

Gramnegative Anaerobier I – Genera *Bacteroides* und *Prevotella*

L. Zabel, H. Werner

Taxonomie

Gattung *Bacteroides*

Bis 1989 enthielt die Gattung *Bacteroides* mehrere Dutzend Arten anaerober gramnegativer sporenloser Stäbchen. Dabei stand nicht einmal die Abgrenzung gegen die Gattung *Fusobacterium* mikromorphologisch auf sicheren Füßen, wie die Beschreibung der fusiformen Spezies *Bacteroides forsythus* (Tanner et al., 1986) gezeigt hatte; und Butyratbildung, die typische biochemische Eigenschaft der Gattung *Fusobacterium*, fand sich bei nicht wenigen *Bacteroides*-Arten, wie z. B. *Bacteroides putredinis* und *Bacteroides splanchnicus* (Hamman und Werner, 1975). 1989 erschien der Vorschlag von Shah und Collins, die Gattung *Bacteroides* auf *Bacteroides fragilis* und nahe verwandte Spezies zu beschränken. Die früher (Werner 1970; Holdeman und Moore, 1974; Cato und Johnson, 1976) herausgestellten sieben Spezies mit Standort im Darmtrakt, nämlich *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. distasonis*, *B. vulgatus*, *B. uniformis*, *B. ovatus* und *B. eggerthii*, waren 1986 von Johnson et al. durch *B. caccae*, *B. merdae* und *B. stercoris* komplettiert worden, so daß die bereinigte Gattung *Bacteroides* 10 Spezies umfaßte (Shah und Collins, 1989); die Typspezies ist *Bacteroides fragilis*.

Charakterisiert ist die Gattung *Bacteroides* durch Kohlenhydratspaltung mit Acetat und Succinat als metabolischen Endprodukten, Wachstum bzw. sogar Wachstumsförderung in Gegenwart von 20 % Galle, Bildung von Malatdehydrogenase, Glutamatdehydrogenase, Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase und 6-Phosphoglukonatdehydrogenase, m-Diaminopimelinsäure im Zellwandpeptidoglykan, Menachinone mit 10 und/oder 11 Isopreneinheiten als respiratorische Chinone, Sphingolipidbildung, Vorhandensein von nichthydroxylierten sowie 3-hydroxylierten langkettigen Fettsäuren und einen Guanin+Cytosin-Gehalt der chromosomalen DNA von 39–48 mol % (Shah und Collins, 1989).

Zahlreiche ehemalige *Bacteroides*-Arten wurden seit 1982 in neugeschaffene Gattungen überführt, so z. B. *Mitsuokella* (Shah und Collins, 1982), *Tissierella* (Collins und Shah, 1986), *Porphyromonas* (Shah und Collins, 1988) und *Prevotella* (Shah und Collins, 1990). Zuvor als *Bacteroides gracilis*/*Campylobacter gracilis* identifizierte Isolate wurden 1996 von Wexler et al. als *Sutterella wadsworthensis* neu beschrieben.

Für einige Arten ist noch keine zutreffende taxonomische Einordnung gefunden; zu diesen Spezies gehören *B. putredinis*, *B. splanchnicus*, *B. forsythus* und *B. ureolyticus*.

Gattung *Prevotella*

Bei ihrer Erstbeschreibung (Shah und Collins, 1990) enthielt die Gattung *Prevotella* 16 Spezies; sie erhielt Zuzug durch *Prevotella nigrescens* (Shah und Garbia, 1992), *Prevotella tanneriae* sowie *Prevotella enoeca* (Moore et al., 1994) und *Prevotella dentalis* (Willems und Collins, 1995). Die Typspezies ist *Prevotella melaninogenica*.

Medizinisch, d. h. mikroökologisch als genitale Anaerobierspezies und infektiologisch als Mischinfektionserreger, ist *P. bivia* besonders wichtig. Unter den verschiedenen oralen Prevotella-Arten wird *P. intermedia* als parodontopathogene Spezies bevorzugt beachtet.

Die anaeroben gramnegativen sporenlosen unbeweglichen Stäbchen der Gattung Prevotella sind charakterisiert durch terminale pH-Werte von 4,5–5,2 in Glukosebouillon, Bildung von Acetat und Succinat als metabolische Endprodukte, Bildung von Malatdehydrogenase und Glutamatdehydrogenase, Fehlen von Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase und 6-Phosphoglukonatdehydrogenase, Vorhandensein von m-Diaminopimelinsäure im Zellwandpeptidoglykan, fakultatives Vorkommen von respiratorischen Menachinonen, Vorkommen von Sphingolipiden sowie nichthydroxylierten und 3-hydroxylierten Fettsäuren und durch einen Guanin+Cytosin-Gehalt der chromosomalen DNA von 40–60mol % (Shah und Collins, 1990).

16S rRNA-Analysen belegen, daß die Gattung Prevotella in der aktuellen Konzeption phylogenetisch homogen ist (Abb. 1).

Morphologie/Aufbau/Struktur

Im gramgefärbten Originalpräparat erscheinen *B. fragilis* und die anderen neun verwandten Arten als gramnegative sporenlose, gelegentlich aufgeblähte bzw. pleomorphe Stäbchen von 1,5–4 µm Länge und 0,6–1 µm Breite. In Nativpräparaten sind die Stäbchen unbeweglich. Isomorphie ist charakteristisch für die mikroskopische Morphologie von Bacteroides-Arten nach Wachstum auf Optimalmedien. In Präparaten von Kulturen auf antibiotikahaltigen Selektivmedien sind pleomorphe, aufgeblähte oder fadenförmige Zellen die Regel.

Bei *B. fragilis*, z. T. auch bei virulenten Stämmen anderer Bacteroides-Spezies, läßt sich eine Schleimkapsel nachweisen (Kasper et al., 1979). Manche, auch pathogenetisch relevanten Aktivitäten lassen sich mikromorphologisch differenzierbaren Strukturen zuordnen (Abb. 2).

