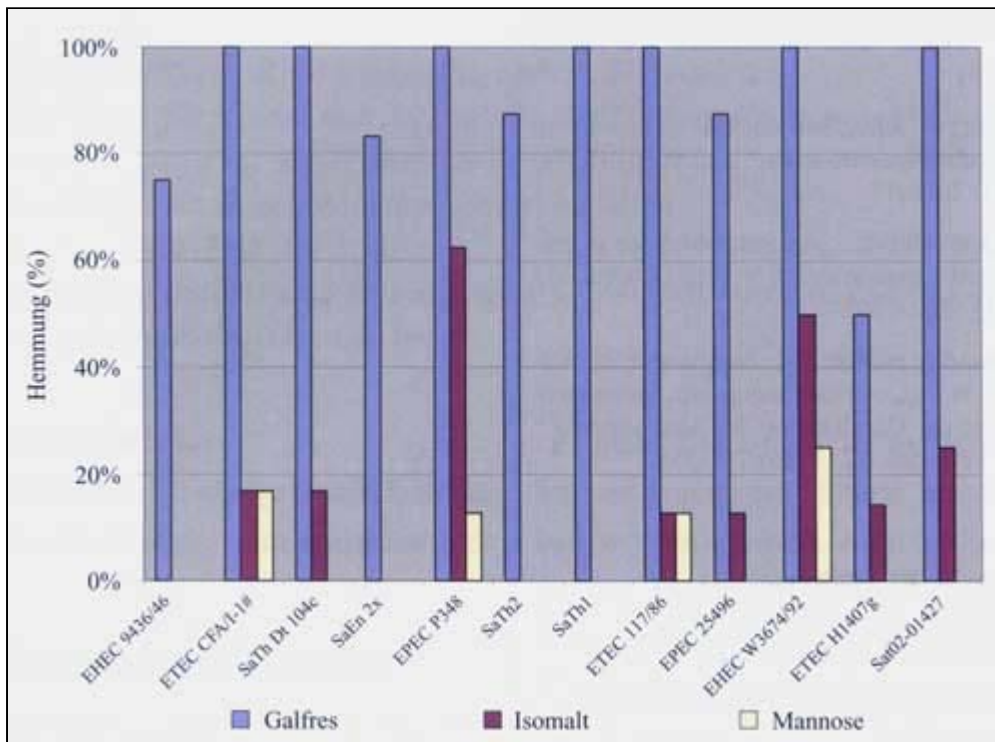


### **Blockierung der Adhärenz**

In den geblindeten Untersuchungen konnte eindeutig das „wirksame“ Galfres von den Proben mit Isomalt und Mannose unterschieden werden. Bei den von uns untersuchten Kohlenhydraten konnten die Proben mit „Galfres“, einem sauren Oligogalakturonid [7, 8], die Adhärenz fast vollständig reduzieren. Dies ist dadurch zu erklären, dass dieses Kohlenhydrat die Rezeptorstrukturen an den Fimbrien der Bakterien besetzt, wodurch die Bakterien keine Möglichkeit mehr haben zu adhären.

Sieben der zwölf getesteten Stämme konnten durch das Kohlenhydrat „Galfres“ komplett in ihrer Adhärenz gehemmt werden, bei weiteren drei konnte die Adhärenz um mindestens 80% gesenkt werden. Im Gegensatz dazu hatten die beiden Kontrollsubstanzen insgesamt nur geringe Hemmwirkung. Vier der zwölf getesteten Stämme ließen sich überhaupt nicht beeinflussen, weitere sechs Stämme zeigten eine Adhärenzreduktion durch Maltose zwischen 10 und 20%. Bei zwei Stämmen wurde eine Adhärenzreduktion um 50-60% beobachtet. Mannose hingegen zeigte bei vier Stämmen eine Adhärenzreduktion zwischen 15-25%. Es ist bemerkenswert, dass bei diesen Stämmen trotz des Einsatzes des 2%igen Mannose-Blockingpuffers zur Elimination der unspezifischen Mannoseempfindlichen Resistenz durch Typ-I-Fimbrien eine zusätzliche geringe Reduktion der Adhärenz erzielt werden konnte. Die Reduktion der Adhärenz der verschiedenen Bakterienstämme mit den unterschiedlichen Kohlenhydratproben wird in Abbildung 2 gezeigt.

**Abbildung 2:** Hemmung der Adhärenz der getesteten Mikroorganismen durch unterschiedliche Kohlenhydratproben



## Diskussion

Infektionen stellen ein großes Problem für die moderne Medizin dar. Nosokomiale Infektionen wie Sepsis, Pneumonie, Harnwegsinfekte und Durchfall stehen als Todesursache auf Platz eins bei kritisch Kranken auf Intensivstationen. Die Gesamtletalität an Sepsis auf einer Intensivstation beträgt 20%, die 30-Tage-Letalität bei einem Krankheitsbild mit Sepsis, septischem Schock und Organdysfunktion beträgt 30-50% [9]. Der Einsatz von Antibiotika hat einen positiven Effekt, kann aber die Sterblichkeit nicht nachhaltig reduzieren. Die Zahl der multiresistenten Bakterien, die auf Intensivstationen gefunden werden, steigt kontinuierlich. Um diese Probleme zu kontrollieren, ist die Prophylaxe unumgänglich.

Da die Adhärenz als ebenbürtiger Virulenzfaktor in der Entstehung von Infektionen betrachtet werden kann, kommt einer Blockierung der Adhärenz auch eine entscheidende Rolle zu. Die Blockierung der Adhärenz kann durch Rezeptoranaloga erreicht werden, wobei die Oberflächenantigene der Bakterien durch wasserlösliche Kohlenhydratstrukturen besetzt werden. Wie in unseren Untersuchungen gezeigt, sind saure Galakturonide, die durch Fermentation aus Pektin gewonnen werden, für die von uns untersuchten enteropathogenen Mikroorganismen in einem hohen Maße adhärenzhemmend.

Die Proben mit Mannose und Isomalt können die Adhärenz nicht wesentlich vermindern. Da weder der 6fachzucker D-Mannose noch die zwei Glukosemoleküle bei der Maltose in der Lage waren, die Strukturen, die zur Adhärenz benötigt werden, zu besetzen, können die Bakterien weiterhin an den Epithelzellen Halt finden. Es ist zwar in der Literatur bekannt, dass D-Mannose die Adhärenz von *E. coli*-Stämmen mit dem Fimbrientyp I blockieren kann, die klinisch relevanten, pathogenen *E. coli*-Stämme mit dem Fimbrientyp II können durch D-Mannose in ihrer Adhärenz nicht beeinflusst werden. Auch das Disaccharid Maltose hat keinen nennenswerten Einfluss auf die Adhärenz der untersuchten Bakterienstämme, wie unsere Untersuchungen zeigen konnten.

## Ausblick

Saure Galakturonide können sowohl in der Humanmedizin als auch in der Veterinärmedizin zum Einsatz kommen. In der Humanmedizin können sie bei bakteriellen Durchfallerkrankungen und Fehlbesiedelungen oberer Dünndarmabschnitte und zur Stabilisierung der physiologischen Flora dienen. Bei schwer kranken Patienten oder nach Knochenmarksablation können saure Galakturonide die bakterielle Translokation aus dem Darm günstig beeinflussen und so zu einer rascheren Genesung des Patienten und zur Einsparung von Antibiotika führen. Von besonderer Bedeutung dieser Therapie ist das Fehlen einer Resistenzinduktion durch diese sauren Galakturonide.

In der Tiermedizin ist an einen Ersatz von Antibiotika als Leistungsförderer zu denken, nachdem Antibiotika als Leistungsförderer ab dem Jahr 2006 in der EU untersagt werden [10, 11].

Das Potenzial saurer Oligogalakturonide kann im *In vitro*-Modell nur erahnt werden. Das Einsatzgebiet muss in prospektiven klinischen Studien ausgelotet werden, um einen möglichst breiten Einsatz auf der gesamten Anwendungsbreite zu ermöglichen.

## Literatur:

1. Evans D.G., Silver R.P., Evabs D.J., Chase D.G., Gorbach S.L.: „Plasmid controlled colonization factor associated with virulence in ETEC for humans.“ *Infect. Immun.* 12 (1975) 656-667.
2. Sack R.B.: „Enterotoxigenic Escherichia coli: identification and characterization.“ *J. Infect. Dis.* 142 (1980) 279-286.
3. Dominigue G.J., Roberts J.A., Laucirica R., Reiner M.H., Bell D.P., Suarez G.M., Kallenius G., Svenson S.B.: „Pathogenic significance of P-fimbriated E. coli in urinary tract infections.“ *J. Urol.* 133 (1985) 983-989.
4. Donneberg M.S.: „Interaction between enteropathogenic Escherichia coli and epithelial cells.“ *Clin. Infect. Dis.* 28 (1999) 451-455.
5. Cravioto A., Gross R.J., Scotland S.M., Ropwe B.: „An adhesive factor found in strains of Escherichia coli belonging to the traditional infantile enteropathic serotypes.“ *Curr. Microbiol.* 3 (1997) 95-99.
6. Yamamoto T., Endo S., Yokozta T., Eccheveria P.: „Characteristics of adherence of enteroaggregative Escherichia coli to human and animal mucosa.“ *Infect. Immun.* 59 (1991) 3722-3739.
7. Zopf D., Roth S.: „Oligosaccharides as anti-infective agents.“ *Lancet* 347 (1996) 1017-1021.
8. Kastner U., Glasl S., Follrich B., Guggenbichler J.P., Jurenitsch J.: „Saure Oligosaccharide als Wirkprinzip von wässrigen Zubereitungen aus der Karotte in der Prophylaxe und Therapie von gastrointestinalen Erkrankungen.“ *Wiener Med. Wochenschr.* 152 (2002) 379-381.
9. Vincent J.L.: „Nosocomial infections in adult intensive care units.“ *Lancet* 361 (9374) (2003) 2068-77.
10. Gorbach S.L.: „Antimicrobial use in animal feed – time to stop.“ *N. Engl. J. Med.* 345 (2001) 1202-1203.
11. Awad-Massalmeh M., Sagmeister H., Willinger H.: „Untersuchungen zur Immunprophylaxe der Colidiarrhoe des Absetzferkels.“ *ZBL Vet. Med.* 32 (1985) 751-758.

## Anschrift des Verfassers:

Cand. med. Siegmund Guggenbichler  
A-6020 Innsbruck, Kaiserjägerstraße 7

E-Mail: [siegmund.guggenbichler@chello.at](mailto:siegmund.guggenbichler@chello.at)

[zurück zum Inhalt](#)

---

# Einsatz von Antibiotika in der Nutztierhaltung. Ersatz durch saure Oligogalakturonide

---

J.P. Guggenbichler 1, B. Follrich 2, Ch. Franz 3, J. Jurenitsch 2

1 Univ.-Klinik für Kinder und Jugendliche der Universität Erlangen/Nürnberg

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. W. Rascher)

2 Institut für Pharmakognosie der Universität Wien

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. B. Kopp)

3 Angewandte Botanik und Pharmakognosie, Veterinärmedizinische Universität Wien

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Ch. Franz)

---

- **Schlüsselwörter**
  - **Zusammenfassung**
  - **Key-words**
  - **Summary**
  - **Einleitung**
  - **Klinische Auswirkung antibiotischer Leistungsförderer**
  - **Alternative Methoden zum Ersatz von Antibiotika als Leistungsförderer**
  - **Adhärenzblockierung von Mikroorganismen an Epithelzellen**
  - **Fütterungsstudien**
  - **Diskussion**
  - **Schlussfolgerung**
  - **Literatur**
- 

## **Schlüsselwörter:**

Antibiotika, Leistungsförderer, Resistenzentwicklung, saure Galakturonide

## **Zusammenfassung**

Antibiotika werden in der Tiermedizin in großen Mengen entweder als Therapeutikum, zur Prophylaxe oder als Leistungsförderer zur Steigerung der Lebendmassenzunahme eingesetzt. In zahlreichen Studien wird der Einsatz von Antibiotika in der Fütterung von Nutztieren mit der Entwicklung resistenter Mikroorganismen beim Menschen in Zusammenhang gebracht. Dies wurde einerseits in Form einer zunehmenden Resistenz von *Salmonella*-Stämmen, *Campylobacter* und *Enterococcus faecium* mit schweren, lebensbedrohlichen Erkrankungen und einer erheblichen Einschränkung der therapeutischen Optionen beobachtet. Mindestens ebenso beunruhigend ist der Transfer von Resistenzgenen von *E. coli*, *Bacteroides* und Gram-positiven Mikroorganismen von Nutztieren in die kommensale Flora des Menschen.

Durch die Europäische Union sowie die WHO wurde daher der Einsatz von Antibiotika als Leistungsförderer zeitlich bis zum Beginn des Jahres 2006 beschränkt. Die Empfehlungen der WHO besagen, dass Antibiotika nur gezielt zur Therapie von Infektionen beim Tier eingesetzt werden dürfen und von einem Tierarzt verschrieben werden müssen. Antibiotika mit großer therapeutischer Bedeutung beim Menschen wie Fluoroquinolone, Glykopeptide und Cephalosporine der III. Generation dürfen nicht verwendet werden.

Es ist daher von großer Bedeutung, alternative Methoden zur Prophylaxe von Durchfallerkrankungen und Sepsis bei Nutztieren sowie zur Stabilisierung der Flora zu entwickeln. Die Adhärenz bakterieller Mikroorganismen wurde als wesentlicher

Virulenzfaktor erkannt. Pathogene Mikroorganismen haften an Kohlenhydratstrukturen der Epitheloberflächen. Durch den Einsatz von Kohlenhydraten, die als Rezeptor-Analoga die Adhärenz bakterieller Mikroorganismen an Epithelzellen blockieren, kann die Besiedelung von Schleimhäuten verhindert und ein wichtiger Virulenzfaktor ausgeschaltet werden.

In mehreren eigenen Tierversuchen wurden mit Karottenpektinen bzw. den aus diesem Vorprodukt isolierten Oligogalakturoniden sehr gute prophylaktische und therapeutische Wirkungen erzielt. Oligogalakturonide bieten sich als Ersatz von Antibiotika in der Prophylaxe von z.B. Durchfallerkrankungen in der Tieraufzucht sowie als Leistungsförderer an.

**Key-words:**

Antibiotics, resistance, growth promoters, acidic galacturonides

## Summary

Antimicrobials have been used in food animals for nearly half a century. Among the most common drugs that are used are compounds either identical or related to those administered in human medicine. These antimicrobial agents are administered to food animals as therapy for an infection or, in the absence of disease, for prophylaxis or for subtherapeutic purposes for growth promotion and enhanced feed efficiency. There is ample evidence that the use of antimicrobials selects for resistant strains and enhances their persistence in the environment. Multidrug resistance in *Salmonella*, *Campylobacter* and *Enterococcus faecium* has been observed which can increase the frequency and severity of infections and limit treatment options. Another concern of similar magnitude is the horizontal spread of the resistance genes from multiresistant bacteria in food animals to commensal strains in the intestinal microflora of humans. Extensive transfer of antimicrobial resistance has been demonstrated among enteric bacteria, bacteroides and gram-positive bacteria in the human colon.

On this basis European health authorities and the WHO provided expert recommendation. Antibiotics should be used only when indicated in individual infected animals for targeted pathogens and prescribed by veterinarians. The use of certain antibiotics with important uses in humans such as fluoroquinolones, glycopeptides and third generation cephalosporines should be prohibited in animals. The subtherapeutic use of antimicrobials for growth promotion will be banned by 2006.

Alternative methods for prophylaxis of infections in animals have been described. Adherence of bacterial microorganisms has been found as a major virulence factor. The use of acidic galacturonides as receptor analogs for blockage of adherence has been investigated extensively in experimental and animal studies. Favorable results have been obtained in prophylaxis of diarrhea of weaning piglets and in the prevention of adnexitis in a laying hen battery. These oligogalacturonides could serve as a valuable alternative to antibiotics in the food chain.

---

## Einleitung

Seit nahezu 50 Jahren werden weltweit Antibiotika in der Tierernährung eingesetzt. Dies wurde nötig, nachdem schwere lokale und septische Infektionen in der Schweine- und Kälberaufzucht und in Legehühnerbatterien als Folge der industriellen Nahrungsherstellung unter Intensivtierhaltung beobachtet wurden [1]. Diese Infektionen treten vorzugsweise nach dem Abstillen der Tiere und dem Transfer in ein neues

mikrobielles Milieu auf. Kreuzinfektionen werden durch beengte Raumverhältnisse und daraus resultierenden Stress sowie durch die artspezifisch erhöhte Adhärenz bestimmter Serotypen von *Escherichia coli* und anderen fakultativ pathogenen Erregern beobachtet. Antibiotika wurden in der Therapie dieser Infektionen verabreicht sowie auch zur Prophylaxe als Fütterungsarzneimittel in kritischen Phasen wie z. B. bei der Umstallung eingesetzt. In der Folge kam es schließlich zum Einsatz von Antibiotika in subtherapeutischen Dosen als Leistungsförderer, um eine Steigerung der Lebendmassezunahme und eine Verringerung des Futteraufwandes zu erzielen. Obgleich der Einsatz von Leistungsförderern nur zur Verbesserung der Leistungsparameter und zur Stabilisierung der physiologischen Mikroflora bzw. zur Unterstützung der physiologischen Verdauungsprozesse erfolgte, wurde auch eine Reduktion der Häufigkeit von Durchfallerkrankungen bei diesen Tieren beobachtet. Als erwünschter Nebeneffekt stellte sich auch eine verminderte Gülleproduktion ein.

Die in therapeutischen Indikationen am häufigsten verwendeten Antibiotika sind gleiche oder ähnliche Präparate, die auch in der Humanmedizin eingesetzt werden wie Penicillin, Tetracykline, Cephalosporine der III. Generation, Fluoroquinolone, das Avoparcin (ein Glykopeptid ähnlich dem Vancomycin) und Virginiamycin (ein Streptogramin ähnlich dem neu entwickelten Quinupristin-Dalfopristin) [2]. Beim Antibiotikaskandal 2000 musste man feststellen, dass in Niederbayern auch große Mengen von Chloramphenicol verabreicht worden waren.