Prevotella-Arten sind in gramgefärbten Originalpräparaten als kleine, kurze, kokkoide gramnegative sporenlose Stäbchen von 1–2,5 µm Länge und 0,5–1 µm Breite sichtbar. Pleomorphie und Fadenformen sind selten. Eine ähnliche Mikromorphologie zeigen Prevotella-Arten in Präparaten von anaeroben Oberflächenkulturen.

Die makroskopische Morphologie der Bacteroides-Arten läßt sich folgendermaßen charakterisieren: Nach dreitägiger anaerober Bebrütung auf bluthaltigen Optimalmedien haben die grauweißen, leicht gewölbten, ganzrandigen oder leicht gelappten Kolonien von *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* und *B. vulgatus* einen Durchmesser von 3–4 mm. Meist kleiner mit einem Durchmesser von 2–3 mm sind Kolonien von *B. distasonis*, *B. unifomis* und den anderen Bacteroides-Arten.

Epidemiologie

Zu den klinisch wichtigen Infektionssyndromen durch gramnegative sporenlose Anaerobier gehören Peritonitis und andere intraabdominelle Prozesse, pelvine Eiterungen, dental-medizinische und otorhinolaryngologische Prozesse, Aspirationspneumonie u.v.a., die alle endogen zustande kommen und über deren Häufigkeit mangels Meldepflicht keine genauen Daten vorliegen.

Bei endogenen Infektionen ist der Patient selbst, und zwar vor allem über seine florabesiedelten Schleimhäute, Quelle der Erreger. Von den verschiedenen Arten gramnegativer sporenloser Anaerobier findet sich nur ein geringer Teil im manifesten

Infektionsprozeß wieder. Das klassische Beispiel für eine ökologisch unbedeutsame, jedoch menschenvirulente Spezies ist *B. fragilis* (Werner, 1974).

Unterteilt man die endogenen Infektionen durch gramnegative sporenlose Anaerobier in a) habitatnahe und b) habitatferne Manifestationen, dann fallen kieferchirurgische Eiterungen und postappendizitische (perityphlitische) Abszesse unter a) und otogene Hirnabszesse durch *B. fragilis* sowie *P. intermedia*, von Hause aus als parodontopathogen eingeschätzt (Milson et al., 1996), als Mischinfektionskomponente in entzündeten Appendices (Schumacher et al., 1997) unter b).

Streng genommen exogen kommen Infektionen durch Bißverletzungen von Mensch zu Mensch zustande, wenn oropharyngeale gramnegative sporenlose Anaerobier des Täters in der Wunde des Opfers Erregernatur annehmen. In infizierten Hunde- und Katzenbissen finden sich dagegen animale beim Menschen nichtflorabildende Spezies (Alexander et al., 1997).

Pathogenität/Virulenz

Zahlreiche als Virulenzfaktoren gedeutete Aktivitäten bzw. Strukturen wurden bei *B. fragilis* gefunden (Tab. 1). Anderen, als weniger virulent oder apathogen einzustufenden Bacteroides-Arten fehlen einzelne oder mehrere dieser Faktoren. So ist *B. vulgatus* serumempfindlich, während *B. fragilis* Serumresistenz zeigt (Übersicht bei Werner, 1995).

Virulenzfaktoren – Enzyme

Neuraminidasebildung zeigen mehrere Bacteroides-Arten (*B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, *B. distasonis*) sowie *P. bivia*. Die Neuraminidase von *B. fragilis* und *P. bivia* unterscheiden sich durch ihr Substratprofil (Marx et al., 1980).

Fibrinolysin läßt sich bei *P. melaninogenica* sowie bei einem Teil der frisch isolierten *B. fragilis*-Stämme nachweisen. Extrazelluläre DNase-Aktivität ist bei Bacteroides- und Prevotella-Arten häufig (Steffen und Hentges, 1981). Hyaluronidase und Chondroitinsulfatase werden u. a. bei *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* und *B. distasonis*, nicht jedoch bei *B. vulgatus* gefunden. Als pathogenetisch wesentlicher Faktor gilt auch die Superoxiddismutase-Bildung und damit relative Sauerstoffunempfindlichkeit von *B. fragilis* (Übersicht bei Werner, 1985).

Die Elastase von *P. intermedia*, einer führenden parodontopathogenen Spezies, wird als wesentlicher Faktor des gingivalen Gewebeabbaus angesehen. Nach Shibata et al. (1993) handelt es sich um eine Serinprotease mit einer Molekülmasse von 31 kD. Da das gereinigte Enzym Elastinpulver, aber kein Kollagen abbaute und im übrigen typische synthetische Elastasesubstrate hydrolysierte, ist die Spezifität des Enzyms als hoch einzuschätzen (Shibata et al., 1993).

Kapselpolysaccharid und Lipopolysaccharid

Die extrazelluläre Polysaccharidkapsel von *B. fragilis* vermittelt der Spezies Phagozytoseschutz. Im Tierversuch erweisen sich bekapselte *B. fragilis*-Stämme ohne Koinfektion mit aeroben Bakterien als pyogen. Das Lipopolysaccharid von *B. fragilis* ist frei von 2-Keto-3-Desoxioctonat und biologisch wenig aktiv (Hofstad, 1980).

Fc-Rezeptor

Bei der schwarzpigmentierten Spezies *P. intermedia* wurde ein Oberflächenprotein mit Bindungsaktivität gegen die Fc-Domäne des IgG-Moleküls isoliert und als 65-kD-Protein charakterisiert (Labbé und Grenier, 1995). Elektronenmikroskopisch ließ sich eine gleichmäßige Verteilung des Fc-Rezeptors über die *Prevotella-intermedia*-Oberfläche zeigen. Die Fc-Bindungsaktivität wirkt nach Labbé und Grenier (1995) virulenzsteigernd durch Verhinderung von IgG-Reaktionen mit der bakteriellen Oberfläche.

Hämbindung

Bacteroides fragilis ist zur Verwendung von freiem Häm oder Häm aus Hämoglobin und aus Haptoglobin-Hämoglobin als einziger Eisenquelle befähigt (Otto et al., 1996). Die Außenmembran von *B. fragilis* ist für Häm undurchdringlich, weil die Diffusionsporen dieses Bakteriums Moleküle mit Molekülmassen über 500 D ausschließen (Kobayashi und Nakae, 1986). Demnach muß *B. fragilis* ein spezifisches Aufnahmesystem für Häm besitzen.

Ein Fe-repressibles 44-kD-Außenmembranprotein ist Teil dieses Systems (Otto et al., 1996). Virulente *B.-fragilis*-Stämme exprimieren das 44-kD-Protein sowohl in vivo als auch in vitro. Anderen, weniger virulenten *Bacteroides*-Arten fehlt das 44-kD-Protein (Otto et al., 1988). Bei der molekularen Charakterisierung des 44-kD-Proteins zeigte sich, daß dieses hämbindende Protein keine Homologie mit anderen bakteriellen Hämrezeptoren hat (Otto et al., 1996).

Adhärenzverhalten

Gattung *Bacteroides*

Was hat die bisherige Adhärenzforschung zur Erklärung des spezifisch intestinalen Standortes der *Bacteroides*-Arten sowie der Organinfektion und der Sepsis durch *B. fragilis* beigetragen?

Bei der klinisch wichtigsten Spezies der Gattung, *B. fragilis*, wurde Adhärenz an menschliche intestinale Epithelzellen (Brook und Mykal, 1991), peritoneale Mesothelzellen (Onderdonk et al., 1978), bukkale Epithelzellen (Oyston und Handley, 1991) und humane sowie animale Erythrozyten (Pruzzo et al., 1989) beschrieben. Die Adhäsine wurden morphologisch teils in Fimbrien (Pruzzo et al., 1984), teils in der Kapsel (Onderdonk et al., 1978) oder in Außenmembranschichten (Oyston und Handley, 1991) lokalisiert.

Mehrere Arbeitsgruppen untersuchten neben *B. fragilis* auch andere Spezies. Brook und Mykal (1991) gewannen von je einem *B.-fragilis*- und *B.-ovatus*-Stamm im Mäuseversuch durch Koinfektion mit *Klebsiella pneumoniae* bekapselte und fimbrientragende Formen, bei denen die Adhärenz an intestinale Epithelzellen besonders ausgeprägt war. In Versuchen von Vel et al. (1986) war nur *B. fragilis*, nicht jedoch *B. thetaiotaomicron*, *B. distasonis*, *B. ovatus* und *B. vulgatus*, imstande, humane und Hühnererythrozyten zu agglutinieren.

Adhäsinscharakterisierung durch Inhibition der Kaninchenerythrozytenagglutination gelang Decker et al. (1993) an 36 Stämmen von sechs *Bacteroides*-Arten. Fünf Stämme von *B. distasonis* banden an die drei Glykoproteine Fibronectin, Laminin und Mucin sowie an N-Acetylneuraminsäure. Fibronectin- und Lamininbindung zeigten nur zwei von fünf getesteten *B.-thetiaotaomicron*-Stämmen. Mit Hilfe eines Latexagglutinationstestes untersuchten Nagy et al. (1993) 132 Stämme von neun *Bacteroides*-Arten auf Fibronectin- und Vitronectinbindung (Tab. 2). Mit Vitronectin reagierten 31 Teststämme, vorwiegend Angehörige von *B. fragilis*, Fibronectinbindung zeigten alle getesteten 19 *B.-fragilis*- und 18 *B.-vulgatus*-Stämme. Ebenfalls den Latextest benutzten Eiring et al. (1995) zur Untersuchung

der Lamininbindung von acht *Bacteroides*-Arten. Während *B. fragilis* starke Lamininbindung zeigte, war bei den anderen Spezies keine oder nur schwache Adhärenz an dieses Extrazellulär-Matrix-Protein nachweisbar. Eiring et al. (1995) hielten einen Zusammenhang zwischen der Lamininadhärenz von *B. fragilis* und der Sepsisaktivität dieser Spezies für wahrscheinlich.

Gattung Prevotella

Bei den genitalen Arten *P. bivia* und *P. disiens* testeten Decker et al. (1993) mit Hilfe der Hämagglutinationsinhibition die Bindung an verschiedene Glykoproteine. Die fünf getesteten Stämme pro Spezies banden an Mucin und meist auch an Laminin und Fibronektin. An oralen Prevotella-Arten wurden bevorzugt die Grundlagen der interbakteriellen Adhärenz oder Koaggregation untersucht. Koaggregation mit verschiedenen Actinomyces-Arten sowie *Streptococcus sanguis* zeigen nach Kolenbrander et al. (1985) *P. buccalis*, *P. denticola*, *P. intermedia*, *P. oris* und *P. loescheii*. Die *Streptococcus-sanguis*- und *Actinomyces-israelii*-Adhäsine von *P. loescheii* ließen sich in den Fimbrien lokalisieren (Weiss et al., 1987) und als 75-kD- bzw. 45-kD-Proteine definieren (Weiss et al., 1988).

Enterotoxin von Bacteroides fragilis

Nachdem 1984 ein Zusammenhang zwischen der Diarrhö neugeborener Lämmer und bestimmten Stämmen von *B. fragilis* postuliert worden war (Myers et al., 1984), erschienen zunächst sporadisch (Myers et al., 1987), später zunehmend Berichte durch *B. fragilis*-Enterotoxin (Sack et al., 1994).