## **Klinische Auswirkung antibiotischer Leistungsförderer**

Durch die therapeutische und prophylaktische Verabreichung von Antibiotika in der Nutztierhaltung kommt es zur Selektion/Induktion resistenter Mikroorganismen vor allem im Kot dieser Tiere [3, 4, 5, 6, 7]. Meist konzentriert sich die Diskussion in diesem Zusammenhang auf den Transfer humanpathogener Mikroorganismen auf den Menschen. Der Transfer resistenter Mikroorganismen wie *Salmonella*-Stämme und *Campylobacter spp.* von Tieren auf den Menschen ist ein bekanntes Phänomen [4, 5]. White berichtet über den Nachweis von Salmonellen bei 20% der kommerziell erhältlichen Packungen von Hackfleisch, 84% der Isolate zeigten eine Resistenz auf wenigstens eine Antibiotikaklasse [8]. Salmonellen und andere resistente Mikroorganismen kommen jedoch auch in Gemüse- und Salatzubereitungen, Hülsenfrüchten, Ölsamen, Kräutertee-Mischungen und Pilzen vor, die mit organischem Dünger von Tieren, die diese resistenten Mikroorganismen ausscheiden, in Kontakt gekommen sind [9].

In weiteren Studien wurden in Fleisch, insbesondere in Hühnchen *Enterococcus faecium* sowie *Campylobacter jejuni* gefunden, ein Bakterium mit zunehmender Bedeutung in der Humanmedizin [10]. Diese Mikroorganismen zeigen eine hohe Resistenz gegen Fluorochinolone, seitdem diese Antibiotika in therapeutischem Gebrauch sind.

McDonald berichtet von Hähnchen, die zu 17% mit einem Quinupristin-Dalfopristin-resistenten Stamm von *Enterococcus faecium*, einem neu auf den Markt gebrachten „Reserve-Antibiotikum“ mit Wirksamkeit gegen MRSA, kontaminiert sind [11].

Ein Grund zur erheblichen Sorge – und es bestehen genügend wissenschaftliche Beweise – ist die horizontale Übertragung von Resistenzgenen der normalen Stuhlflora von Tieren bzw. der Mikroorganismen in Gülle auf die kommensale Flora des Menschen [12]. Soerensen beschreibt einen Glykopeptid- und Streptogramin-resistenten Stamm von

*Enterococcus faecium* in Hühnchenteilen und Schweinefleisch, der zu einer transienten Besiedelung von freiwilligen Probanden geführt hat [13]. Dieser Resistenztransfer wurde bei *Enterobacteriaceae*, *Bacteroides spp.* und Gram-positiven Mikroorganismen wie Enterokokken in der Stuhlflora des Menschen beobachtet. Vancomycin-resistente Enterokokken wurden bei Hühnern sowie gleichzeitig bei Landarbeitern auf Hühnerfarmen und Personal in Schlachthöfen isoliert [14]. Die weit verbreitete Resistenz von Enterokokken auf Glykopeptide bei Menschen resultierte aus der Anwendung von Avoparcin, das jedoch bereits seit 1997 nicht mehr verwendet werden darf [15, 16]. Diese VanA-Typ Vancomycin-resistenten Enterokokken persistieren jedoch für Jahre [17].

Über die Menge der Antibiotika, die in der Tiermast verwendet wurde, bestehen nur unzureichende Angaben [18]. Eine offizielle Schätzung besagt, dass ca. 50% der Antibiotikamenge, die in den USA hergestellt wird, in der Tierhaltung, vorwiegend in subtherapeutischen Dosen, Verwendung findet. Die „Union of Concerned Scientists“ veröffentlichte eine Schätzung nach der in den USA jährlich 11,2 Millionen kg als Leistungsförderer und nur 900.000 kg als Therapeutika im Veterinärbereich verabreicht werden. Demgegenüber finden nur 1,3 Millionen kg in der Humanmedizin Verwendung. Etwas anders sieht die Situation in Europa aus: Von den in der EU jährlich an Nutztiere verabreichten 4.700 t Antibiotika entfallen nur 1.000 t als Leistungsförderer und die größere Menge auf den Einsatz in therapeutischen Dosen, da bereits jetzt nur noch 4 Antibiotika als Futterzusatzstoffe zugelassen sind [19]. Zusammenfassend muss man feststellen, dass auf jeden Fall erhebliche Mengen an Antibiotika in der industriellen Nahrungsherstellung zum Einsatz gelangen.

Seit nahezu 3 Jahrzehnten tobt ein Meinungsstreit über die Auswirkungen der Verwendung von Antibiotika in der Tiermast auf den Menschen. Nahezu 1,4 Millionen Erkrankungen durch Salmonellen werden pro Jahr in den USA beobachtet [20, 21]. In Bayern werden pro Jahr ca. 7.000-10.000 Fälle von Infektionen mit *Salmonella enteritidis* registriert, wobei die Dunkelziffer erheblich höher liegt [22]. Ca. 3% der Patienten zeigen eine extraintestinale Ausbreitung, die Letalität beträgt 1%, wobei besonders Personen >65 Jahre betroffen sind.

Trotz der oben genannten beunruhigenden Faktoren warnt ein Teil der Tiermediziner vor dem Verbot der antibiotischen Leistungsförderer, weil dadurch nur der therapeutische Ansatz in höheren Dosen ausgelöst würde wie gewisse Trends bereits gezeigt haben sollen. Auch die Nahrungsmittelindustrie beharrt weiterhin auf der Verwendung von Antibiotika in der Tiermedizin. [23, 24, 25]. Zu den Argumenten gehört z.B., dass Durchfallerkrankungen bei Absetzferkeln in vielen Schweinebetrieben ein häufiges Problem darstellen. Tiere finden sich nach dem Absetzen mit unbekanntem Artgenossen konfrontiert und in einer für sie komplett neuen Umgebung mit neuer Mikroflora. Diese umweltbedingten Veränderungen, diätetische Faktoren, virale und bakterielle fakultativ pathogene Krankheitserreger in Kombination mit Stress können zu Durchfallerkrankungen, aber auch Sepsis in Form der Ödemkrankheit beim Ferkel führen [25]. Häufig sind an diesen Durchfallerkrankungen nicht kommensale *Escherichia coli* beteiligt. Es sind spezifische Sero- und Pathotypen von Bakterien, deren Virulenz und Bedeutung für das Krankheitsgeschehen durch ihre Adhärenz an den Epithelzellen des Intestinaltrakts sowie an der Fähigkeit zur Bildung von Enterotoxinen mitbestimmt wird. Erkrankten diese Ferkel, kommt es zu einer verminderten Lebendzunahme, oder die Tiere verenden. Die Freilandhaltung von Hühnern ist durch Kreuzinfektionen zwischen Herden mit dem hühnerpathogenen *E. coli*-Stamm O78 K80 mit Tierausschlägen und einer erheblich verminderten Legeleistung belastet [26].

Ein wesentlicher Beweggrund für die Verwendung von Antibiotika als Leistungsförderer ist vor allem der kommerzielle Nutzen, den man trotz erheblicher Kosten von den Antibiotika

erwartet.

1995 wurde vom dänischen Landwirtschaftsministerium Avoparcin als Leistungsförderer verboten [27, 28]. Nach dem europäischen Recht mussten bei ausreichendem wissenschaftlichen Nachweis alle europäischen Länder dieser lokalen Rechtsprechung folgen. Durch die europäische Legislatur wurde daher in den letzten Jahren dem Großteil der antimikrobiellen Leistungsförderer die Zulassung entzogen.

Nach einer vorübergehenden Steigerung der therapeutischen Anwendung von Antibiotika bei Masttieren zur Behandlung von Durchfallerkrankungen in Dänemark konnte bis 2000 eine Reduktion des Antibiotikaverbrauchs um 50% erzielt werden [29]. Gleichzeitig konnte jedoch auch ein Rückgang des Selektionsdrucks z.B. auf Enterokokken in Geflügelfarmen beobachtet werden. Dieser Rückgang wurde noch deutlicher, als auch das Makrolid-Antibiotikum Tylosinphosphat als Leistungsförderer untersagt wurde. Eine Verbesserung der Resistenzsituation konnte auch bei *Campylobacter* gezeigt werden.

## **Alternative Methoden zum Ersatz von Antibiotika als Leistungsförderer**

Untersuchungen haben gezeigt, dass auch trotz Elimination von Antibiotika als Leistungsförderer kommerzielle Nachteile für die Tierhalter durch alternative Maßnahmen vermieden werden können.

Es sind dies ein gutes Stallmanagement, die Beachtung hygienischer Maßnahmen in Bezug auf Stallklima, Haltungs- und Fütterungstechniken sowie die Stalldesinfektion. Auch kleinere Herden sowie ein größeres Raumangebot zur Verhinderung von Stress zeigen einen günstigen Einfluss. Als Futterzusatz wurden Säurezusätze im Wasser und der Einsatz von Probiotika beschrieben. Auch der Zusatz von sprühgetrocknetem bovinen Plasma zur Milch gleichzeitig mit Fruktooligosacchariden, Molke und Vitaminen/Elektrolyten führte in einer Studie bei Kälbern zu einer Reduktion von Durchfallerkrankungen und einer gesteigerten Gewichtszunahme [30, 31]. Die Fütterung mit gentechnologisch verändertem Reis, der humanes Laktoferrin und Lysozym exprimiert, schützte den Darm ähnlich gut vor bakterieller Besiedelung wie die Verabreichung subinhibitorischer Mengen von Bacitracin und Roxarsone [32]. Lysozym und Laktoferrin werden wie weitere genkodierte Substanzen ( $\beta$ -Defensine) als körpereigene antimikrobielle Peptide (AP) bezeichnet, die von Epithelzellen gebildet werden. Sie besitzen ein breites bakterizides Wirkspektrum gegen Gram-positive, Gram-negative Mikroorganismen, Viren und *C. albicans* [33]. Es scheint, dass Probiotika, aber auch *E. coli* Nissle 1917 die Bildung dieser AP induzieren. Auch die Züchtung resistenter Schweine sowie die Impfung gegen bestimmte speziesspezifische Serotypen von *E. coli* werden angewandt [34, 35].

Auf breites Interesse stößt derzeit der Einsatz bioaktiver Pflanzeninhaltsstoffe. Einerseits sind es antimikrobiell wirksame ätherische Öle wie Thymian-, Oregano- und Zimtöl, andererseits pflanzliche Phenole, die antioxidative und immunstimulierende Eigenschaften besitzen und die Darmperistaltik positiv beeinflussen. Mehrere diesbezügliche Projekte werden derzeit im 6. EU Forschungs-Rahmenprogramm gefördert [36].

## **Adhärenzblockierung von Mikroorganismen an Epithelzellen**

Ein innovatives neues Konzept stellt die Blockierung der Adhärenz bakterieller Mikroorganismen an Darmepithelien dar. Die Adhärenz bakterieller Mikroorganismen an Epithelzellen ist ein wesentlicher initialer Schritt von Infektionen. Erst wenn Keime (Bakterien, Viren, Pilze) an der Schleimhaut haften und durch die unspezifischen Abwehrmechanismen (Schleim, Peristaltik, Epithelabschilferung, AP) nicht mehr mechanisch entfernt werden können, entwickeln sie die Fähigkeit zur lokalen Proliferation und Besiedelung der Schleimhäute [37].

Bakterien, die an der intestinalen Mukosa adhäreren, können entweder direkt durch Bildung von Proteasen und Hämolytinen zur Degeneration der angrenzenden Schleimhaut oder durch Freisetzung von Toxinen zu einer lokalen oder systemischen Entzündungsreaktion bzw. zu funktionellen Störungen der Resorption führen (Abbildung 1).

**Abbildung 1:** Adhärenz von EHEC an der Schleimhaut des terminalen Ileums eines Saugferkels. Auflösung der Mikrovillus-Struktur adhärenter Mikroorganismen



Somit stellt die mikrobielle Adhärenz an der Schleimhaut einen wesentlichen ersten Schritt in der Pathogenese von Infektionen insbesondere des Gastrointestinal- und Urogenitaltrakts dar [38].

Der Vorgang der mikrobiellen Adhärenz ist komplex und zeichnet sich durch Gewebstropismus, Speziespezifität, Altersspezifität und genetische Spezifität aus [39]. Hinzu kommt, dass vor allem Virusinfektionen zu einer wesentlichen Steigerung der Adhärenz und somit zu einer Zunahme der Besiedelung von Epitheloberflächen führen können.

Enteropathogene *Escherichia coli* und andere *Enterobacteriaceae* haften über Fimbrien und andere membranständige Adhäsine an der Darmschleimhaut und anderen Organstrukturen. Fimbrien sind Proteinstrukturen mit einer terminalen Lektin(artigen)-Domäne, welche an membranständigen Oligosaccharid-Epitopen binden. Dabei handelt es sich um ein Glykolipid, wobei der Kohlenhydratanteil ein Tetrasaccharid mit einem Molekül Glukose und drei Molekülen Galaktose in Globoserie darstellt [40, 41]. Fimbrien fakultativer pathogener und pathogener Mikroorganismen nützen diese Gal alpha1-4 Gal-Sequenzen als Bindungsstelle [42].

Von therapeutischem und prophylaktischem Interesse ist die Möglichkeit, die Adhärenz an Epithelzellen als Rezeptor-Analoga zu blockieren. Chemisch handelt es sich dabei um saure Galakturonide, die aus natürlichen Quellen aus dem Grundstoff Pektin durch

Fermentation gewonnen werden. Die Blockierung der Adhärenz wurde in experimentellen Untersuchungen an immortalisierten Gewebeskulturzellen aus dem Intestinaltrakt, vor allem aber an Gefrierschnitten menschlichen und tierischen Materials eindrucksvoll nachgewiesen [43, 44]. Es ist zu betonen, dass die klinische Wirksamkeit dieses Prinzips in der Humanmedizin in Form natürlicher Heilmittel (Karottensuppe nach Moro) bereits seit Jahrhunderten etabliert ist [45].

Basierend auf den oben beschriebenen Kenntnissen wurden experimentelle Feldstudien über den Einsatz von Karottenpektinen, die Galakturonide enthalten, als Futterzusatz in der Ferkelaufzucht am Lehr- und Forschungsgut der Veterinärmedizinischen Universität Wien durchgeführt [46]. In der Folge wurde das wirksame Agens Oligogalakturonide isoliert aus Pektin zur Therapie/Prophylaxe von Adnexitiden in einer Legehühnerbatterie eingesetzt. Die Möglichkeit der Blockierung der Adhärenz eines Teststammes durch diese Galakturonide wurde auch im Rahmen einer Pilotuntersuchung bei Labormäusen quantifiziert.

## Fütterungsstudien

### Ferkelstudie

In zwei Studien wurden jeweils 3 Gruppen von Absetzferkeln verglichen. In Studie 1 wurden 199 Saug- und Absetzferkel aus 20 Würfen bezüglich der Durchfallhäufigkeit verglichen. Die Ferkel wurden in 3 Fütterungsgruppen eingeteilt und erhielten folgende Futtermischungen [46]:

1. Gruppe: Karottenpulver ohne Leistungsförderer (LF)
2. Gruppe: Tylosinphosphat als LF ohne Karottenpulver
3. Gruppe: Futtermischung ohne eine der vorgenannten Substanzen (Kontrollgruppe)

Tabelle 1 zeigt die Resultate dieser Fütterungsversuche.

**Tabelle 1:** Durchfallhäufigkeit in den Gruppen

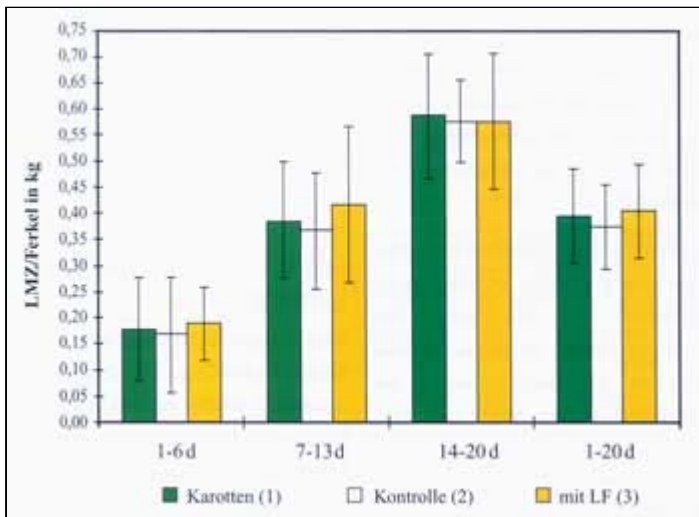
Gruppe	mit Durchfall		ohne Durchfall		gesamt	
Karotte	10	14,7%	58	85,3%	68	100%
Kontrolle	31	50,0%	31	50,0%	62	100%
LF <sub>Tylosinphosphat</sub>	17	24,6%	52	75,4%	69	100%
Gesamt	58	29,1%	141	70,9%	199	100%

Die Gruppen unterscheiden sich bezüglich der Durchfallhäufigkeit. In der ersten Woche erkrankten signifikant weniger ( $p \leq 0,003$ ) Ferkel in der Karottengruppe und in der LF-Gruppe an Durchfall als in der Kontrollgruppe. Zwischen der LF-Gruppe und der Karottengruppe bestand bezüglich der Erkrankungshäufigkeit kein signifikanter Unterschied ( $p=0,144$ ).

In der zweiten Studie wurden 54 Tiere, je 18 in einer Gruppe, auf die Lebendmassenzunahme untersucht, wobei kein Tier an Durchfall erkrankte. Die Abbildung

2 zeigt die durchschnittliche tägliche Lebendzunahme pro Ferkel in den einzelnen Gruppen. In Summe konnte kein Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen beobachtet werden, wenn auch ein Trend zu einer geringeren Lebendmassezunahme bei der Kontrollgruppe festzustellen war. Da die Ferkel jeweils aus einem Wurf stammten, war das Risiko der Belastung durch den mikrobiellen Milieuwechsel zu vernachlässigen.

**Abbildung 2:** Zunahme der Lebendmassen in den 3 Gruppen über 3 Wochen

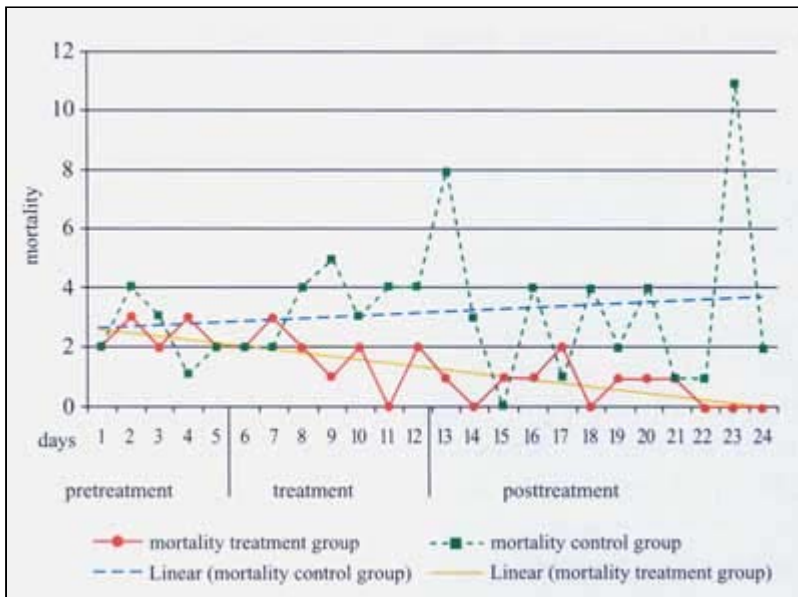


In einer erst kürzlich veröffentlichten Studie zur Wirkung von Galakturoniden bei Absetzferkeln zeigten sich keine signifikanten Leistungsunterschiede zwischen der Galakturonid-, Antibiotika- und Kontrollgruppe, was auf die günstigen Haltungsbedingungen zurückzuführen war. Die bakteriologischen Untersuchungen ergaben jedoch tendenziell ein zeitlich früheres und geringeres Ausscheiden hämolysierender *E. coli*-Serotypen, ein Hinweis auf eine raschere Elimination potenzieller Krankheitserreger durch Zugabe saurer Oligogalakturonide [47].

## Hühnerstudie

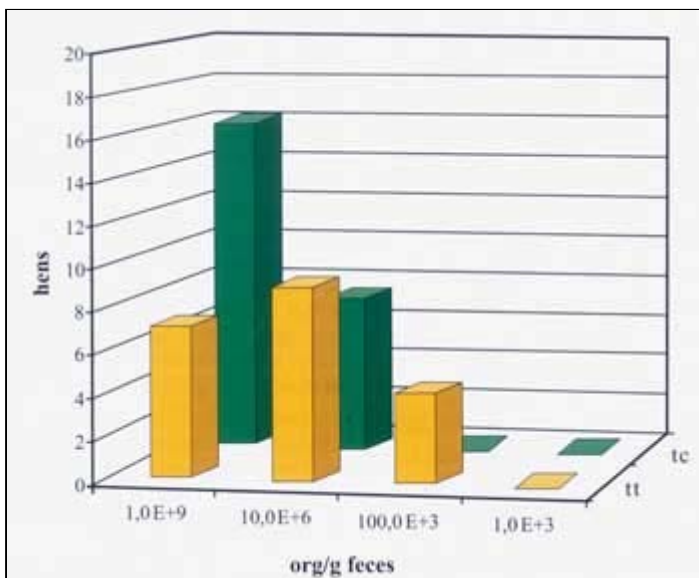
In einer weiteren Fütterungsstudie wurde in einer Legehühnerbatterie die prophylaktische und therapeutische Wirksamkeit saurer Galakturonide untersucht. In einem Geflügelbetrieb mit Freilauf wurde eine Häufung von schweren septischen Infektionen mit Peritonitis und Adnexitis durch *E. coli* O 78 sowie Tierverlusten von ca. 5 Tieren pro Tag beobachtet. Zudem wurde eine erhebliche Verminderung der Legeleistung und eine schlechte Schalenqualität der Eier im gesamten Kollektiv festgestellt (Abbildung 3) [48].

**Abbildung 3:** Anzahl der Tierverluste entsprechend des Fütterungsprotokolls. Vor Beginn der Studie werden annähernd gleich hohe Tierverluste in beiden Gruppen beobachtet. Mit Beginn der Verabreichung von Galakturoniden nimmt die Zahl der Tierverluste ab und bleibt auch in der Nachbeobachtungsphase bestehen.



In einer kontrollierten, randomisierten Studie wurden Galakturonide in einer Konzentration von 1% für 7 Tage der Nahrung zugesetzt. Nach einer Behandlungsdauer von 3 Tagen konnten die Tierverluste in dieser Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe weitgehend eliminiert werden. Im Gegensatz zu einer Vorbehandlung mit Bacitracin, bei der nach Absetzen des Antibiotikums sofort ein Reboundphänomen auftrat, war dieser Effekt über mindestens 14 Tage nach Absetzen der Galakturonide in der Nahrung noch erhalten. 14 Tage nach Beendigung des Fütterungsversuchs wurden Hühner geschlachtet: Bei 10% der Galakturonid-behandelten Hühner und bei 35% der Hühner in der Kontrollgruppe wurden pathologische Organbefunde erhoben. Die semiquantitativen Untersuchungen der Stuhlflora ergaben eine substantielle Abnahme der pathologischen Coliflora O 78 und eine Tendenz zur Normalisierung der Flora in der Gruppe der Hühner, die Galakturonide erhielten. Auch die Legeleistung und Eiqualität aller Tiere war während und nach der Behandlung mit Galakturoniden wesentlich verbessert (Abbildung 4).

**Abbildung 4:** Konzentration Hühner-pathogener E coli O78 im Kot der Tiere nach Schlachtung in den beiden Fütterungsgruppen: Die Zahl von E. coli O78 ist in der Galakturonid-Gruppe deutlich niedriger als in der Kontrollgruppe.



## Mäusestudie

In einer Pilotstudie wurde die Besiedelung des Darms von Labormäusen mit dem *E. coli*-Stamm Nissle 1917 untersucht. Es wurde bei je 10 Labortieren untersucht, ob Galakturonide in einer Konzentration von 5% in der Nahrung zu einer Reduktion der Teststämme im Dün- und Dickdarm führen können [49].

Es wurden wiederum 3 Gruppen gebildet:

1. Gruppe: Kontrolle mit normalem Futter
2. Gruppe mit 5% Galakturonide in Festnahrung: Beginn gleichzeitig mit der Verabreichung des Infektionsstamms
3. Gruppe mit 5% Galakturonide: Beginn der Fütterung mit Kohlenhydraten 2 Tage vor der Inokulation der Tiere mit dem Infektionsstamm

Die Ergebnisse dieser Pilotuntersuchung zeigen, dass sowohl bei einem unmittelbaren Beginn der Zugabe von Galakturoniden als auch bei Fütterungsbeginn 2 Tage vor Inokulation der Mäuse mit den Mikroorganismen eine Reduktion der Besiedelung um 2-3 log 10 zu beobachten war. Bei einem Fütterungsbeginn vor der Inokulation war das Ergebnis besser, ohne jedoch statistische Signifikanz zu erreichen. Dieses Ergebnis wurde in gleichem Ausmaß sowohl in der Dünndarmflora als auch in der Dickdarmflora nachgewiesen. Diese Untersuchungen bedürfen allerdings noch der Bestätigung in einem größeren Kollektiv [48].

## Diskussion

In der Literatur gibt es eine Vielzahl von Publikationen, die bei Verabreichung von Antibiotika in der Tierernährung eine Selektion/Induktion pathogener Mikroorganismen mit einer erheblichen Zunahme resistenter Mikroorganismen bei Nutztieren nachweisen. Diese Mikroorganismen weisen zum Teil erhebliche Resistenzen auf und können auf den Menschen übertragen werden. Die Mikroorganismen im Kot der Tiere und in organischem Dünger werden unter anderem für die zunehmende Resistenz bakterieller Mikroorganismen in der Humanmedizin verantwortlich gemacht [2, 5, 7]. Dabei handelt es sich einerseits um humanpathogene Keime wie Salmonellen und *Campylobacter*, die bereits eine erhebliche Resistenz aufweisen; es kann jedoch auch zu einer Übertragung apathogener oder fakultativ pathogener *E. coli*-Stämme mit Resistenz gegen eine Vielzahl von Antibiotika kommen. Die resistenten Keime der kommensalen Flora können ihre Resistenzgene auf andere potenziell pathogene Mikroorganismen übertragen.

Man darf jedoch nicht alle Resistenzprobleme in der Humanmedizin der Verabreichung von Antibiotika an Tiere zuschreiben. Die zunehmende Resistenz von Pneumokokken, Meningokokken, Gonokokken sowie Gram-negativen Mikroorganismen auf Intensivstationen steht eher im Zusammenhang mit einer nicht adäquaten Verabreichung von Antibiotika (Wahl des Präparates, Tagesdosen, Dosierungsintervalle, rechtzeitiger Therapiebeginn). Auch die Auswahl von Präparaten mit unvollständiger Bioverfügbarkeit und hohen Wirkstoffkonzentrationen im Intestinaltrakt bzw. Präparaten mit langer Halbwertszeit auf die normale Flora sind ein wesentlicher Faktor für die Resistenzproblematik in der Humanmedizin.

## Schlussfolgerung

Inwieweit die allgemeine Zunahme resistenter Mikroorganismen in der Humanmedizin auf die Verwendung von Antibiotika in der Tiermedizin zurückzuführen ist, ist noch nicht vollständig geklärt. Die WHO hat jedoch globale Prinzipien zur Verabreichung von Antibiotika in einem 40-Punkte-Programm definiert [50]. Als Leitsatz kann man die Punkte 2 bis 4 ansehen, in denen festgehalten wird, dass die Verabreichung von Antibiotika an Nutztiere in der Verantwortung der Veterinärmediziner liegt.

Als wesentliche weitere Punkte sind in die Verantwortung der Tierärzte auch die Überwachung der Resistenzsituation und die Forschung an alternativen Maßnahmen sowie die Ausbildung des relevanten Personenkreises gelegt. Die Verabreichung der Antibiotika als Leistungsförderer, die in der Humanmedizin als dringend benötigte Therapeutika verwendet werden, wurde bereits weltweit verboten. Die Verwendung von Antibiotika als Leistungsförderer insgesamt ist ab dem Jahr 2006 nicht mehr zugelassen.

Man kann Antibiotika in der Tiermedizin als Therapeutika nicht vollständig eliminieren. Als Leistungsförderer sind sie jedoch, wie das dänische Beispiel zeigt, verzichtbar [51]. Insgesamt muss man festhalten, dass nur durch einen sorgfältigen Umgang mit Antibiotika die gegenwärtige Resistenzsituation in den Griff zu bekommen ist. Ein besonderes Augenmerk muss dabei auf die Verwendung dieser Substanzen in der Tiermedizin gelegt werden, um über weitere Jahrzehnte von diesem Gebrauch machen zu können.

Für die Tiermedizin ist von großer Bedeutung, alternative Möglichkeiten zu evaluieren. Die Blockierung der Besiedelung von Epitheloberflächen durch Rezeptor-Analoga, wie sie in den sauren Oligogalakturoniden vorliegen, ist ein viel versprechender Ansatz.

## Literatur:

1. Kyriakis S.C., Tsioloyiannis V.K., Vlemmas J., Sarris K.: „The effect of probiotic LSP 122 on the control of postweaning diarrhea syndrome in piglets.“ *Res. Vet. Sci.* 67 (1999) 223-228.
2. Gorbach S.L.: „Antimicrobial use in animal feed – time to stop.“ *N. Engl. J. Med.* 345 (2001) 1202-1203.
3. Witte W., Klare I., Werner G.: „Selective pressure by antibiotics as feed additives.“ *Infection* 27 (1999) 35-38.
4. Kamphues J.: „Leistungsförderer mit antibiotischer Wirkung aus Sicht der Tiernahrung.“ *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 112 (1999) 370-379.
5. McEwen S.A., Fedorka-Cray P.J.: „Antimicrobial use and resistance in animals.“ *Clin. Infect. Dis. Suppl.* 3 (2002) 93-106.
6. Andreumont A., Brun-Buisson C., Strulens M.: „Evaluating and predicting the ecologic impact of antibiotics.“ *Clin. Microbiol. and Inf.* 7 (2001) 1-6.
7. „Overcoming antimicrobial resistance.“ Geneva: World Health Organization. 2001: <http://www.who.int/infectious-disease-report/2000index.html>.
8. White D.G., Zhao S., Sudler R.: „The isolation of antibiotic resistant salmonella from retail ground meats.“ *N. Engl. J. Med.* 345 (2001) 1147-1154.
9. Taylor J.P., Barnett B.J., del Ropsario L., Williams K., Barth S.S.: „Prospective investigation of cryptic outbreaks of *Salmonella agona* salmonellosis.“ *J. Clin. Microbiol.* 36 (1998) 2861-2864.
10. Wegener H.C.: „The consequences of food safety of the use of fluoroquinolones in food animals.“ *New*

Engl. J. Med. 340 (1999) 1581-1582.

11. Mc Donald I.C., Rosstiter S., Mackinson C., Wang Y.Y., Johnson S., Sullivan M., Sokolow R., DeBess E., Gilbert L., Benson J.A., Hill B., Angulo F.J.: „Quinupristin-Dalfopristin-resistant *Enterococcus faecium* on chicken and in human stool specimen.“ New Engl. J. Med. 345 (2002) 1155-1160.

12. Eliopoulos G.M., Wennersten C.B., Gold H.S.: „Characterization of vancomycin resistant *Enterococcus faecium* isolates in the United States and their susceptibility *in vitro* to dalfopristin-quinupristin.“ Antimic. Agents Chemoth. 37 (1993) 2119-2125.

13. Soerensen T.L., Blom M., Monnet D.I., Fridmodt Moeller N., Poulsen R.L., Espersen F.: „Transient intestinal carriage after ingestion of antibiotic resistant *Enterococcus faecium* from chicken and pork.“ N. Engl. J. Med. 345, 1161-1166.

14. Van-den Bogaard A.E., Willems R., London N., Top J., Stobberingh E.E.: „Antibiotic resistance of fecal *Enterococci* in poultry, farmers and poultry slaughters.“ J. Antimic. Chemoth. (2002) 497-505.

15. Gold H.S.: „Vancomycin resistant *Enterococci*: mechanisms and clinical observations.“ Clin. Infect. Dis. 33 (2001) 210-219.

16. Moeller A., Aarestrup F., Seyfarth A.M., Emborg H.D., Pedersen K., Hendriksen R.S., Bager F.: „Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal *Enterococci* from food animals in Denmark.“ Antimic. Agents Chemoth. 45 (2001) 2054-2059.

17. Bager F., Aarestrup F.M., Madsen M., Wegener : „Glycopeptide resistance in from broilers and pigs following discontinued use of Avoparcin.“ Microb. Drug Resist. 5 (1999) 53-56.

18. Witte W.: „Medical consequences of antibiotic use in agriculture.“ Science 279 (1998) 996-997.

19. Mellon M., Benbrook C., Benbrook K.L.: „Hogging it: estimates of antimicrobial abuse in livestock.“ Cambridge, Mass.: Union of Concerned Scientists. 2001.

20. Stephenson J.: „Researchers wrestle with spread and control of emerging infections.“ JAMA 287 (2002) 2061-2063.

21. Mead P.S., Slutsker L., Dietz V.: „Food related illness and death in the United States.“ Emerg. Inf. Dis. 5 (1999) 607-625.

22. Lederer M.: „Persönliche Mitteilungen des Landesgesundheitsamtes Erlangen.“ 2004.

23. Kamphues J.: „Erfahrungen in Schweden mit dem Verbot antimikrobiell wirksamer Leistungsförderer als Futterzusatzstoffe.“ Der praktische Tierarzt. 79, 2 (1998) 174-175.

24. Shoemaker N.B., Vlamakis H., Hayes K., Salyers A.A.: „Evidence for extensive resistance gene transfer among *Bacteroides* and other genera in the human colon.“ Appl. Envir. on Microbiol. 67 (2001) 561-568.

25. Awad-Masalmeh M.: „Untersuchungen an enteropathogenen *E. coli* des Ferkels – Serologie und Chemolumineszenz.“ Wien Tierärztl. Mschr. 69 (1982) 358-364.

26. Dozois C.M., Dsaigle F., Curtiss R.: „Identification of pathogen specific and conserved genes expressed *in vivo* by an avian pathogenic *Escherichia coli* strain.“ Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 100 (2003) 247-252.

27. Barber D., Miller G., McNamara P.: „Resistant bacteria in retail meats and antimicrobial use in animals.“ New Engl. J. Med. 346 (2002) 777.

28. Aarestrup F.M.: „Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals.“ Int. J. Antimic. Agents q12 (1999) 2774-2777.

29. Aarestrup F.M.: „Occurrence, selection and spread of resistance to antimicrobial agents used for growth promotion in Denmark.“ APMIS 108 (2000) 3-48.

30. Bager F., Madsen J., Aarestrup Christensen F.M.: „Avoparcin used as a growth promoter is associated with the occurrence of Vancomycin resistant *Enterococcus faecium* on Danish poultry and pig farms.“ Prev. Vet. Med. 31 (1997) 95-112.

31. Donovan D.C., Franklin S.T., Chase C.C., Hippen A.R.: „Growth and health of Holstein calves fed milk replacers supplemented with antibiotics or Enteroguard.“ J. Dairy Sci. 85 (2002) 947-950.

32. Quigley J.D., Koist C.J., Wolfe T.A.: „Effects of spray dried animal plasma in milk replacers of additives containing serum and oligosaccharides on growth and health of calves.“ J. Dairy Sci. 85 (2002) 413-421.