Kulturfiltrate von *B. fragilis* sowie gereinigtes Enterotoxin (in Dosen von $\geq 1\mu\text{g}$) stimulierten die Sekretion in abgebandenen Dünndarm- und Dickdarmschlingen verschiedener Tierarten. Das Enterotoxin von *B. fragilis* ist ein hitzelabiles Zinkmetalloprotease-Protein von annähernd 20 kD, das vermutlich als Protoxin in der Bakterienzellwand existiert (Moncrief et al., 1995). Das *B. fragilis*-Enterotoxin ist zwar reindargestellt und sequenziert, doch sind Zielstruktur und Wirkmechanismus in Darmepithelzellen noch unbekannt. In Kulturen von humanen intestinalen Epithelzellen ließ sich unter Einwirkung von gereinigtem Enterotoxin Zunahme des Zellvolumens und Neuverteilung des intrazellulären F-Actins nachweisen (Koshy et al., 1996).

Pathogenese und Klinik

Der Sauerstoffpartialdruck des gesunden Gewebes und das damit verbundene hohe Redoxpotential sind normalerweise ein wirksamer Schutz gegen Anaerobierinfektionen. Die Ansiedlung und Vermehrung von Anaerobiern werden erst bei entsprechender Erniedrigung des Redoxpotentials möglich. Ein wesentlicher Faktor ist, daß die Phagozytoseleistung der polymorphkernigen Granulozyten bei erniedrigtem Redoxpotential (Mandell, 1974) und pH-Wert (Namavar et al., 1987) vermindert ist. Damit synergieren mit den Pathogenitätsfaktoren der gramnegativen Anaerobier die Prädispositionsfaktoren des Wirtes, die zu einer Verminderung des Redoxpotentials führen. Brook (1995) evaluierte 336 *Bacteroides*-Spezies-Isolate aus 312 signifikanten Proben von 274 Kindern. Er fand bei 53 % der Kinder Prädispositionsfaktoren wie vorhergehende Operationen (n = 46), Trauma (n = 28), Malignome (n = 21), Frühgeburtlichkeit (n = 19), Immunsuppression (n = 18), Steroidtherapie (n = 12), Fremdkörper (n = 10), Diabetes (n = 9) und Sichelzellanämie (n = 7). Bei einer gleichartigen Erhebung bei 504 Prevotella- und Porphyromonas-Spezies aus 435 signifikanten

Proben bei 418 Kindern wurden nur bei 27 % der Fälle Prädispositionsfaktoren eruiert (Brook, 1995). Als weitere Faktoren kommen nach Werner (1985) der Schock, Angiopathien, Alkoholismus und Aminoglykosidtherapie, evtl. auch andere Formen der antibakteriellen Chemotherapie ohne Wirksamkeit gegen Anaerobier in Betracht (Abb. 3).

Anaerobierinfektionen – Mischinfektionen

Die klinisch wichtigen und häufig lebensbedrohlichen Infektionen durch gramnegative Anaerobier kommen endogen zustande. Dabei rekrutieren sich die Erreger aus den Standortflora benachbarter besiedelter Kompartimente. Die Keiminokulation kann direkt (z. B. Darmperforation bei Peritonitis) oder durch Verschleppung (z. B. Aspiration bei nekrotisierender Pneumonie) erfolgen. Die Infektionen können selten als Monoinfektion (= eine Spezies, z. B. *B. fragilis*) oder häufiger als rein anaerobe Mischinfektion (= ein oder mehr anaerobe Spezies) oder als anaerob-aerobe Mischinfektion auftreten. Bei abdominalen (Dunn und Simmons, 1984; Brook, 1995) und pelvinen (Eschenbach et al., 1975) Infektionen, aber auch bei Infektionen von Lunge und Thorax sind anaerob-aerobe Mischinfektionen die Regel. Bei der Appendizitis ist die Assoziation zwischen *B. fragilis* bzw. *B. thetaiotaomicron* und *Escherichia coli* bzw. Enterokokken vorherrschend. Dagegen sind es bei den pelvinen Infektionen in erster Linie *P. bivia* und *P. disiens* sowie andere pigmentierte und nicht pigmentierte Prevotella-Spezies, die zusammen mit *E. coli*, B-Streptokokken, Enterokokken oder auch Gonokokken anzutreffen sind. Bei der Cholezystitis und dem Gallengangsempyem finden sich neben Anaerobiern zumeist Klebsiella-Spezies, *E. coli* und vergrünende Streptokokken.

Die Koinfektion mit aeroben Erregern kann synergistische Effekte in der Infektionsgenese haben. So zeigten Shinzato und Saito (1994), daß *P. intermedia* das Wachstum von *Streptococcus constellatus* begünstigt und die bakterizide Aktivität von neutrophilen Granulozyten durch die Kombination beider Erreger gehemmt wird.

Peritonitis und intraabdominelle Abszesse

Die *B. fragilis*-Gruppe hat ihren natürlichen Standort im Ileum und Colon (Tab. 3). Die meisten Peritonitisfälle entstehen sekundär durch Eröffnung des Darmkanals, bzw. des weiblichen Genitaltraktes. Bei der Eröffnung der florabesiedelten Teile des Darmtraktes durch Trauma, Nahtdehiszenz nach operativen Darmanastomosen, durch Divertikulitis oder Appendizitis mit Perforation können aerobe und anaerobe Bakterienarten in die Peritonealhöhle eindringen. Dort werden die meisten Arten von Peritonealphagozyten eliminiert. Obwohl *B. vulgatus* im Darm der vorherrschende gramnegative Anaerobier ist, findet man diese Spezies nur selten bei Anaerobierinfektionen peritonealer Lokalisation. Leitkeim der Peritonitis ist *B. fragilis*, daneben auch *B. thetaiotaomicron*. Bei Peritonitiden, die von weiblichen Geschlechtsorganen ausgehen, wird *P. bivia* ebenfalls häufig als Infektionserreger isoliert. *Bacteroides fragilis* und *B. thetaiotaomicron* werden zudem regelmäßig bei Pyometra, Hirnabszessen, Meningitis nach otogenem Hirnabszeß und Sepsis angezüchtet.

Septische Streuung z. B. bei Osteomyelitiden (Brook und Frazier, 1992), aber auch autologe Schmierinfektion können die Infektion an anderen nichtintestinalen Lokalisationen begünstigen. ZNS-Infektionen, wie die Meningitis oder das subdurale Empyem, werden überwiegend durch otogene Fortleitung, posttraumatisch oder postoperativ verursacht (Finegold, 1977; Werner et al., 1970).

Orofaziale Infektionen

Von den pigmentierten gramnegativen Anaerobiern des Genus *Prevotella* sind *P. corporis*, *P. denticola*, *P. intermedia*, *P. loeschei*, *P. melaninogenica* und *P. nigrescens* Erreger bei Infektionen der Mundhöhle und der angrenzenden Gebiete. Die Besiedlung der Oropharyngealschleimhaut durch zahlreiche Anaerobierarten bildet eine potentielle Quelle für die Infektionen der angrenzenden Gewebe. Orofaziale und dentogene Infektionen sind daher häufig ebenfalls durch eine polybakterielle Ätiologie bedingt.

Prevotella melaninogenica, *P. denticola* und *P. loeschei* können zwar regelmäßig aus der Mundhöhle gesunder Menschen isoliert werden, aber nur selten aus Zahntaschen bei Parodontose (Wennström et al., 1987). Sie werden daher für die Parodontose als wenig relevant angesehen. Dagegen wird *P. intermedia* zusammen mit *Actinobacillus actinomycetemcomitans* und *Porphyromonas gingivalis* eine Beteiligung in der Ätiologie der Parodontose (Dahlen et al. 1990), der Gingivitis schwangerer Frauen (Kornmann, und Loesche, 1980) und der nekrotisierenden Gingivitis (Loesche et al., 1982) zugesprochen.

Durch Fortleitung kommt es auch hier zu extraoralen Infektionen. Bei einem Patienten mit einer chronischen Konjunktivitis durch *P. intermedia* wurde mittels Restriktionslängen-Polymorphismus die klonale Identität mit Stämmen, die aus dem Mund des gleichen Patienten isoliert wurden, gezeigt (Winkelhof et al., 1991). Nicht zuletzt führen pigmentierte *Prevotella*-Arten neben *Fusobakterien* und *Porphyromonas*-Arten auch bei menschlichen und tierischen Bißverletzungen zur Infektion.

Die gallempfindlichen, nichtpigmentierten anaeroben gramnegativen Stäbchen werden an den gleichen Orten isoliert, wie die pigmentierten (Kirby et al., 1980). *Prevotella oris* und *P. buccae* werden sowohl bei oralen (Haapsalo, 1986) als auch bei pleuropulmonalen (Marina et al., 1993) Mischinfektionen angezüchtet. Die folgenden Spezies der *P.-oralis*-Gruppe sind dort ebenfalls vertreten: *P. oralis*, *P. veroralis*, *P. buccalis* und *P. oulorum* (Shah et al. 1990).

Anaerobe Lungeninfektionen

Vorherrschende Erreger sind hier neben *Fusobakterien* und *Peptostreptokokken* Keime aus der *Prevotella-oralis*-Gruppe und die schwarzpigmentierten *Prevotten*. Die Aspiration, z. B. infolge von Narkose, Alkoholismus, Oesophagusdysfunktion und Tonsillektomie, steht pathogenetisch im Vordergrund. Lokale Hypoxämie, bzw. Gewebenekrosen als Prädispositionsfaktoren werden durch Bronchialkarzinom, Bronchiektasien, Fremdkörper, Lungeninfarkt und Thorakotomie erzeugt.

Weiterhin treten anaerobe Lungeninfektionen besonders häufig im Gefolge von extrapulmonalen Anaerobierinfektionen wie Parodontitis, Otitis, Sinusitis, Mastoiditis, intraabdominellen Infektionen und Adnexitis auf. Klinisch können sich die anaeroben Lungeninfektionen als Pneumonie, nekrotisierende Pneumonie, Lungenabszeß, Empyem mit oder ohne nachweisbare Parenchyminfektion oder als multiple Abszesse nach septischer Streuung darstellen. Bei der Entleerung von Parenchymabszessen in die Bronchien kommt es zur Kavernenbildung. In manchen Fällen bleiben bronchopulmonale Fisteln bestehen.

Genitaltraktinfektionen

Die Erreger von Infektionen des weiblichen Genitaltraktes und des kleinen Beckens rekrutieren sich vornehmlich aus der Zervixflora. In erster Linie findet man dort nichtpigmentierte *Prevotten* und darunter *P. bivia* und *P. disiens* als Leitkeime neben Aerobiern wie *E. coli* und Gruppe-B-Streptokokken. Einen Überblick über die pelvinen Infektionen der Frau, an deren Genese sie beteiligt sein können gibt Tabelle 4. Anaerobe

Mischinfektionen treten auf als Komplikation nach Kürettage, bei Spiralträgerinnen, nach Geburten und Operationen im kleinen Becken (Finegold et al., 1992). Die Besiedlung der Zervixschleimhaut ist in der zweiten Zyklushälfte dichter als in der Lutealphase des Zyklus. Dies könnte der Grund dafür sein, daß die Inzidenz manifester Infektionen nach Hysterektomien in der ersten Zyklushälfte höher liegt als in der zweiten Zyklushälfte.

Anzucht und Identifizierung

Probenentnahme

Eitrige Exsudate, Eiter und andere flüssige Proben sollten entweder in ein steriles Schraubverschlußgefäß oder in einer Spritze, die mit einem Luerstopper verschlossen ist, schnellstmöglich zum klinisch-mikrobiologisch tätigen Labor eingesandt werden. An Abstrichsysteme, z. B. Port-a-Cul, Fa. Becton Dickinson, die für gramnegative Anaerobier geeignet sind, werden gesonderte Anforderungen gestellt, siehe Tabelle 5.