33. Humphrey B.D., Huang N., Klasing K.C.: „Rice expressing lactoferrin and lysozyme has antibiotic like properties when fed to chicks.“ J. Nutr. 132 (2002) 1214-1218.

34. Selsted M.E., Miller S.I., Henschen A.H., Quелlette A.J.: „Enteric defensins: antibiotic peptide components of intestinal host defense.“ J. Cell Biol. 118 (1992) 929-936.

35. Awad-Masalmeh M., Sagmeister H., Willinger H.: „Untersuchungen zur Immunprophylaxe der

Colidiarrhoe des Absatzferkels.“ ZBL Vet. Med. 32 (1985) 751-758.

36. Nitsch P., Zitterl-Eglseer K., Köhler B., Gabler C., Losa R., Zimpernik I.: „The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestine of broiler chickens.“ Poultry sci. 83 (2004) 669-675.

37. Cravioto A., Gross R.J., Scotland S.M., Ropwe B.: „An adhesive factor found in strains of *Escherichia coli* belonging to the traditional infantile enteropathic serotypes.“ Curr. Microbiol. 3 (1997) 95-99.

38 Ofek I., Sharon N.: „Adhesins as lectins: specificity and role in infection.“ Curr. Top Microbiol. and Immunol. 150 (1990) 91-114.

39. Zopf D., Roth S.: „Oligosaccharides as anti-infective agents.“ Lancet 347 (1996) 1017-1021.

40. Yamamoto T., Endo S., Yokozta T., Eccheveria P.: „Characteristics of adherence of enteroaggregative *Escherichia coli* to human and animal mucosa.“ Infect Immun. 59(1991) 3722-3739.

41. Sack R.B.: „Enterotoxigenic *Escherichia coli*: identification and characterization.“ J. Infect. Dis. 142 (1980) 279-286.

42. Donneberg M.S.: „Interaction between enteropatogenic *Escherichia coli* and epithelial cells.“ Clin. Infect. Dis. 28 (1999) 451-455.

43. Guggenbichler S.: „Experimentelle Untersuchung der Adhärenz und Blockierung der Adhärenz von pathogenen Mikroorganismen durch saure Galakturonide am humanen terminalen Ileum.“ Antibiotika Monitor 5/6/2004 selbe Zeitung

44. Kastner U., Glasl S., Follrich B., Guggenbichler J.P., Jurenitsch J.: „Saure Oligosaccharide als Wirkprinzip von wässrigen Zubereitungen aus der Karotte in der Prophylaxe und Therapie von gastrointestinalen Erkrankungen.“ Wiener Med. Wochenschr. 152 (2002) 379-381.

45. Moro E.: „Karottensuppe bei Ernährungsstörungen der Säuglinge.“ Münch. Med. Wochenschr. 31 (1908) 1637-1640.

46. Jugl M., Zitterl-Eglseer K., Beier T., Schilcher F., Gabler C., Schuh M., Kastner U., Guggenbichler J.P., Franz Ch.: „Experimentelle Feldstudie über den Einsatz von Karottenpektinen als Futterzusatzstoff zur Durchfallprophylaxe in der Ferkelaufzucht.“ Tierärztl. Praxis 29 (2001) 308-312.

47. Jugl-Chizzola M., Spergser J., Zitterl-Eglseer K., Gabler-Eduardo C., Schilcher F., Bucher A., Schuh M., Troxler J., Franz Ch.: „Untersuchungen zur Wirkung von Galakturoniden als Futtermittelzusatz im Vergleich zum Leistungsförderer Flavophospholipol und einer Kontrollgruppe bei Absatzferkeln.“ Tierärztl. Praxis 32 (2004) 147-154.

48. Pichler H.P., Follrich B., Thannesberger O., Schwarz E., Guggenbichler J.P.: „Behandlung von lokalen und septischen Komplikationen in einer Legehühnerbatterie mit Oligogalakturoniden.“ Eigene unpublizierte Beobachtungen 2002.

49. Guggenbichler J.P., Schubert, unpubl. Beobachtungen 2000.

50. World Health Organization: „WHO Global strategy for the containment of antimicrobial resistance.“ Geneva, Switzerland. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.2

51. Wegener H.: „Ending the use of antimicrobial growth promotors is making a difference.“ ASM News 69 (2003) 443-48.

#### **Anschrift des Verfassers:**

Univ.-Prof. Dr. J. Peter Guggenbichler  
Klinik mit Poliklinik der Universität Erlangen-Nürnberg  
D-91054 Erlangen, Loschgestraße 15

E-Mail: [prof.guggenbichler@gmx.de](mailto:prof.guggenbichler@gmx.de)

[zurück zum Inhalt](#)

---

# Entwicklung eines neuen keramischen Port-Kathetersystems mit antimikrobiellen Eigenschaften und einer verbesserten Kammergeometrie

---

M. Guggenbichler

Lehrstuhl für Feingerätebau und Mikrotechnik, TU München  
(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. J. Heinzl)

---

- **Schlüsselwörter**
  - **Zusammenfassung**
  - **Key-words**
  - **Summary**
  - **Einleitung**
  - **Material und Methoden**
  - **Ergebnisse und Diskussion**
  - **Literatur**
- 

## **Schlüsselwörter:**

Antimikrobielle Keramik, Schlicker, Port-Katheter, Titanoxid, TiO<sub>2</sub>, Aluminiumoxid, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, strömungstechnische Optimierung, Silber, Ag, Silberionen

## **Zusammenfassung**

Es wird ein antimikrobiell wirksamer, strömungstechnisch optimierter, keramischer Port-Katheter vorgestellt. Ausgehend von einer grundlegenden Klärung der Probleme eines Portkatheters werden Lösungsansätze zur Optimierung dieses Systems aufgezeigt. Es wird eine antimikrobiell wirksame Keramik aus Aluminium- und Titanoxid entwickelt und deren Wirksamkeit nachgewiesen. Die konstruktiven Änderungen beinhalten eine strömungstechnische Optimierung der Portkammer sowie eine Optimierung der äußeren Geometrie, welche den konstruktiven Anforderungen von Keramik angepasst ist. Auf Basis dieser Ergebnisse werden Prototypen von optimierten keramischen Port-Kathetern hergestellt.

## **Key-words:**

Antimicrobial ceramic, slurry, port catheter, titanium oxide, TiO<sub>2</sub>, aluminum oxide, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, fluid mechanical optimization, silver, Ag, silver ions

## **Summary**

An antimicrobial active, fluid mechanical optimized, ceramic port catheter is developed and introduced. Methods for optimization are shown basing on a fundamental review of the clinical problems of a port catheter. An antimicrobial titan oxide and aluminum oxide ceramic is being developed and activity is being verified. Changes in the construction contain an optimization basing on fluid mechanical considerations as well as adaption of the outer shell, so that the whole construction is adapted to the constructive needs of ceramic components. Basing on these results prototypes of an optimized ceramic port catheter are produced.

---

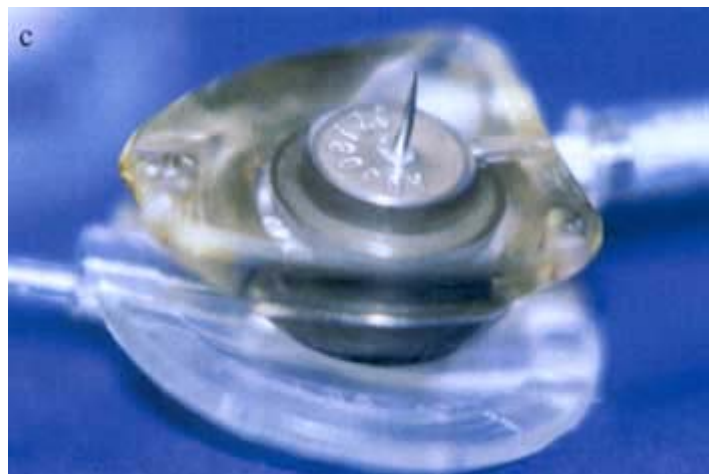
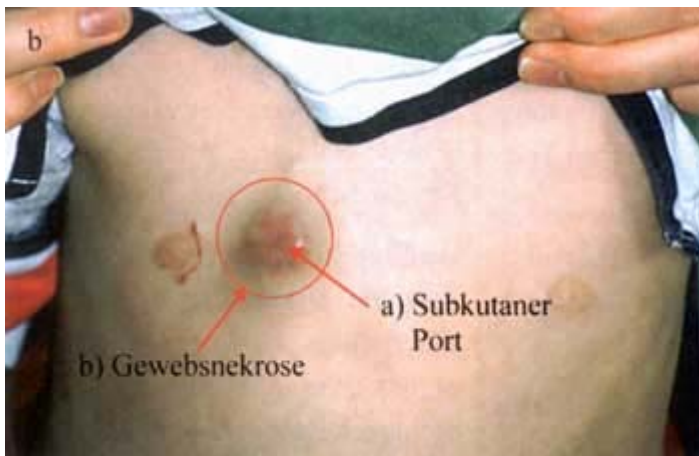
## Einleitung

Port-Kathetersysteme führen in der Tumorthherapie zu einer erheblichen Verbesserung der therapeutischen Möglichkeiten und der Lebensqualität der Patienten. Sie weisen jedoch im klinischen Gebrauch erhebliche Probleme, wie Infektionen, Verstopfung durch Blutkoagel oder mechanische, materialeitige Komplikationen (u.a. Portkammerbrüche) auf. Die Gesamtkomplikationsrate wird mit 21,26% [1] bis 44,6% [2] in der Literatur angegeben. Die klinischen Erfahrungen zeigen, dass Katheter-assoziierte Blutstrominfektionen (BSI) mit 6% [3] bis 24,1% [2] die größte Gruppe der Komplikationen darstellen. Zudem bestehen Probleme durch Okklusion des Systems (4 [3]-7,2% [1, 2] vgl. Abbildung 1a), Port-Katheterbrüche [4] und -durchstiche (vgl. Abbildung 1c) sowie Belastungen der darüber liegenden Hautschichten durch die Formgebung (vgl. Abb. 1b).

**Abbildung 1a:** Teilweise infizierte Thromben in einem explantierten Port-Katheter (a)



**Abbildung 1b, 1c:** Katheter-assoziierte Hautnekrose im Thoraxbereich (b) und durchstochener Titanport (c)

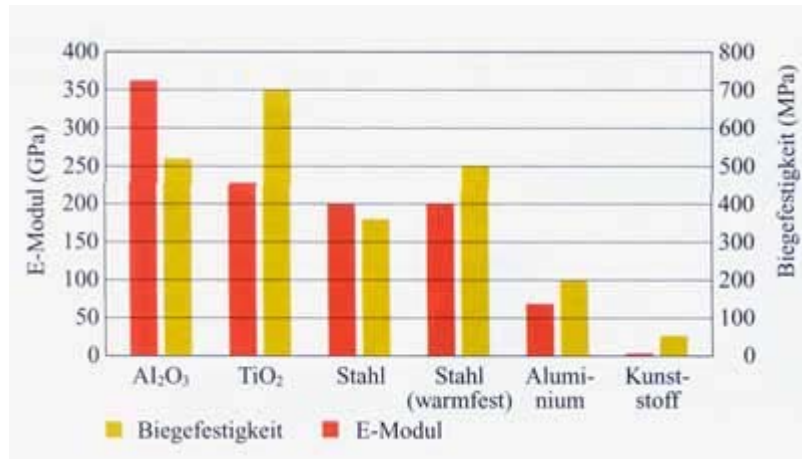


## Material und Methoden

Bisher wurden zur Fertigung von Port-Kathetern vor allem Kunststoffe oder kunststoffummanteltes Reintitan eingesetzt. Die Konstruktionen aus Reintitan bieten zwar eine hohe mechanische Festigkeit, führen jedoch zu starken Störungen bei bildgebenden Verfahren wie Computertomographie oder

Magnetresonanztomographie. Zudem kann Reintitan nicht antimikrobiell ausgestattet werden. Kunststoffe wiederum zeigen diese Probleme nicht, besitzen dafür deutlich schlechtere mechanische Eigenschaften, wodurch sich Probleme in der Langzeit-Belastbarkeit ergeben (vgl. Abbildung 2).

**Abbildung 2:** Vergleich der mechanischen Eigenschaften von in der Medizintechnik typischerweise eingesetzten Werkstoffen



Eine Alternative hierzu stellen keramische Werkstoffe dar.

Die Vorteile sind

- günstige mechanische Eigenschaften (Festigkeit),
- gute Bio- und Hämkompatibilität bei vernachlässigbarer Zytotoxizität und Thrombogenität,
- keine Artefakte in der Bildgebung,
- antimikrobielle Ausstattungbarkeit.

Insbesondere die vollständige antimikrobielle Ausstattung ist angesichts der hohen infektionsbedingten Komplikationsraten anzustreben. Die antimikrobielle Ausstattung mit Antibiotika oder Desinfektionsmittel ist technisch nicht durchführbar und aus funktionellen Gründen nicht zielführend. Als Alternative bietet sich die Beimengung nanoskaliger Silberpartikel an. In dieser Arbeit wird ein antimikrobiell ausgestattetes Port-Kathetersystem aus einem keramischen Werkstoff entwickelt. Die antimikrobielle Ausstattung erfolgte durch Beimengung aktivierter nanoskaliger Silberpartikel. Die Konstruktion wurde an die Anforderungen durch die Verwendung von Keramik angepasst und im Hinblick auf die Bauteilgeometrie optimiert.

Als keramische Werkstoffe wurden das vielfältig eingesetzte Aluminiumoxid (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) und, wegen seiner nachgewiesenen Bioverträglichkeit, Titanoxid (TiO<sub>2</sub>) untersucht [5]. Aus den pulverförmigen Ausgangsmaterialien wurden Probekörper über keramischen Schlickerguss hergestellt. Dabei war es notwendig, zusätzlich zu der etablierten Aluminiumoxid-Gießmasse auch einen gießfähigen Titanoxidschlicker zu entwickeln. In einem nächsten Schritt wurden die Werkstoffe durch Zugabe von nanosilberhaltigem keramischem Pulver antimikrobiell ausgestattet. Die wichtigsten Eigenschaften der Schlicker, wie Dispergierung, Viskosität und Scherbenbildung, und der daraus hergestellten Grün- und Sinterkörper (z.B. Dichte, Wasseraufnahme, Charakterisierung der Nanosilberpartikel) wurden bestimmt. Des Weiteren erfolgte die antimikrobielle Wirksamkeitsprüfung sowohl an undotierten als auch an nanosilberhaltigen Probekörpern. Der Nachweis der antimikrobiellen Wirksamkeit wurde mittels der Flask-Shake-Methode [6] (Keimkonzentration 10<sup>7</sup> und 10<sup>8</sup> CFU/ml) sowie der Roll-On-Culture (Keimkonzentration 10<sup>9</sup> CFU/ml) durchgeführt [7].

Zusätzlich wurde die Bauteilgeometrie den klinischen Anforderungen angepasst und mittels Finite-Elemente-Methode berechnet [8]. Aus den erhaltenen Daten wurde zunächst über ein „Rapid-

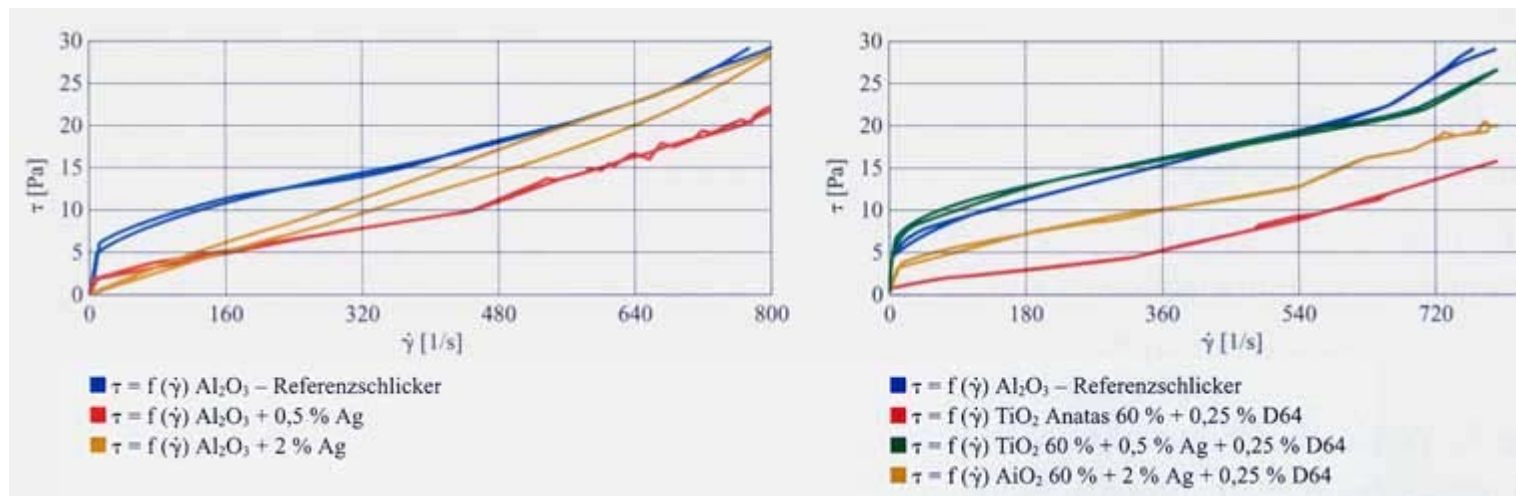
Prototyping“-Verfahren eine Gießform und damit ein Prototyp eines optimierten keramischen Port-Katheters hergestellt.

## Ergebnisse und Diskussion

Bei der Herstellung eines geeigneten Titanoxid-Schlickers als Vorstufe der Keramikherstellung zeigte sich, dass sich mit den verwendeten Dispergatoren nur die Anatas-Phase des Titanoxids zu einem gießfähigen Schlicker verarbeiten ließ. Von den verwendeten Dispergatoren konnte nur mit der Carbonsäurezubereitung eine optimale Dispersion hergestellt werden, welche jedoch ein stark zeitabhängiges Verhalten aufweist. Für eine geeignete Keramik konnten Titanoxid-Gießmassen mit einem maximalen Feststoffgehalt von 60 Gew.% dispergiert werden. Diese Schlicker wiesen eine ähnlich gute Verarbeitbarkeit wie der bereits etablierte Aluminiumoxid-Standardschlicker auf.

Die Ergebnisse der Herstellung reiner Keramikschlicker konnten auf nanosilberhaltige Schlicker übertragen werden. Wie in Abbildung 3 belegt, beeinträchtigt das Einbringen nanoskaliger Silberpartikel die physikalischen Eigenschaften der Keramik-Ausgangssubstanz (Schlicker) nicht. Es konnten bei nanosilberhaltigen Schlickern sowohl vergleichbar gute Dispergierungsgrade als auch gute Werte bezüglich Viskosität und Scherbenbildungsrate erreicht werden (vgl. Abbildung 3). Die Dichte der Grünkörper lag bei allen Proben im Bereich von ca. 58-60% th.D. (Aluminiumoxid: 3,97 g/cm<sup>3</sup> th.D. [9]; Titanoxid: 3,8 g/cm<sup>3</sup> th.D. [10]).

**Abbildung 3:** Rheologie silberhaltiger Keramikschlicker aus Aluminiumoxid- (links) und Titanoxidkeramik (rechts)



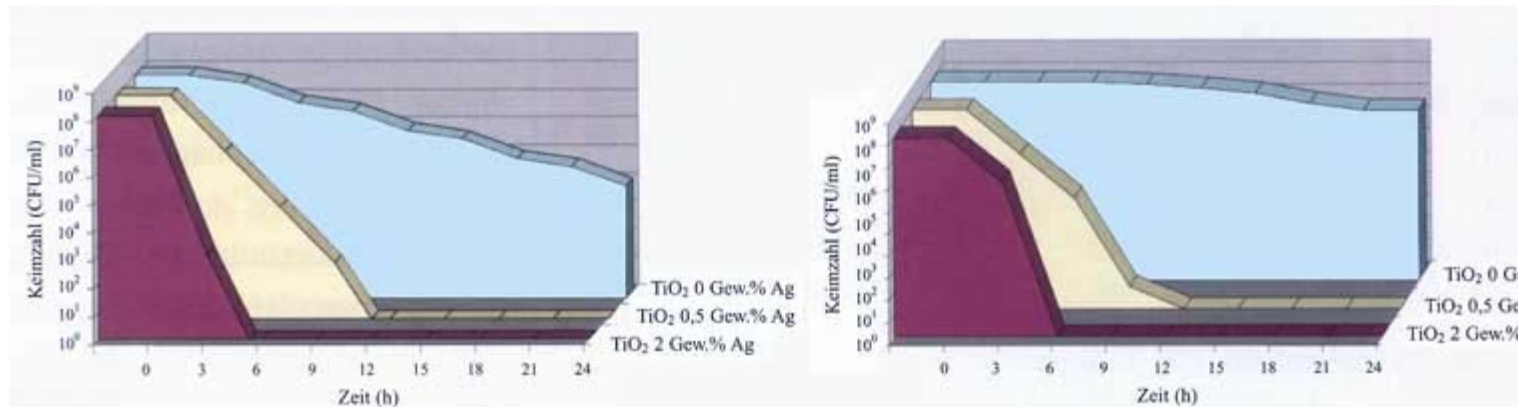
Mit den Grünkörpern aus dem reinen Grundmaterial ( $\text{Al}_2\text{O}_3$  und  $\text{TiO}_2$ ) konnten Sinterkörper mit einer theoretischen Dichte von annähernd 100% hergestellt werden. Die gewählten Probekörper (Zylinder  $d=10$  mm,  $h=10$  mm) zeigten einen Sinterschwund von ca. 16% bei  $\text{Al}_2\text{O}_3$  und 14,2% bei  $\text{TiO}_2$ . Darüber hinaus zeigte sich beim Sinterprozess keine Deformation der Probekörper.

Die nanosilberhaltigen Aluminiumoxidproben erreichten beim Sinterprozess (abhängig von der maximalen Sintertemperatur) nur 61-76% th.D. Im Gegensatz zum Aluminiumoxid zeigten nanosilberhaltige Titanoxidproben sintertemperaturabhängig eine Dichte von 79-97% theoretischer Dichte (th. D.). Insbesondere bei den Proben mit einer Sintertemperatur von 1.450°C (97% th.D.) kann jedoch nur bei Titanoxid von ausreichenden mechanischen Eigenschaften für eine Bauteilherstellung ausgegangen werden.

Es wurden Proben aus Titanoxidkeramik mit unterschiedlichem Silbergehalt und unterschiedlicher Sintertertemperatur in Reihenuntersuchungen auf antimikrobielle Wirksamkeit getestet.

Nanosilberhaltiges Titanoxid zeichnete sich vor allem bei einer Silberkonzentration von 2 Gew.% durch eine sehr gute antimikrobielle Wirksamkeit aus (vgl. Abbildung 4). Bei dieser Silberkonzentration konnte das ursprünglich eingebrachte Keiminokulum bereits innerhalb von 6 Stunden eradiziert werden.

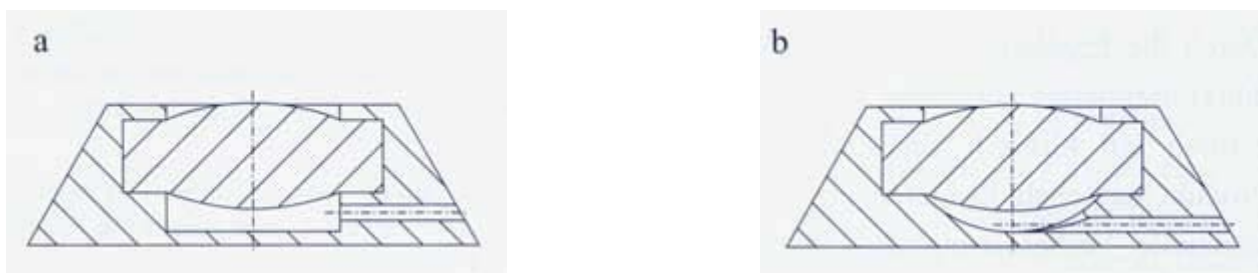
**Abbildung 4:** Antimikrobielle Wirksamkeit von Titanoxidkeramik mit unterschiedlichem Anteil an Nanosilberpartikeln. Das Material zeigt sowohl bei der Flask-Shake-Methode mit *Pseudomonas aeruginosa* (links) als auch bei der Roll-On-Culture (rechts) bereits mit 0,5 Gew.% Ag eine sehr gute antimikrobielle Wirksamkeit.



Zusammenfassend kann man aus den Untersuchungen ableiten, dass sich nanosilberhaltiges Titanoxid zur Herstellung eines antimikrobiell wirksamen Portsystems sehr gut eignet und als einziger keramischer Werkstoff zur Verfügung steht.

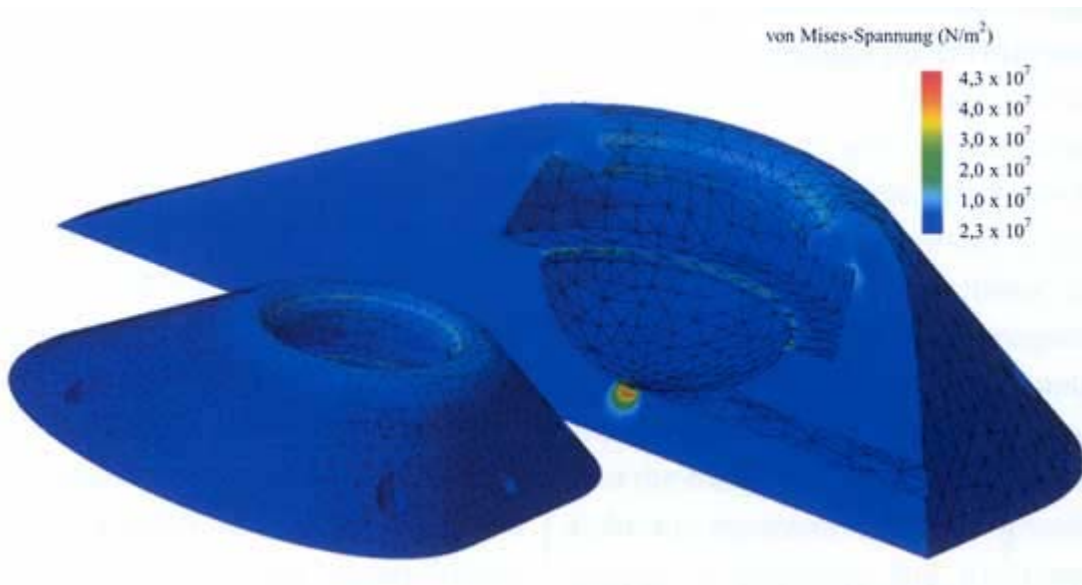
Neben der Werkstoffoptimierung war es notwendig, die im klinischen Alltag auftretenden Probleme durch konstruktive Lösungen zu vermeiden. Infolgedessen wurde die Portkammer auf Grund von strömungstechnischen Überlegungen optimiert. Dies betrifft sowohl die Form der Kammer als auch den sehr wichtigen Übergang zwischen Portkammer und Schlauchanschluss (Abbildung 5a, b).

**Abbildung 5a, b:** a) zeigt die bisherige, b) die neu entwickelte Kammergeometrie mit verbesserter Verwirbelung der zugeführten Medikamente. Durch die verbesserte Formgebung werden Anlagerungen von Blut und Blutprodukten und damit die Thrombenbildung vermieden.

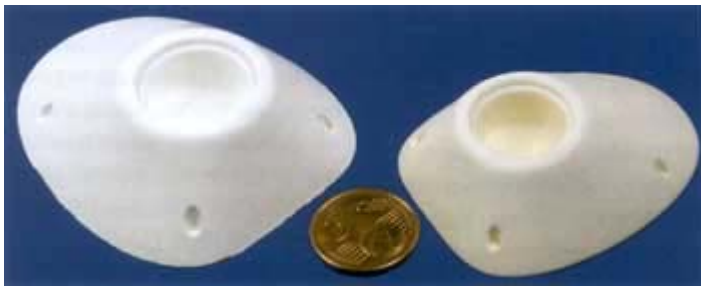


Im Zuge der Neukonstruktion der Kammergeometrie wurde auch die äußere Form angepasst und optimiert. Die Optimierung der äußeren Formgebung erfolgte in interdisziplinärer Zusammenarbeit mit Ärzten unterschiedlicher Fachrichtungen. Die neue Kammergeometrie zeichnet sich durch strömungstechnische Verbesserungen aus. Die Konstruktion wurde mit einer angenommenen Belastung von 10 bar Innendruck und 100 N Belastung beim Punktieren des Ports mit Hilfe der Finite-Elemente-Methode berechnet und optimiert (vgl. Abbildung 6). Dabei ergab sich, dass die in einem ersten Ansatz berechnete Konstruktion in ihrer Bauhöhe weiter reduziert werden kann. Dies bringt eine Gewichts- und Materialersparnis mit sich.

**Abbildung 6:** FEM-Berechnung des optimierten Port-Katheters. Lastannahme: 10 bar Innendruck und 100 N eingebrachte Kraft beim Punktieren des Portes



**Abbildung 7:** Prototyp eines keramischen Port-Katheters. Links ungesintert, rechts gesintert (TSinter=1.650°C)



Aufbauend auf den Ergebnissen der material- und verfahrenstechnischen Untersuchungen gelang es, einen Prototyp aus Keramik herzustellen, der die der Arbeit zugrunde liegenden Thesen bestätigt (vgl. Abbildung 7). Das Ergebnis dieser anwendungsnahen Forschung ist die Herstellung eines in einer klinischen Prüfung einsetzbaren Produktes.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde bestätigt, dass eine Optimierung marktüblicher Portsysteme notwendig und realisierbar ist.

Durch die Ergebnisse dieser anwendungsorientierten Forschung lässt sich zeitnah ein klinisch verwendbares Produkt herstellen. Es bietet eine substantielle Verbesserung des Status quo hinsichtlich Handhabbarkeit und Komplikations- beziehungsweise Infektionsraten. Patienten, Ärzte und letztlich das Gesundheitssystem werden von diesen Verbesserungen erheblich profitieren können.

## Literatur:

1. Hartkamp A., van Boxtel A., Zonnenberg B., Witteveen P.: „Totally implantable venous access devices: evaluation of complications and a prospective comparative study of two different port systems.“ *Neth. J. Med.* 57 (2000) 215-223.
2. Koolen D.A., van Laarhoven H.W.M., Wobbes T., Punt C.J.A.: „Single-centre experience with tunnelled central venous catheters in 150 cancer patients.“ *The Neth. J. Med.* 60 (2002) 397-401.

3. Wildhaber B., Kistler W., Catfish U.: „Erfahrungen mit dem Port-A-Cath.-System bei Kindern.“ Schweiz. Med. Wochenschr. 130 (2000) 732-738.
4. Leinung S., Würfl P., Anders K., Deckert F., Schönfelder M.: „Portkatheterbrüche bei 361 implantierten Portsyste men.“ Chirur g. 73 (2002) 696-699.
5. Kasemo B.: „Biocompatibility of titanium implants: surface science aspects.“ J. Prostet. Dent. 49 (1983) 832-837.
6. Moon W.-S., Chung K.-H., Seol D.J., Park E.-S., Shim J.-H., Kim M.-N., Yoon J.-S.: „Antimicrobial effect of monomers and polymers with azole moieties.“ Int. J. Appl. Polym. Sci. 90 (2003) 2933-2937.
7. Maki D.G., Weise C.E., Sarafin H.W.: „A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection.“ New Engl. J. Med. 296 (1977) 1305-1309.
8. Steinke P.: „Finite-Elemente-Methode.“ Springer Verlag Berlin (2004).
9. Lide D.L.: „CRC Handbook of Chemistry and Physics.“ CRC Press Int. New York 38 No. 40, 3.1 (1995).
10. Holleman A.F., Wiberg E.: „Lehrbuch der Anorganischen Chemie.“ Walter de Gruyter Verlag, Berlin, Auflage 101 (1995).

**Anschrift des Verfassers:**

Dipl.-Ing. Meinrad Guggenbichler  
D-80799 München, Türkenstraße 38

E-Mail: [m.guggenbichler@web.de](mailto:m.guggenbichler@web.de)

[zurück zum Inhalt](#)

---

# Das häufig kranke Kind – Störung der Mukosa-Immunität als Ursache rezidivierender Infektionen und Möglichkeiten der Intervention

---

*J.P. Guggenbichler  
Univ.-Klinik für Kinder und Jugendliche der Universität Erlangen/Nürnberg  
(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. W. Rascher)*

---

- **Schlüsselwörter**
  - **Zusammenfassung**
  - **Key-words**
  - **Summary**
  - **Einleitung**
  - **Definition rezidivierender Infekte**
  - **Pathogenese rezidivierender Infektionen und Abwehrmechanismen des Körpers**
  - **Diagnostik**
  - **Möglichkeiten der Intervention**
  - **Experimentelle und klinische Untersuchung der Mukosa-Immunität**
  - **Diskussion**
  - **Ausblick**
  - **Literatur**
- 

## **Schlüsselwörter:**

Rezidivierende Infekte, inadäquate Erstbehandlung, Defekte der spezifischen körpereigenen Abwehr, anatomische und funktionelle Störungen, Mukosa-Immunität, Bakterienlysate

## **Zusammenfassung**

Rezidivierende Infektionen im Kindesalter stellen ein besonderes Problem dar. Defekte der spezifischen körpereigenen Abwehr, d.h. Antikörpermangel und T-Zelldefekte sind ein seltenes Ereignis. Viel häufiger ist eine inadäquate Erstbehandlung die Ursache, wobei nicht nur die Wahl des Antibiotikums, sondern auch Tagesdosis, Dosierungsintervalle, Therapiedauer und die unterstützende Behandlung den Ausschlag geben. Anatomische und funktionelle Störungen spielen zusätzlich eine wesentliche Rolle. Neue theoretische Einsichten bezüglich der Mukosa-Immunität lassen die Ätiologie, Pathogenese und die Behandlungsmöglichkeiten rezidivierender Infekte in einem neuen Licht erscheinen. Bei der Abklärung kann man aus einer sorgfältigen Anamnese bereits wertvolle Hinweise bezüglich der Ätiologie erhalten. Durch eine adäquate Erstbehandlung einschließlich der unterstützenden Therapie kann eine Reihe von rezidivierenden Infektionen verhindert werden. Die Untersuchung auf anatomische und funktionelle Störungen der unspezifischen Abwehr (Adenoidhyperplasie, Septumdeviation, Ziliendysfunktion) ist ein wesentlicher Baustein der Abklärung. Zuletzt ist es nötig, Defekten der Mukosa-Immunität eine entsprechende Bedeutung bei rezidivierenden Infektionen vor allem bei monotopen Infektionen in einem Organsystem zuzumessen bzw. diese zu definieren.

In einer klinischen Beobachtung wurde bei 23 Patienten mit rezidivierenden Infekten das  $\beta$ -Defensin in Wangenschleimhautepithelzellen bestimmt. Bei 19 der 23 Patienten wurde eine Verminderung der  $\beta$ -Defensin-Bildung um mindestens >25% des Kontrollwertes

gefunden. Die Verabreichung von Bakterienlysaten (Bronchovaxom®) ergab eine Besserung bis Normalisierung der  $\beta$ -Defensin-Bildung sowie eine deutliche klinische Besserung bei 16 Patienten.