Die Transportzeit sollte so kurz wie möglich sein, um das Absterben empfindlicher gramnegativer Anaerobier zu vermeiden, bzw. ein Überwuchern durch schneller wachsende aerober oder fakultativ anaerober Erreger zu verhindern.

Ansatz

Signifikante Proben, d. h. Materialien, die normalerweise keine Florabesiedlung aufweisen, sollten stets anaerob angesetzt werden. Für gramnegative Anaerobier hat sich hierfür ein Glukose-Hefe-Extrakt-Cystein-Agar, sowie Kochblutagar und als Selektivagar für gramnegative Anaerobier, insbesondere der *B.-fragilis*-Gruppe, aber auch der Prevotella-Arten, der Kanamycin-Vancomycin-Agar bewährt. Als Anreicherungsbouillon kommt die Rosenow-Bouillon, Leberbouillon nach Tarozzi oder die Thioglycolatbouillon in Frage.

Die beimpften Platten sollten zügig in Anaerobiertöpfe, z. B. von Becton Dickinson oder Anaero Jar™ Fa. Oxoid mit einer anaeroben Atmosphäre eingebracht werden. Unter den Gasentwicklern zeigt das Anaerogen™ (Fa. Oxoid) im Vergleich zum Anaerocult® A (Fa. Merck) und anderen Systemen die schnellste Reduktion des Sauerstoffgehalts (Imhof und Heinzer, 1996) (Abb. 4).

Schnellste Errichtung einer anaeroben Atmosphäre liefern Geräte, die nach der „Evakuierungs-Befüllungsmethode“ arbeiten, z. B. Anoxomat (Fa. Mart Systeme), bei der mehrfach Luftgemische abgesaugt werden und diese durch ein Gasgemisch von 85 % N₂, 10 % CO₂ und 5 % H₂ ersetzt werden (Finegold et al. 1993), (Abb. 5).

Die anaerobe Atmosphäre muß mittels eines Indikatorsystems, z. B. auf Methylenblau-Basis (Anaerotest®, Fa. Merck) oder anderen Farbindikatoren (Anaerobierindikator BR 55, Oxoid) überprüft werden. Das Einstellen beimpfter Platten in CO₂-durchströmte Gefäße bis zur endgültigen Beschickung der Anaerobiertöpfe kann das Absterben O₂-empfindlicher Keime hinausschieben.

Identifizierung

Wachstum ist bei Erregern aus der *B.-fragilis*-Gruppe nach zwei bis drei Tagen, bei Prevotellen nach zwei bis vier Tagen, manchmal auch später, zu erwarten. Nachdem gramnegative Stäbchen im Grampräparat verifiziert wurden, kann mit einer Einzelkolonie eine CMC-Bouillon, aus der später die Antibiotikatestung, Bunte Reihe und

Gaschromatographie durchgeführt wird, beimpft. Eine zeitgleiche aerobe und anaerobe Aussaat, z. B. auf Schafblutagar, bildet die Reinheitskontrolle und zeigt bei aeroben Wachstum, das es sich nicht um Anaerobier handelt.

Da die schwarzpigmentierten Prevotellen die Pigmente am schnellsten – und manchmal nur – in den Hämolysezonen von *S. aureus* zeigen, sollte bei der Abimpfung auf Blutplatten mit verschiedenen Blutsorten (Schaf, Pferde, Kaninchen und Menschenblut) ein *S.-aureus*-Stamm mit aufgeimpft werden.

In die anaerobe Aussaat kann ein mit Galle getränktes Plättchen (Anaerodisc, BioMérieux) eingelegt werden. Das Wachstum aller Spezies der *B.-fragilis*-Gruppe wird durch die Anwesenheit von Galle gefördert (Galle resistent), während Prevotella-Spezies durch die Anwesenheit von Galle im Wachstum gehemmt werden (Galle sensibel). In diesem Falle bildet sich um das Galleplättchen ein Hemmhof, wobei die Größe des Hofes nicht ausschlaggebend ist.

Konventionelle Bunte Reihe

Die Identifizierung der saccharolytischen gramnegativen Anaerobier stützt sich im wesentlichen auf den Kohlenhydratabbau, Nitratabbau und die Indolbildung aus Tryptophan.

Die Medien zur Prüfung des Kohlenhydratabbaus sollten vorreduziert werden. Dies ist bei dem kommerziell erhältlichen PRAS-System (Carr Scarborough Microbiologicals Inc., USA) der Fall. Die beimpften Medien müssen bis zu zehn Tagen bebrütet werden, um ausreichendes Wachstum zu gewährleisten. Der Zuckerabbau wird mittels pH-Meter gemessen. Farbumschläge von Farbindikatoren liefern zu ungenaue Meßwerte.

Weiterhin können sich Farbindikatoren wachstumshemmend auf gramnegative Anaerobier auswirken. Darüber hinaus können anaerobe Verhältnisse, aber auch die Erreger selbst, die Farbindikatoren reduzieren und falsch positive Ergebnisse verursachen (Thomas und Werner, 1983).

In der Regel werden Systeme zur Messung des Kohlenhydratabbaus von Erregern der *B.-fragilis*-Gruppe auf pH-Werte unter 5,5 angesäuert. PH-Werte von 5,5–6,0 gelten als indifferent und pH-Werte über 6,0 als negativ. Indifferente pH-Werte sollten in Relation zu den positiven Werten interpretiert werden. Bei *B. fragilis*, der beim Laktoseabbau einen pH-Wert von 4,6 erreicht, gilt ein pH-Wert von 5,8 bei anderen Zuckern bereits als negativ.