Die neuen Erkenntnisse auf der Basis der theoretischen Grundlagenforschung können nicht nur zu einem besseren Verständnis der Pathogenese rezidivierender Infektionen, sondern auch zu interessanten und viel versprechenden neuen therapeutischen Ansätzen bei dringenden klinischen Problemen führen. Auf Grund dieser neuen Erkenntnisse kann man sich vorstellen, dass Bakterienlysate auf verschiedenen Ebenen der körpereigenen Abwehr eingreifen können. In prospektiven randomisierten klinischen Studien ist dieses nun unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Pathomechanismen zu beweisen.

**Key-words:**

Recurrent infections, defects of specific host defense mechanisms, impairment of nonspecific host defense, anatomic and functional disturbances of host defense, mucosal immunity, bacterial lysates

**Summary**

Recurrent infections in infants and children pose a special problem. Impairment of specific defense mechanisms i.e. a defect in humoral and cellular immunity is a rare event. In the majority of patients with recurrent infections particularly in one organ system an inadequate initial therapy is responsible. This is not limited to the choice of the appropriate antibiotic but more in the correct total daily dose, mode of administration, dosing interval and duration of therapy. Anatomic and functional disturbances leading to impairment of nonspecific host defense mechanisms are also responsible as well as an inadequate supportive therapy. The results of recent investigative work regarding mucosal „innate“ immunity give an additional new insight on recurrent infections in children. The clinical workup of patients with recurrent infections includes a careful history. Adequate initial antimicrobial therapy and optimum supportive care are able to prevent the transition of an infection into a chronic recurrent infection. Investigations of anatomic and functional disturbances are mandatory. Also the investigation of the mucosal immunity has to be performed and abnormal results can be expected particularly in patients with recurrent infections in the same organ system.

In a clinical survey of 23 patients with recurrent infection a  $\beta$ -defensin production of less than 25% of the control values was observed in 19. Bacterial lysates (Bronchovaxom®) were administered once daily for 30 days to these patients. In 14 of them an increase (>40%) of  $\beta$ -defensin formation was observed concomitant with a substantial clinical improvement. This was determined by a decrease in severity, duration and frequency of infections.

The newly gained insight from theoretical investigations provide not only a better understanding of the pathophysiology of recurrent infections but also enables us to initiate a curative therapy. The administration of bacterial lysates orally or locally influence the body's own defense mechanisms on different levels. Prospective randomised studies are necessary to define the role of the mucosal immunity in children with recurrent infections and clarify their therapeutic value.

---

**Einleitung**

Rezidivierende Infektionen der oberen und unteren Luftwege stellen bei Säuglingen und

Kleinkindern ein großes Problem dar. Rezidivierende Mittelohrentzündungen werden nach einer ersten Otitis media und persistierendem Tuben-Paukenhöhlenkatarrh bei ca. 8-12% aller Patienten beobachtet. Dies macht wiederholte orale oder intravenöse Antibiotikagaben, eine Adenotomie, Parazentese und/oder Paukenröhrchen nötig. Zudem kommt es durch eine Schalleitungsstörung zu Hörstörungen und durch die eingeschränkte Hörleistung zu einer psychosozialen Entwicklungsverzögerung mit abnormem Sozialverhalten und Stigmatisierung [1].

Ein Rezidiv einer akuten Sinusitis führt zu chronischen Kopfschmerzen, durch mangelnden Appetit zu Gedeihstörung und Gewichtsabnahme, verminderter körperlicher Leistungsfähigkeit und Konzentrationsschwäche. Zudem werden bei einer chronischen Sinusitis häufig akute Exazerbationen mit akuten Krankheitssymptomen beobachtet [2].

Rezidivierende Infektionen der tiefen Atemwege bergen ein potenzielles Risiko für Komplikationen wie eine Störung der Lungenfunktion und die Entwicklung von Bronchiektasien, eine chronisch obstruktive Lungenerkrankung und Asthma Bronchiale [3].

Rezidivierende Harnwegsinfektionen können nach Jahren zu Nierennarben, Hypertonie, zur Einschränkung der Nierenfunktion und bei Frauen zu Komplikationen während der Schwangerschaft und Frühgeburt führen [4].

Häufige Infekte bedingen auch wiederholte Krankenhausaufenthalte mit Fehlzeiten in der Schule und erheblichen psychosozialen Problemen.

## **Definition rezidivierender Infekte**

Von einem häufig kranken Kind spricht man, wenn im Alter zwischen 1 und 5 Jahren mehr als 6 – manche Autoren sprechen von 8 – Infektionen pro Jahr auftreten. Dabei ist es von Bedeutung, zwischen protrahierten Krankheitsbildern, bei denen zwischen den einzelnen Exazerbationen keine völlige klinische Heilung erzielt werden konnte, von Rezidiven im gleichen Organsystem sowie von rezidivierenden Infekten in verschiedenen Organsystemen zu unterscheiden, wobei die Kinder zwischen den einzelnen Krankheitsepisoden für Tage bis Wochen völlig gesund sind [5].

Sozioökonomische Faktoren wie die Zahl und das Alter der Geschwister, die Größe und Beschaffenheit der Wohnverhältnisse, Rauchen der Eltern sind bezüglich der Häufigkeit der Infektionen zu berücksichtigen. Entsprechend diesen anamnestischen Daten und einer sorgfältigen klinischen Untersuchung ist es möglich, einen guten Hinweis auf die Ätiologie und eine mögliche kausale Therapie und Prävention ins Auge zu fassen.

## **Pathogenese rezidivierender Infektionen und Abwehrmechanismen des Körpers**

### **Defekte der spezifischen körpereigenen Abwehr**

Es gibt eine Reihe von Ursachen für rezidivierende Infektionen: Defekte der spezifischen körpereigenen Abwehr wie ein Antikörpermangel einschließlich eines selektiven IgA-Mangels oder eines IgG-Subklassendefektes, die vordergründig häufig für rezidivierende Infektionen verantwortlich gemacht werden, spielen mit <2% eine untergeordnete Rolle

und sind meist bereits klinisch durch eine typische Symptomenkonstellation erkennbar. Von noch geringerer Bedeutung sind Defekte des Phagozytose- oder Komplement-Systems. Meist manifestiert sich eine angeborene Störung der spezifischen körpereigenen Abwehr bereits im Alter von 6-9 Monaten bei Abnahme der mütterlichen Antikörper durch Infekte in verschiedenen Organsystemen, unüblich langdauernde Infekte durch Mikroorganismen, die man bei dem betreffenden Krankheitsbild normalerweise nicht als Infektionserreger beobachtet. Hautaffektionen, kalte Abszesse, vor allem aber chronische Durchfallerkrankungen und eine Gedeihstörung sind typische Zeichen für einen Defekt der spezifischen körpereigenen Abwehr [6].

### **Defekte der unspezifischen körpereigenen Abwehr**

Eine entscheidende Bedeutung in der Pathogenese rezidivierender Infekte kommt der lokalen Abwehr an Epitheloberflächen zu. Die mukoziliäre Clearance stellt die erste Front gegen das Eindringen von Krankheitserregern in den Körper dar und wird im Vorfeld durch das Sekretions-IgA unterstützt [7]. Wichtig ist eine korrekte Viskosität der Schleimschicht auf Epithelzellen, wobei bereits die Abnahme des Flüssigkeitspools bei verminderter Flüssigkeitszufuhr eine vermehrte Perspiratio insensibilis bei Fieber und geringer Luftfeuchtigkeit der Raumluft zu einer erheblichen Änderung der Viskosität der Mucinschicht der Schleimhäute und einer Funktionseinbuße der normalen Klärfunktion der Mukosa führen kann. Rauchen bzw. Mitrauchen bei Säuglingen und Kleinkindern lähmt die Zilienfunktion für mehrere Stunden. Hier machen sich Summationseffekte deutlich bemerkbar, so dass eine Vielzahl scheinbar unbedeutender Defizite letztlich den kritischen Wert übersteigt.

Die Störung der unspezifischen Abwehr, insbesondere der mukoziliären Clearance, besitzt einen hohen Stellenwert in der Pathogenese rezidivierender Infekte der Luftwege. Sie besteht in anatomischen Besonderheiten, die einen regulären Sekretfluss und eine normale Belüftung der Schleimhäute behindern, und in einer Lähmung der Zilienfunktion im Rahmen von rezidivierenden Virusinfektionen. Hierzu zählt auch eine gesteigerte oder verminderte Viskosität der Schleimschicht. Untersuchungen bei rezidivierenden Harnwegsinfektionen zeigten, dass eine fehlende restharnfreie Miktion zu rezidivierenden Harnwegsinfektionen führt. Gerade dieser ersten Abwehrlinie wird in der Literatur breiter Raum eingeräumt [8].

### **Inadäquate Ersttherapie**

Eine häufige Ursache rezidivierender Infekte ist eine inadäquate Behandlung des Erstinfektes, wobei es nicht nur auf die korrekte Wahl des Antibiotikums ankommt, sondern ebenso auf eine korrekte Tagesdosis, das Dosierungsintervall und die Therapiedauer. Andererseits kommt auch der unterstützenden Behandlung zur Verbesserung des Sekretflusses und Abschwellung der entzündeten Schleimhäute eine wesentliche Bedeutung zu.

### **Körpereigene stabile Flora**

Die Körperoberflächen des Menschen sind ständig einer mikrobiellen Besiedelung

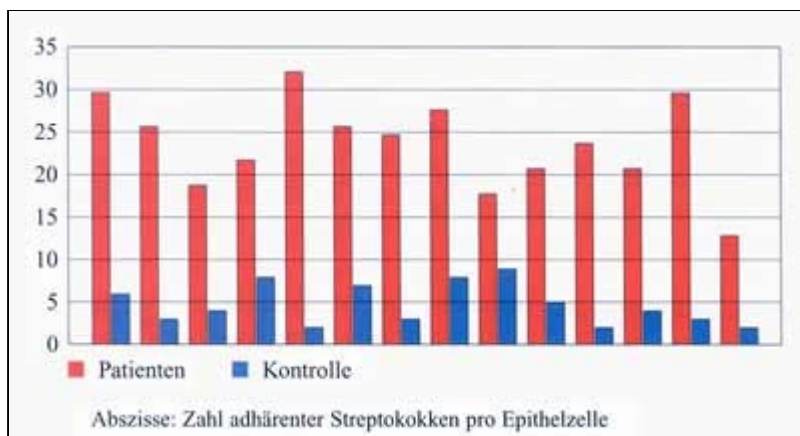
ausgesetzt, dennoch sind normalerweise Infektionen der gesunden Haut bzw. Schleimhäute selten. Es handelt sich bei dieser „normalen Flora“ um apathogene oder fakultativ pathogene Mikroorganismen, die bei einer quantitativen Kultur der Nasenschleimhaut im Bereich von  $10^5$ - $10^7$  CFU/cm<sup>2</sup> liegen. Wenn man jedoch die Keimzahlen pro Epithelzelle betrachtet, finden sich 1 bis maximal 2 Mikroorganismen/Epithelzelle.

Ein vielfach unterschätzter Mechanismus der körpereigenen Abwehr ist eine stabile körpereigene Flora. Die normale Flora verhindert die Besiedelung mit obligat pathogenen Mikroorganismen. Eine Destabilisierung der normalen Flora durch Antibiotika ermöglicht es bereits einem kleinen Inokulum von pathogenen Mikroorganismen, die Schleimhäute zu besiedeln.

### Gesteigerte Adhärenz bakterieller Mikroorganismen

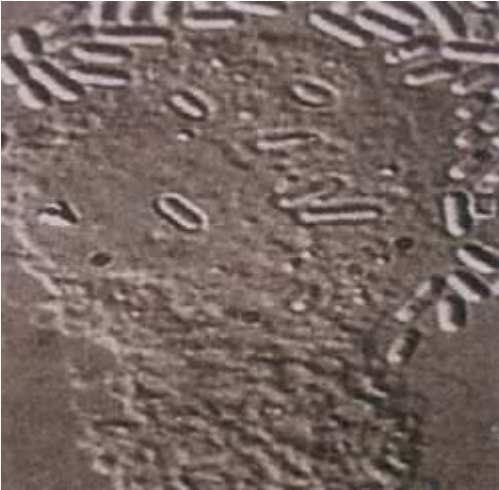
Ein wesentlicher Virulenzfaktor pathogener Mikroorganismen ist die Adhärenz an Epithelzellen. In zahlreichen Untersuchungen wurde beobachtet, dass nur Mikroorganismen, die gleichzeitig mit der Bildung von Toxinen auch die Schleimhäute besiedeln, zu einer Erkrankung führen. Mikroorganismen haften an speziellen Kohlehydratstrukturen von Epithelzellen. Die Besiedelbarkeit von Schleimhäuten und damit auch die Infekthäufigkeit hängt damit auch von der Rezeptordichte für bakterielle Mikroorganismen an Epithelzellen ab. So konnten wir beobachten, dass Patienten mit rezidivierenden Streptokokkeninfektionen der Tonsillen (>3 durch Kultur bewiesene Streptokokkeninfekte pro Jahr) eine um das 5fache höhere Zahl an adhärenen Streptokokken/Epithelzelle aufweisen als altersentsprechende Kontrollpatienten ohne rezidivierende Streptokokkeninfektionen (Abbildung 1) [9].

**Abbildung 1:** Adhärenz von Streptokokken an Wangenschleimhautepithelien: Unterschiede in der Zahl adhärenen Streptokokken zwischen Patienten mit > 3 kulturell bewiesenen Streptokokkenanginen/Jahr und nach Alter und Geschlecht identischen Kontrollpatienten.



Bei Patienten mit wiederholten Harnwegsinfektionen und normaler Urodynamik konnte beobachtet werden, dass eine 5-6fach höhere Adhärenz von Mikroorganismen an Uroepithelien des Morgenharns ( $29 \pm 5$  versus  $5 \pm 2$  Mikroorganismen pro Epithelzelle) nachzuweisen war als bei Patienten ohne häufige Rezidive. Auch der Besiedelung mit einem besonders adhärenen „p“-Fimbrien-tragenden „uropathogenen“ *E. coli*-Stamm kommt für rezidivierende Infektionen eine Bedeutung zu (Abbildung 2) [10, 11].

**Abbildung 2:** Uroepithelien aus dem Morgenharn mit adhärenen *E. coli* von einem Patienten mit rezidivierenden Harnwegsinfektionen



## Die mukosale Abwehr

In den letzten Jahren wurden Forschungsergebnisse zur angeborenen Immunität veröffentlicht, die einen völlig neuen Einblick in die initiale Abwehr von Infektionen bei Neugeborenen geben. Neugeborene besitzen bereits Abwehrmechanismen gegen bakterielle und virale Mikroorganismen, bevor die spezifische, stimulierbare humorale und zelluläre Abwehr wirksam wird. Dieselben Mechanismen spielen natürlich auch in der Infektabwehr von Säuglingen und älteren Kindern sowie bei Patienten, bei denen die spezifische Abwehr durch Medikamente oder die Grundkrankheit geschwächt ist, eine wesentliche Rolle. Dies wird als angeborene körpereigene Abwehr oder Mukosa-Immunität bezeichnet [12].

Die Mukosa-assoziierte Abwehr beruht neben der bekannten physikalischen Barriere auf der Bildung von Lysozym sowie anderen genkodierte, antimikrobiellen Peptiden (AP) durch Epithelzellen. AP, auch Defensine genannt, besitzen ein breites bakterizides Wirkspektrum gegen Gram-positive, Gram-negative Mikroorganismen, Viren und *C. albicans* [13, 14, 15].

Zahlreiche verschiedene Strukturen von Defensinen wurden in der Zwischenzeit beschrieben. Einige dieser antimikrobiellen Peptide – die alpha-Defensine – werden ständig in gleich bleibenden Mengen, andere wiederum – die  $\beta$ -Defensine – in erster Linie durch Kontakt der Epithelzellen mit pathogenen Mikroorganismen bei Kontakt pathogener Mikroorganismen mit der Epithelzelle gebildet [16]. Diese Kohlehydratstrukturen der Zellwand von pathogenen Mikroorganismen – als „pathogen associated molecular patterns“ (PAMPs) bezeichnet –, aber auch Lipopolysaccharide, Lipoproteine, Peptidoglykane sowie die CpG-Oligonukleotid-Sequenzen bakterieller und viraler DNA stimulieren über TOLL- und TOLL-like-Rezeptoren (TLR) auf Makrophagen die Entzündungskaskade und initiieren dadurch die Abwehrreaktion [17, 18]. Unterschiede im Aufbau von bakterieller und viraler DNA (so genannte CpG Motife) im Vergleich zur menschlichen DNA ermöglichen dem Immunsystem, diese potenziellen Krankheitserreger aufgrund ihrer DNA-Struktur zu erkennen und eine entsprechende Abwehrantwort zu initiieren. Diese antimikrobiellen Peptide arrangieren sich in der Zellwand von Mikroorganismen in einem aus 6 Bestandteilen bestehenden Kanal, durch den das Zytoplasma austritt und dadurch zum Tod des Keimes führt.

## Diagnostik

Die Abklärung rezidivierender Infekte besteht in einer profunden Anamnese. Die Bestimmung der Antikörperkonzentration in Blut und Speichel (sekr. IgA) ist sicher indiziert, obwohl meist normale Werte erhoben werden können. Bei bildgebenden Verfahren ist die Organmanifestation zu berücksichtigen. Auf Grund der beschriebenen Pathomechanismen ist bei der Abklärung von Patienten mit rezidivierenden Infektionen ein erheblich breiteres Abklärungsprogramm durchzuführen, nämlich auch die Untersuchung der angeborenen Abwehr neben der Bildung von antimikrobiellen Peptiden ( $\beta$ -Defensine) durch Epithelzellen, um eine gezielte Behandlung initiieren und Prophylaxe anbieten zu können.

## Möglichkeiten der Intervention

Die adäquate Erstbehandlung eines Infektes ist für eine rasche Keimelimination und den Rückgang der Entzündungszeichen von wesentlicher Bedeutung. Sie beruht natürlich auf der Verabreichung eines wirksamen Präparates, gemessen an der antimikrobiellen Empfindlichkeit und Bioverfügbarkeit des Medikamentes sowie der Berücksichtigung pharmakodynamischer Besonderheiten [19].