Zusammensetzung der Bunten Reihe

Die konventionelle Bunte Reihe für gramnegative Anaerobier prüft die Fähigkeit zum fermentativen Abbau von Arabinose, Cellobiose, Fruktose, Glukose, Laktose, Maltose, Mannose, Melezitose, Raffinose, Rhamnose, Saccharose, Salicin, Trehalose, Xylose und Äskulin. Bei der letzteren wird neben der Säurebildung mittels pH-Wert-Messung auch die Hydrolyse mit Hilfe der Fällungsreaktion durch wenige Tropfen einer 1%igen Ammonium-Eisen-III-Zitrat-Lösung nachgewiesen.

Die Gelatineverflüssigung durch Proteolyse ist vor allem bei der Differenzierung der Prevotellen behilflich. Voraussetzung ist die Prüfung dieser Reaktion bei Temperaturen unter 22°C, z. B. nach viertelstündiger Kühlung im Kühlschrank, da die Gelatine bei Temperaturen über 22°C schon ohne vorherige Proteolyse flüssig wird. Ein unbeimpftes Gelatineröhrchen ist zum Vergleich mitzuführen.

Differenzierung der *Bacteroides-fragilis*-Gruppe

Mit Hilfe des Indolnachweises wird die *B.-fragilis*-Gruppe in zwei Gruppen unterteilt. Indol-positiv sind *B. stercoris*, *B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus*, *B. uniformis*, *B. eggerthii* und im weiteren Sinne *B. splanchnicus*. Indol-negativ sind *B. fragilis*, *B. vulgatus*, *B. distasonis*, *B. caccae* und *B. merdae*.

Unter den Indol-negativen Spezies trennt die fehlende Fermentation von Arabinose und Trehalose *B. fragilis* von *B. vulgatus* (Arabinose-positiv und Trehalose-negativ) sowie von den übrigen Indol-negativen Spezies.

Bacteroides distasonis, *B. caccae* und *B. merdae* sind Trehalose-positiv, alle *B.-caccae*-Stämme sind Arabinose-positiv. Johnson et al., 1986 berichten, daß auch 14 % aller *B.-distasonis*-Stämme Arabinose fermentieren können und daher nicht eindeutig mit dieser Fermentationsleistung von *B. caccae* unterschieden werden können. *Bacteroides-caccae*-Stämme haben in der Speziesbeschreibung von Johnson et al., 1986 eine negative Katalasereaktion. In kommerziellen Identifizierungssystemen, z. B. API 20 A, wird die Katalaseproduktion bei *B.-caccae*-Stämmen allerdings mit 16–40 % angegeben und kann damit ebenfalls nicht als Differenzierungsmerkmal zu *B. distasonis* (> 95 % Katalase-positiv, Citron et al., 1990) herangezogen werden. Diese Differenzen werden mit methodologischen Abweichungen in den Untersuchungen begründet (Citron et al., 1990). Der Nachweis des Enzyms α -D-Fucosidase ist letztendlich einzig sicheres Kriterium zur Unterscheidung von *B. caccae* (α -D-Fucosidase-positiv) und *B. distasonis* (α -D-Fucosidase-negativ).

Mit Hilfe der genannten Fermentationsleistungen, bzw. dem Enzymnachweis läßt sich ein dichotomes Schema zur Differenzierung Indol-negativer Spezies aus der *B.-fragilis*-Gruppe erstellen (Abb. 6).

Bei den Indol-positiven Stämmen wird *B. ovatus* durch sein Vermögen Rhamnose, Trehalose und Xylan (Cooper et al., 1985) zu fermentieren von *B. thetaiotaomicron* (nur Rhamnose- und Trehalose-positiv) sowie von *B. uniformis*, *B. stercoris*, *B. eggerthii* und *B. splanchnicus* klar differenziert. Die letzten drei Spezies können zusätzlich mit Hilfe ihres Vermögens Salicin und Saccharose zu fermentieren identifiziert werden (Tab. 6).

Differenzierung der Gattung *Prevotella*

Prevotella-Spezies besitzen eine Malatdehydrogenase, Glutamatdehydrogenase aber im Gegensatz zur *B.-fragilis*-Gruppe keine Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase und 6-Phosphoglukonatdehydrogenase. Ihr Wachstum wird durch Anwesenheit von 20 % Galle gehemmt.

Die saccharolytischen nichtpigmentierten *Prevotellen* lassen sich in pentosefermentierende und -nichtfermentierende Spezies aufteilen. Üblicherweise wird zum Pentosefermentationsnachweis die Fermentation von Arabinose und Xylose getestet. Anstelle der Fermentation selbst, die durch schwaches Wachstum in der Testbouillon falsch negativ ausfallen kann, wird auch der β -Xylosidase-Nachweis direkt geführt. Zu den pentosefermentierenden Spezies gehören *P. oris*, *P. buccae*, *P. zoogloiformans*, *P. heparinolytica* und *P. dentalis* (früher *Mitsuokella dentalis*). *Prevotella oris* und *P. buccae* können durch den Nachweis der α -Fucosidase und der N-Acetyl- β -Glukosaminidase differenziert werden: *P. oris* besitzt beide Enzyme, *P. buccae* nicht (Johnston et al., 1987).

Prevotella zoogloiformans und *P. heparinolytica* werden durch den Indolnachweis von *P. heparinolytica* unterschieden.

Prevotella dentalis bildet auf Blutagar typische wassertröpfchenförmige Kolonien. Von den anderen pentosefermentierenden *Prevotella*-Spezies wird sie durch ihr Nichtvermögen, Äskulin zu hydrolysieren, unterschieden.

Salicin, Cellobiose und Xylan sind Schlüsselzucker für die Differentialdiagnose von *P. oralis*, *P. buccalis*, *P. veroralis* und *P. oulorum* (Tab. 7). *Prevotella oulorum* ist außerdem Katalase-positiv und Lipase-positiv (Moore et al., 1991).

Prevotella bivia und *P. disiens* sind nicht nur beide saccharolytisch, sondern auch proteolytisch. Gelatine wird meist binnen 2–3 Tagen proteolysiert. Während *P. bivia* Laktose spaltet, wird dieser Zucker durch *P. disiens* nicht abgebaut.