Wichtig ist zudem eine unterstützende Behandlung mit abschwellenden Nasentropfen, Sekretolytika und Medikamenten, die die Viskosität des Schleimes harmonisieren, die Zilientätigkeit anstoßen bzw. antientzündliche Eigenschaften aufweisen, um z.B. die Funktion der Eustachischen Tube wieder in Gang zu setzen. Bisweilen ist bereits die ausreichende Hydratation des Körpers hilfreich. Auch die chirurgische Korrektur anatomischer Fehlbildungen, z.B. die Korrektur einer Deviation der Nasenscheidewand, ist von großer Bedeutung und kann durch keine medikamentöse Therapie ersetzt werden. 1.8 Cineol wurde als potenter Antagonist gefäßwirksamer proinflammatorischer Zytokine (Leukotriene, Prostaglandine) erkannt und hat einen sicheren Stellenwert in der unterstützenden Therapie. Der Wirkstoff wird sowohl oral als auch als Balsam über die Haut resorbiert und rasch in der Atemluft ausgeschieden [20].

Ein wesentlicher Beitrag zur Verhinderung rezidivierender Infekte kommt auch der Stärkung bzw. Stimulation der körpereigenen Abwehr zu. Prospektive, kontrollierte, randomisierte Doppelblindstudien bei mehreren 1.000 Patienten zeigten eine mindestens 50%-Reduktion der Zahl und Schwere von Infekten durch die Gabe von Bakterienlysaten. Die Wirkmechanismen sind bisher im Gegensatz zu den günstigen klinischen Ergebnissen nicht geklärt. Eine Steigerung des Gesamt-Sekretions-IgA wurde beschrieben. Hinweise deuten jedoch als wesentlichen Wirkmechanismus auf eine Steigerung der angeborenen, Mukosa-assoziierten Immunität hin [21, 22, 23, 24].

Natürliche, aber auch synthetische Oligonukleotide – z.B. in Bakterienlysaten – enthalten alle Strukturen, die die  $\beta$ -Defensinbildung umfassend stimulieren. Sie stellen einerseits ein überaus potentes Adjuvans dar, andererseits stimulieren sie über diese verschiedenen TLR-Strukturen die Bildung proinflammatorischer Zytokine.

## Experimentelle und klinische Untersuchung der Mukosa-Immunität

Es war nun von Interesse, ob eine gestörte Mukosa-Immunität durch eine verminderte Bildung von  $\beta$ -Defensin bei rezidivierenden Infektionen im Kindesalter eine Rolle spielt und ob Bakterienlysate sowohl in experimentellen Untersuchungen als auch in einer klinischen Pilotuntersuchung eine positive Wirkung durch Stimulation der Bildung von  $\beta$ -Defensin entfalten können.

## Experimentelle Untersuchungen

### *Material und Methode*

a) *Untersuchung der Bildung von  $\beta$ -Defensin durch Epithelzellen nach Stimulation mit lebenden Mikroorganismen und hitzeinaktivierten Bakteriensuspensionen: Vergleich: *S. aureus*, *P. aeruginosa* ATCC-Referenzstämme und Bronchovaxom:*

Epithelzellen aus der Wangenschleimhaut von gesunden Probanden wurden mit einem Plastikspatel gewonnen. Eine Epithelzellsuspension mit 5.000 Epithelzellen in einem Milliliter physiologischer Kochsalzlösung wurde zubereitet. Die Wangenschleimhautepithelien wurden mit vitalen Mikroorganismen (*S. aureus* ATCC 65283, *P. aeruginosa* ATCC 65284 in einer Konzentration von 5.000 KBE/ml) zur Stimulation der Bildung von  $\beta$ -Defensin für 90 Minuten inkubiert und dann scharf zentrifugiert. Im Überstand wurde die  $\beta$ -Defensin Bildung in einem biologischen Testsystem gemessen. Dieselbe Untersuchung wurde mit 10 mg/ml Bakterienlysat (Bronchovaxom®) durchgeführt.

b) *Messung der antimikrobiellen Wirksamkeit von  $\beta$ -Defensin aus einer definierten Epithelzellsuspension in einem biologischen Testsystem:*

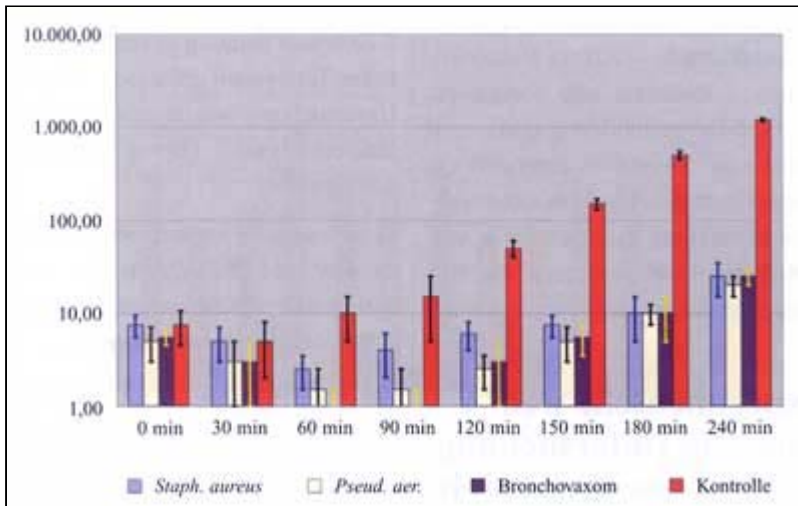
Ein Inokulum von  $5 \times 10^5$  CFU/ml *P. aeruginosa* (ATCC) in Trypcase-Soja-Nährmedium wurde mit dem 0,75 ml Überstand der mit den Testorganismen stimulierten Epithelzellsuspension (*S. aureus*, *P. aeruginosa* ATCC und Bronchovaxom 10 mg in 1 ml NaCl phys.) in einer Küvette inkubiert und die Trübung der Suspension in 30-Minuten-Abständen über 4 Stunden gemessen.

Gleichzeitig wurden über 4 Stunden 0,05 ml der Bakteriensuspension im Abstand von jeweils 30 Minuten auf eine Blut-Agarplatte aufgebracht und für 24 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde die Keimzahl bestimmt. Die mit verschiedenen Antigenen stimulierten Proben wurden mit den Proben von unstimulierten Epithelzellsuspensionen verglichen.

### *Resultate*

Abbildung 3 zeigt die Ergebnisse der experimentellen Untersuchung der antimikrobiellen Eigenschaften von Wangenschleimhautepithelzellen von 2 gesunden Probanden nach Stimulation mit 4 unterschiedlichen Stimuli [*S. aureus*, ATCC 25723 (SA), *P. aeruginosa*, Standardkeim für Ringversuche (PA), Bronchovaxom 10 mg/ml (BV)] + Kontrolle (Leerwert). Die Untersuchungen wurden 5fach wiederholt. Testorganismus: *P. aeruginosa*, Standardkeim für Ringversuche.

**Abbildung 3:** Ergebnisse der experimentellen Untersuchung der antimikrobiellen Eigenschaften von Wangenschleimhautepithelzellen



## Klinische Beobachtungen

### Ein- und Ausschlusskriterien

Die Ergebnisse von 23 Patienten im Alter zwischen 3 und 18 Jahren, die zur Abklärung rezidivierender Infektionen zugewiesen wurden, wurden retrospektiv ausgewertet. Bei diesen Patienten wurde eine sorgfältige Anamnese und physikalische Untersuchung durchgeführt. Besonderer Wert wurde auf vorangegangene Behandlungen (Antibiotikum, Dosierung, Dosierungsintervalle, Therapiedauer, unterstützende Therapie) gelegt. An laborchemischen Untersuchungen wurden die Entzündungsparameter gemessen und es erfolgte die Untersuchung der spezifischen körpereigenen Abwehr einschließlich IgE, ev. RAST. Weiters wurde die unspezifische Abwehr beurteilt sowie nach anatomischen und funktionellen Defekten gefahndet. Außerdem wurde die Mukosaimmunität untersucht und das  $\beta$ -Defensin mit dem biologischen Testsystem bestimmt. Die Patienten erhielten nach der Erstuntersuchung eine effektive antimikrobielle Therapie nach den oben beschriebenen Gesichtspunkten sowie eine entsprechende unterstützende Behandlung.

Als Einschlusskriterium galt: mehr als 6 Infekte der oberen Luftwege pro Jahr im vergangenen Kalenderjahr. Ausschlusskriterien für die  $\beta$ -Defensinbestimmung waren der Nachweis eines spezifischen Immundefekts (Antikörpermangel, T-Zelldefekt). Bei Patienten mit Adenoid- oder Tonsillenhyperplasie wurde die  $\beta$ -Defensinbildung bestimmt, wenn keine zusätzlichen anatomischen Fehlbildungen (z.B. Lippen-Kiefer-Gaumenspalte) vorlagen.

Die Entnahme von Wangenschleimhautepithelien und die Bestimmung des  $\beta$ -Defensins erfolgte bei der Erstuntersuchung, nach 3-6 Monaten und nach 1 Jahr. Patienten mit einer  $\beta$ -Defensin-Produktion < 75% des Wertes der Referenzperson erhielten Bronchovaxom 1 x 1 Tablette täglich für 30 Tage. Die klinische Beobachtung des weiteren Verlaufes erfolgte durch die Eltern und den Hausarzt. Alle Episoden von Infekten wurden von den Eltern bzw. vom Hausarzt dokumentiert. Nach 3-6 Monaten und nach 12 Monaten wurden die Patienten erneut in unserer Poliklinik beurteilt.

Der klinische Verlauf, d.h. die Häufigkeit und Schwere von Infektionen, das Auftreten von Komplikationen und insbesondere die Indikation für eine Verabreichung von Antibiotika, die Absenztage vom Kindergarten, versäumte Schultage und eventuelle stationäre Aufnahmen ins Krankenhaus wurden im Vergleich zur Vorperiode beurteilt.

## Ergebnisse der Pilotuntersuchung

Insgesamt wurde bei 23 Patienten eine initiale  $\beta$ -Defensin-Bestimmung durchgeführt (Tabelle 1)

**Tabelle 1** : Ergebnisse der Pilotuntersuchung

<b>Insgesamt wurde bei 23 Patienten eine initiale <math>\beta</math>-Defensin-Bestimmung durchgeführt</b>	
Diagnosen bestanden in:	Patientenzahl
Rezidivierende Sinusitis	10 Patienten
Rezidivierende Pneumonie/Bronchitis	6 Patienten
Rezidivierende Otitis media	2 Patienten
Mukokutane Candidiasis	2 Patienten
Rezidivierende Harnwegsinfektionen	1 Patient
Rezidivierende Durchfallerkrankungen	1 Patient
Rezidivierende Hautgranulome	1 Patient

<b>Von diesen Patienten zeigten initial eine <math>\beta</math>-Defensin-Konzentrationen in % des Kontrollwertes</b>	
< 10 %	2 Patienten
20 - 29 %	5 Patienten
30 - 39 %	5 Patienten
40 - 49 %	5 Patienten
50 - 69 %	2 Patienten
> 70 %	4 Patienten

19 Patienten wurden mit Bronchovaxom behandelt:

- Bei einem Patienten mit chronisch karnifizierender Pneumonie konnte die  $\beta$ -Defensin-Bildung innerhalb von 3 Monaten von <10% auf 25-40% (Mehrfachbestimmung) gesteigert werden. Der Patient zeigte eine deutliche klinische Besserung mit Gewichtszunahme und einer Verbesserung der Leistungsfähigkeit und Infektfreiheit über >9 Monate.
- Bei weiteren 13 Patienten konnte die  $\beta$ -Defensin-Bildung von <75% auf zwischen 60 und 100% der Kontrollperson gesteigert und mit einer wesentlichen Abnahme der Häufigkeit und Schwere der Infektionen korreliert werden.
- Bei 5 Patienten konnte keine Änderung des Befundes erreicht werden:  
2 Patienten mit mukokutaner Candidiasis zeigten ein deutlich vermindertes  $\beta$ -Defensin initial (25% der Kontrollperson), jedoch keine Stimulation durch Verabreichung von Bronchovaxom. Der Patient mit *P. aeruginosa*-Granulomen der Haut ( $\beta$ -Defensin-Bildung <10% durch *P. aeruginosa*) zeigte ebenfalls keine Steigerung der  $\beta$ -Defensin-Bildung. 1 Patient mit rezidivierenden Sinusitiden zeigte keine Steigerung der  $\beta$ -Defensin-Bildung und keine klinische Besserung der wiederholten Infekte, bei der Patientin mit rezidivierenden *P. aeruginosa*-Pneumonien wurde zwar vorübergehend eine Steigerung der  $\beta$ -Defensinbildung erreicht, jedoch ohne nachhaltige klinische Besserung.

- 4 Patienten erhielten kein Bronchovaxom

## Diskussion

Strategische Überlegungen zur Abklärung des „häufig kranken Kindes“ beruhen keineswegs allein auf einer laborchemischen und immunologischen Abklärung. Sie werden in erster Linie durch Anamnese und klinische Symptome geleitet. Rekurrente, prolongierte, pyogene Infektionen in verschiedenen Organsystemen bei mangelndem Gedeihen mit Beginn nach dem zweiten Trimenon weisen auf einen B-Zelldefekt und ein Antikörpermangelsyndrom hin. Ungewöhnlich häufige Pilz- und Protozoeninfektionen oder eine protrahierte Virusinfektion deuten auf einen Defekt der T-Zellimmunität oder einen kombinierten B- und T-Zelldefekt (SCID) hin. Rekurrente Staphylokokkeninfektion der Haut und kalte Abszesse der Lymphknoten lassen auf einen Granulozytendefekt schließen [25]. Monotope Infektionen in einem Organsystem bei normalerweise gutem Gedeihen und gutem Allgemeinzustand müssen den Verdacht auf eine Störung der Barrierefunktion, auf anatomische Besonderheiten in dem betreffenden Organsystem oder Strukturanomalien, aber auch – entsprechend der Ergebnisse der Pilotuntersuchung – auf eine Störung der Mukosa-Immunität richten.

Für viele Jahre hat man sich auf die Erforschung der adaptativen Immunität konzentriert, die natürlich eine wichtige Rolle in der Prävention und Bekämpfung vieler Infektionen spielt. Das adaptative Immunsystem ist in der Evolution eine vergleichsweise junge Strategie, die besonders bei höher entwickelten Vertebraten gut ausgebildet ist [26].

Die Oberflächen höherer Organismen sind normalerweise mit zahlreichen Mikroorganismen übersät, es kommt aber nur selten zu Infektionen. Es ist jedoch verwunderlich, dass in bestimmten Körperregionen Mikroorganismen trotz optimaler Wachstumsbedingungen (Anwesenheit von Feuchtigkeit, Salzen, Aminosäuren, Wärme) in ihrer Zahl nahezu konstant bleiben. Das verwundert insbesondere im Lichte der Erkenntnis, dass dieselben Mikroorganismen unter optimalen Bedingungen ihre Anzahl in jeweils 20 Minuten verdoppeln können. Bisher galt, dass Haut und Schleimhäute primär als physikalische Barriere wirken und Infektionen durch eine undurchdringliche Schicht aus Lipiden, Hornschuppen und Schleim, durch die Zilienbewegung und durch eine mechanische Klärfunktion abgewehrt werden. Diese Beobachtung ließ vermuten, dass die Haut und andere Körperoberflächen mit Kontakt zur Umwelt neben der physikalischen Barriere auch ein chemisches Abwehrsystem besitzen, das die Besiedelung durch Mikroorganismen sowohl qualitativ als auch quantitativ kontrolliert [27].

Dies wurde insbesondere durch die Bildung genetisch kodierter antimikrobieller Substanzen, die von Epithelzellen von Pflanzen, Wirbellosen- und Wirbeltieren einschließlich des Menschen auf Haut und Schleimhäuten produziert werden, erklärt. Bereits Fleming hatte 1922 das „bactericidal permeability increasing protein“ – heute als Lysozym bezeichnet – beschrieben, das aber im Lichte der Entdeckung des Penizillins durch den selben Autor völlig in den Hintergrund gedrängt wurde [28]. Einige dieser antimikrobiellen Peptide – die alpha-Defensine – werden ständig in gleich bleibenden Mengen, andere wiederum – die  $\beta$ -Defensine – in erster Linie durch Kontakt der Epithelzellen mit pathogenen Mikroorganismen über bisher weitgehend unbekannte Rezeptoren oder über proinflammatorische Zytokine bei Kontakt pathogener Mikroorganismen mit der Epithelzelle gebildet [29, 30, 31].

Diese stimulierbaren antimikrobiellen Peptide,  $\beta$ -Defensine genannt, sind cysteinreiche,

kationische Proteinmoleküle mit einem Molekulargewicht von ca. 5.000 kD. Sie bestehen aus 38-41 Aminosäuren [32]. Elektronenmikroskopische Aufnahmen lassen darauf schließen, dass die antimikrobielle Wirksamkeit auf einer Perforation der Zellwand pathogener Mikroorganismen beruht [33]. Die  $\beta$ -Defensine arrangieren sich in einem Ring und bilden einen Kanal in der Bakterienwand, welcher zum Ausfluss von Zytoplasma führt.  $\beta$ -Defensin I wird vorwiegend im Urogenitaltrakt gebildet und besitzt eine Wirksamkeit gegen Gram-negative Mikroorganismen,  $\beta$ -Defensin II wird in den Epithelzellen der oberen Luftwege gebildet und ist ebenfalls gegen Gram-negative Erreger und Pilze wirksam, das  $\beta$ -Defensin III wirkt gegen *S. aureus* und Enterokokken, unabhängig von deren Resistenz gegen Antibiotika [34].

Entzündungsmediatoren, die durch diese TLR induziert werden, sind TNF $\alpha$ , TNF $\gamma$ , IL 1 und IL 6, die ebenso wie bakterielle Mikroorganismen z.B.  $\beta$ -Defensin II freisetzen. Als TLR-Signaltransduktoren für die Freisetzung der proinflammatorischen Zytokine fungieren MyD88, Tirap, Trif, Tram. Bisher kennt man mindestens 9 (+1) verschiedene TLR-Rezeptoren, die auf unterschiedliche Strukturen bakterieller Mikroorganismen reagieren, eine bestimmte Sequenz von Entzündungsmediatoren freisetzen und bakterizide Eigenschaften besitzen [35, 36, 37]. TLR 4 wird durch LPS Gram-negativer Mikroorganismen stimuliert, TLR 2 von Gram-positiven Keimen initiiert. In Bakterienlysaten (z.B. Bronchovaxom®) sind viele dieser stimulierenden Stoffe vorhanden.

Die Mukosa-Immunität, eben die Bildung von  $\beta$ -Defensinen, kann sowohl bezüglich Konzentration als auch Zeitpunkt der Bildung bei Säuglingen, Klein- und Schulkindern mit rezidivierenden Infekten gestört sein. Dies bedeutet, dass bei diesen Patienten Schleimhäute leichter und mit höheren Keimzahlen durch bakterielle Mikroorganismen besiedelt werden bzw. Keime, die an Epithelzellen haften, nicht eliminiert werden können.

Möglichkeiten einer Störung bestehen insofern, als

- Patienten mit rezidivierenden Infekten kein oder im Vergleich zu gesunden Vergleichspersonen zu wenig  $\beta$ -Defensin bilden oder eine bestimmte  $\beta$ -Defensinklasse nicht bilden.
- Patienten nach Kontakt mit bestimmten Mikroorganismen (z.B. *P. aeruginosa*) kein  $\beta$ -Defensin bilden.
- Patienten verzögert auf die bakterielle Besiedelung von Epithelzellen mit der Bildung von  $\beta$ -Defensin reagieren und dadurch einer kleinen Inokulummenge Zeit geben zu proliferieren, wodurch das System überfordert ist, da  $\beta$ -Defensine nur gegen eine kleine Inokulummenge wirksam sind.

Unsere Pilotuntersuchung hat gezeigt, dass bei Patienten mit rezidivierenden Infektionen und intakter spezifischer körpereigener Abwehr ein Mangel an  $\beta$ -Defensinen eine pathogenetische Rolle spielen kann. In diesem vorselektionierten Krankengut wurde bei der Majorität der Patienten eine massive bis deutliche Verminderung der Bildung antimikrobieller Peptide beobachtet. Es ist gerechtfertigt, diesem lokalen Defekt der Mukosa-Immunität bei der Pathogenese rezidivierender Infekte eine wesentlich größere Bedeutung beizumessen als z.B. einem Defekt der spezifischen Immunität wie z.B. der Brutonschen Agammaglobulinämie.

Bei der Behandlung von Patienten mit rezidivierenden Infektionen vor allem der Atemwege kommt der Optimierung der antimikrobiellen Behandlung eine entscheidende Bedeutung

zu. Für einen nachhaltigen Behandlungserfolg sind neben der Wahl eines wirksamen Antibiotikums die richtige Tagesdosis, die richtigen Dosierungsintervalle (optimale Pharmakodynamik und Überschreiten der mittleren Hemmkonzentrationen am Infektionsort für mindestens 66% besser 75-90 % der Zeit bis zur nächsten Dosis) und die korrekte Verabreichungsweise ausschlaggebend. Zuletzt ist auch eine korrekte Therapiedauer, die sich primär nach pathophysiologischen und funktionellen Gesichtspunkten richtet, von wesentlicher Bedeutung im Hinblick auf das Auftreten von Rezidiven.

Eine antibiotische Dauerprophylaxe zur Verhinderung rezidivierender Infekte ist nur in Ausnahmefällen gerechtfertigt und erfolgreich. Sie führt zur Selektion sowie Induktion resistenter bakterieller Mikroorganismen als Erreger von Rezidiven, was den Einsatz von oft nur parenteral verabreichbaren Breitspektrum-Antibiotika erforderlich macht. Gleich wichtig, obwohl in ihrer Bedeutung vielfach unterschätzt, ist auch eine entsprechende unterstützende Therapie mit Verbesserung der mukoziliären Clearance. Auch die Untersuchung von anatomischen und funktionellen Störungen des Sekretflusses und der Belüftung von Oberflächen sowie der Mukosa-Immunität ist von Bedeutung.

Bei Säuglingen und Kleinkindern mit rezidivierenden Infektionen können auf verschiedenen Ebenen der körpereigenen Abwehr Defekte bestehen. Eine effiziente Behandlung rezidivierender Infekte muss sich nun einer entsprechenden Diagnostik bedienen, um die einzelnen pathogenetischen Ursachen gezielt behandeln zu können.

Hinweise mehren sich, dass die Stimulation der Mukosa-Immunität z.B. durch detoxifiziertes Lipid A bzw. dem Monophosphoryl Lipid A über TLR 4 in Kombination mit einer Vakzine eine dramatische Steigerung der Immunantwort zur Folge hat [38]. Neueste Untersuchungen weisen auch darauf hin, dass es über die Aktivierung der TLR 4 auch zu einer Aktivierung der adaptiven Immunität kommt [39].

In Bakterienlysaten ist unter anderem auch detoxifiziertes Lipid A enthalten. Unsere Untersuchungen weisen darauf hin, dass die Verabreichung von Bakterienlysaten, obwohl nach wie vor nicht allgemein akzeptiert, in einem hohen Prozentsatz der Patienten mit rezidivierenden Infektionen zu einer Besserung der Mukosa-Immunität und zu einer substanziellen Abnahme der gehäuften Infekte führt. Allerdings ist eine optimierte antimikrobielle und funktionelle Behandlung der Infekte Voraussetzung. Bakterienlysate greifen in mehreren Ebenen der körpereigenen Abwehr günstig ein.

1) Bakterienlysate enthalten sowohl LPS, Oberflächenstrukturen Gram-negativer Mikroorganismen, Lipoteichonsäure und Peptidoglykane der bakteriellen Zellwand Gram-positiver Keime als auch Kohlenhydratstrukturen aus der Zellwand Gram-negativer Mikroorganismen. Diese stimulieren direkt die Bildung von  $\beta$ -Defensinen.

2) Stimulation von proinflammatorischen Cytokinen durch TLR über Bakterienlysate und bakterielle/virale DNA (CpG Motif), die ebenso wiederum über die Bildung von NO oder  $\beta$ -Defensinen Keime an Epitheloberflächen eliminieren, ohne eine entsprechende Aktivierung der stimulierbaren humoralen oder zellulären Immunität.

3) Bildung von spezifischen Sekretions-IgA-Antikörpern in Sekreten des Nasen-/Rachenraums, die gegen Oberflächenstrukturen von Keimen gerichtet sind und die Adhärenz bakterieller Mikroorganismen blockieren. Die Induktion von Sekretions-IgA-Antikörpern, die die Adhärenz von Keimen blockieren, wurde in eigenen randomisierten Doppelblinduntersuchungen dokumentiert [40].

## Ausblick

Die körpereigene Abwehr ruht auf 3 Säulen, von denen jede Säule bei rezidivierenden Infektionen im Kindesalter gestört sein kann.

1) Die stimulierbare spezifische körpereigene Abwehr, die auf der Bildung von Antikörpern inklusive Sekretions-IgA-Antikörpern und der T-Zell-Immunität beruht. Defekte dieses Abwehrsystems sind selten.

2) Die unspezifische körpereigene Abwehr, zu der in erster Linie die mukoziliäre Clearance mit Zilienschlagfrequenz, regulärer Schleimschicht, Belüftung von Schleimhäuten und freier Sekretfluss zählen und die die Besiedelung der Schleimhäute mit Mikroorganismen reguliert. Die unspezifische Abwehr, die bei Entzündungsprozessen profund gestört ist, wird vorwiegend durch eine rasche Elimination der Mikroorganismen durch eine optimierte antimikrobielle Behandlung sowie eine adäquate unterstützende Behandlung beeinflusst

3) Die neu entdeckte angeborene Abwehr oder Mukosa-Immunität: Sie beruht darauf, dass der Körper Rezeptoren besitzt, die ohne einen vorangegangenen Kontakt Strukturen bakterieller Mikroorganismen (PAMPs) über die so genannten TOLL- und TOLL-like-Rezeptoren (TLR) erkennen und eine Kaskade von proinflammatorischen Cytokinen mit direkter antimikrobieller Wirkung oder über Vermittlung von  $\beta$ -Defensin freisetzen.

Von besonderem Interesse ist es in Zukunft, das Ausmaß der Verminderung der Mukosa-Immunität bei Patienten mit rezidivierenden Infektionen zu definieren. In der Folge ist es notwendig, eine zeitliche Auflösung für die  $\beta$ -Defensin-Bildung zu ermitteln, d.h. zeitliche Unterschiede zwischen Kontrollpersonen und den Probanden bezüglich der Bildung von  $\beta$ -Defensin zu bestimmen. Eine zeitliche Verzögerung der  $\beta$ -Defensin-Bildung kann zu einer erheblichen Beeinträchtigung der Mukosa-Immunität führen, da  $\beta$ -Defensin nur gegen ein kleines Inokulum, wie es bei einer Tröpfcheninfektion zustande kommt, wirkt. Bei zeitlicher Verzögerung der Wirkung kann durch Proliferation der Keime die Wirksamkeit erheblich vermindert sein. Da im Rahmen einer Virusinfektion eine erhebliche Störung der unspezifischen körpereigenen Abwehr und insbesondere der mukoziliären Clearance besteht, jedoch nur ein kleiner Prozentsatz der Patienten an bakterieller Superinfektion leidet, ist der angeborenen Mukosa-Immunität eine möglicherweise entscheidende Rolle zuzuschreiben. Es wäre dringend nötig, diese Fragestellung in prospektiven klinischen Untersuchungen abzuklären.

## Literatur:

1. Gillespie M.B.: „Recurrent otitis media in children.“ JAMA 289 (2003) 1383-1384.
2. Dagan R., Leibovitz E., Greenberg D., Yagupsky P., Fliss D.M., Leiberman A.: „Early eradication of pathogens from middle ear fluid during antibiotic treatment of acute otitis media is associated with improved outcome.“ Pediatric Infectious Dis. Journal. 17 (1998) 778-782.
3. Diament M.J.: „The diagnosis of sinusitis in infants and children. X-ray, computed tomography, and magnetic resonance imaging. Diagnostic imaging in pediatric sinusitis.“ J. Allergy Clin. Immunol. 90 (1990) 442-444.
4. Horn M.E., Reed S.E., Taylor P.E.: „Role of viruses and bacteria in acute wheezy bronchitis in childhood. A study of sputum.“ Arch. Dis. Child. 54 (1979) 587-592.

5. Hobermann A., Wald E.R., Hickey R.W.: „Oral versus initial intravenous therapy of acute urinary tract infections in young febrile children.“ *Pediatrics* 104 (1999) 79-86.
6. Horowitz M.E.: „Stem cell transplantation for inherited immunodeficiency syndromes.“ *Ped. Clin. North. Am.* 47 (2000) 1371-1387.
7. Goss C.H.: „Airway clearance in cystic fibrosis.“ *Resp. Care.* 48 (2003) 20-21.
8. Ogra: „Vaccination Strategies for Mucosal Immune Responses.“ *Clin. Microbiol. Rev.* 14 (2001) 430-445.
9. Hagashi M.: „Adhärenz von *Streptococcus pyogenes* an Wangenschleimhautepithelien bei Kindern mit rezidivierenden Streptokokkeninfektionen.“ Dissertation Univ. Erlangen, 1994.
10. Ruder H., Thurn C.H., Guggenbichler J.P.: „Adherence of *E. coli* to uroepithelia in children and adolescents after renal transplantation.“ *Transplant Proc.* 24 (1992) 2576-2577.
11. Hagen P., Hobisch A., Guggenbichler J.P., Schwanninger J., Bartsch G.: „Korrelation von vesiko-ureteralem Reflux und rezidivierenden Harnwegsinfektionen mit erhöhter bakterieller Adhärenz.“ *Urologe.* 31 (1992) 186-188.
12. Schröder J.: „Antimikrobielle Peptide – Antibiotika der Zukunft.“ *MMP* 22 (1999) 270-277.
13. Brandtzaeg P.: „Mucosal immunology: with special reference to specific immune defense of upper respiratory tract.“ *Otolaryngology* 50 (1988) 225-235.
14. Benesch K.W., Raida M., Mägert H.J., Schulz-Knappe P., Forssmann W.G.: „A novel  $\beta$ -Defensin from human plasma.“ *FEBS Letter* 368 (1995) 331-335.
15. Hancock R.E.: „Peptide antibiotics.“ *Lancet* 349 (1997) 418-422.
16. Medzhitov R., Janeway C.: „Innate immune recognition: mechanisms and pathways.“ *Immunol. Review* 173 (2000) 89-97.
17. Medzhitov R.: „Toll like receptors and innate immunity.“ *Nature Reviews* 1 (2001) 135-145.
18. Barton G.M., Medzhitov R.: „Control of adaptive immune responses by Toll like receptors.“ *Curr. Opin. Immunol.* 14 (2002) 380-383.
19. Dagan R., Klugman K.P., Craig W.A., Baquero F.: „Evidence to support the rationale that bacterial eradication in respiratory tract infection is an important aim of antimicrobial therapy.“ *J. Antimic. Chemoth.* 47 (2001) 129-140.
20. Jürgens U.R., Stöber M., Vetter H.: „Steroidartige Hemmung des monozytären Arachidonsäuremetabolismus und der IL-1-Produktion durch 1,8-Cineol.“ *Atemw. Lungenkrkh.* 1 (1998) 2-10.
21. Cvorisec B., Ustar M., Pardon R., Palecek I., Stipic Marcovic A., Zimic B.: „Oral Immunotherapy of chronic bronchitis: a double blind placebo controlled multicentre study.“ *Respiration* 55 (1989) 129-135.
22. Gutierrez-Tarango M.D., Berber A.: „Efficacy of a bacterial extract (OM-85 BV) in preventing recurrent respiratory tract infections in susceptible children.“ *Clin. Drug Invest.* 13 (1997) 76-84.
23. Maestroni G.J., Losa G.A.: „Clinical and immunobiological effects of an orally administered bacteria extract.“ *Int. J. Immunopharm.* 6 (1984) 111-117.
24. Fischer H., Eckenberg P., Van Aubel A., Kämmerer A., Elsasser U.: „Prävention von Infektrezidiven der oberen und unteren Luftwege.“ *Atemw. und Lungenkrankheiten.* 18 (1992) 146-155.
25. Johnston R.B. jr.: „Clinical aspects of chronic granulomatous disease.“ *Curr. Opin. Hematol.* 8 (2001) 17-22.
26. Maune St., Meyer J.E.: „Potential körpereigener antibiotischer Peptide bei der angeborenen Abwehr von Rhinuserkrankungen.“ *Allergologie* 24 (2001) 23-32.
27. Mackay I., Rosen F.: „Innate Immunity *New Engl. J. Med.* 343 (2000) 338-344.
28. Fleming A.: „On a remarkable bacteriolytic element founding tissues and secretions.“ *Proc. R. Soc. London* 93 (1922) 306-317.
29. Fulton C., Anderson G.M., Stolzenberg E.D., Kari U.P., Zasloff M., Wilson J.M.: „Human  $\beta$ -Defensin 1 is a salt sensitive antibiotic in lung that is inactivated in cystic fibrosis.“ *Cell* 88 (1997) 553-560.
30. Medzhitov R., Janeway C.G.: „Fly immunity great expectations.“ *Genomen Biology* 1 (2000) 1-4.
31. Fan J., Kapuis A., Marsden P.A., Li Y.H., Orpoulos G.: „Regulation of Tolllike receptor 4 expression in the lung following hemorrhagic shock and lipopolysaccharides.“ *J. Immunology* 168 (2002) 5252-5259.
32. Hoffmann J.A., Kafatos F.C., Janeway C.A., Ezekowitz: „Phylogenetic perspectives in innate immunity.“ *Science* 284 (1999) 1313-1318.
33. Wiedow O., Young J.A., Davison E.: „Anti Leukoprotease in psoriatic scales.“ *J. Invest. Dermatol.* 101

(1993) 305-309.

34. Selsted M.E., Miller S.I., Henschen A.H., Quelle A.J.: „Enteric defensins: antibiotic peptide components of intestinal host defense.“ J. Cell Biol. 118 (1992) 929-936.

35. Harder J.U., Bartels E., Christophers J.M., Schröder J.M.: „A peptide antibiotic from human skin.“ Nature 387 (1997) 861.

36. Medzhitov R., Janeway Ch.A.: „How does the immune system distinguish self from nonself.“ Seminars in Immunology 12 (2000) 185-188.

37. Bendelac A., Medzhitov R.: „Adjuvans of Immunity: Harnessing innate Immunity to promote adaptive Immunity.“ J. Exp. Med. 195 (2002) F 19-F23.

38. Persing D.H., Coler R.N., Lacy M.J., Johnson D.A., Baldrige J.R., Hersberg R.M., Reed S.G.: „Taking toll: lipid a mimetics as adjuvants and immunomodulators.“ Trends Microbiol. 10 Suppl. (2002) 32-39.

39. Check W.: „Innate immunity depends on toll-like receptors.“ ASM News 70 (7) (2004) 317-322.

40. Wichels M., Wolfschaffner H.: „Stimulation des Sekretions Ig A-Systems durch Bakterienlysate und Blockierung der Adhärenz von Mikroorganismen an Schleimhautepithelien.“ Dissertation zur Erlangung des med. Doktorgrades, Univ. Erlangen (1998).

**Anschrift des Verfassers:**

Univ.-Prof. Dr. J. Peter Guggenbichler  
Klinik mit Poliklinik der Universität Erlangen-Nürnberg  
D-91054 Erlangen, Loschgestraße 15

E-Mail: [prof.guggenbichler@gmx.de](mailto:prof.guggenbichler@gmx.de)

[zurück zum Inhalt](#)