Die Pigmentierung der *Prevotella*-Spezies variiert in ihrer Intensität und der Schnelligkeit der Pigmentproduktion in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Mediums und der Art des zugesetzten Blutes. In der Hämolysezone eines β -hämolisierenden *S.-aureus*- oder *S.-epidermidis*-Stammes zeigt sich eine solche Pigmentierung am schnellsten.

Schlüsselreaktionen zur Differentialdiagnose der pigmentierten Prevotellen sind Cellobiose (*P. loescheii* baut Cellobiose ab, alle anderen pigmentierten Spezies nicht), Laktose (*P. corporis*, *P. intermedia*, *P. nigrescens* negativ, alle anderen positiv), Indolbildung (*P. loescheii*, *P. intermedia* und *P. nigrescens* positiv, alle anderen negativ) und Äskulinhydrolyse (Tab. 8).

Prevotella denticola und *P. melaninogenica* zeigen fast gleiche biochemische Reaktionsmuster. Während *P. denticola* jedoch regelmäßig Äskulin hydrolysiert, ist diese Reaktion bei *P. melaninogenica* meist negativ. *Prevotella intermedia* und *P. nigrescens* lassen sich nur mittels molekularbiologischer Typisierungsmethoden zuverlässig trennen (Frandsen et al., 1995; Milsom et al. 1996).

Gaschromatographie

Standardmedien für die Gaschromatographie sind die Pepton-Hefeextrakt- (PYG) und die Chopped-Meat-Bouillon (CMC). Da die Fettsäuren in der Bouillon erst angereichert werden müssen, sollte die Bebrütungszeit dem Wachstum der zu prüfenden Spezies angepaßt werden. Dies ist bei der *B.-fragilis*-Gruppe nach zwei bis drei Tagen, bei den Prevotellen nach fünf bis sieben, manchmal auch erst nach zehn Tagen anaerober Bebrütung der Fall.

Während die einzelnen Spezies der *B.-fragilis*-Gruppe in der Gaschromatographie nicht differenzierbar sind, da alle Bacteroides-Arten aus dieser Gruppe Essigsäure, Propionsäure, Isobuttersäure und Isovaleriansäure bilden, gehört die Methode in erster Linie bei der Prevotellen-Differenzierung zum diagnostischen Standard.

Hier dient die Gaschromatographie nicht nur der Bestätigung des biochemischen Identifizierungsergebnisses, sondern bei schwach ausgeprägten Reaktionsmustern auch der intraspezifischen Differentialdiagnose (Tab. 7 und 8) und bei asaccharolytischen Reaktionsmustern der Abgrenzung gegen andere asaccharolytische gramnegative Anaerobier wie Porphyromonas-Spezies, bei denen in der Gaschromatographie einheitlich Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Isobuttersäure und Isovaleriansäure nachgewiesen wird.

Miniaturisierte Identifizierungsverfahren

Verschiedene miniaturisierte Systeme zur Identifizierung von gramnegativen Anaerobiern sind auf dem Markt. Das API 20 A (BioMérieux) liefert Ergebnisse in 24–48 Stunden und hat eine computergestützte Datenbasis.

Schnellere Identifizierungsergebnisse stützen sich auf den Nachweis präformierter Enzyme. Dazu gehören das RapID ANA II (Innovative Diagnostic Systems, Inc.), Rapid ID 32 A (BioMérieux), Vitek-ANI-Karten (Vitek Systems) AN-Ident und API Zym (BioMérieux) sowie BBL-Crystal (Becton Dickinson). Die Identifizierungsleistung dieser Systeme variieren von mäßig bis gut (Burlage et al., 1985, Mitch und Appelbaum, 1989, Schreckenberger et al., 1988).

Eiring und Manncke prüften 1996 die Identifizierungsleistung von Rapid ID 32 A und Vitek-ANI-Karten an 230 Anaerobiern, von denen 92 zur *B.-fragilis*-Gruppe gehörten und 70 aus der Gattung *Prevotella* stammten. Während im Rapid ID 32 A 92 % der Stämme sowohl auf Gattungsebene, als auch auf Speziesebene richtig identifiziert wurden, geschah dies bei den Vitek-ANI-Karten bei 82 %. Bei der Identifizierung der *B.-fragilis*-Gruppe kann das Rapid ID 32 A bei der gegenwärtigen Version 3.0 des Keimdatenbasensystems nicht zwischen *B. ovatus* und *B. uniformis* differenzieren (King und Phillips, 1996). Hier ist eine Zusatzreaktion z. B. Prüfung der Xylanfermentation (Tab. 9) nötig.

Schwierigkeiten bei der Identifizierung gramnegativer Anaerobier mit Hilfe der Schnellidentifizierungssysteme ergeben sich vor allem bei solchen Spezies, die nicht in der Keimdatenbasis der Identifizierungssysteme enthalten sind. Bei dem Rapid ID 32 A sind dies *P. oris*, *P. dentalis*, *P. heparinolytica*, *P. zooglyphiformans*, *P. oulorum*, *P. veroralis*, *P. corporis*.

Eine erweiterte Keimdatenbasis hat das BBL Crystal. Während es bei der Identifizierung von Erregern der *B.-fragilis*-Gruppe gute Ergebnisse zeigt, werden bei der Identifizierung von *Prevotella*-Arten ebenfalls Zusatzreaktionen gebraucht (Moll et al., 1996).

Das API Zym System hat zwar keine Datenbasis, kann jedoch 19 präformierte Enzyme nachweisen und ist als Ergänzung der anderen miniaturisierten Systeme und der konventionellen Bunten Reihe eine wertvolle Hilfe für die Identifizierung gramnegativer Anaerobier.

Resistenztestung gramnegativer Anaerobier

Aufgrund der langen Wachstumszeiten der gramnegativen Anaerobier kommt das Antibiotogramm für die initiale Therapie meist zu spät. Daher muß meist erst einmal kalkuliert anbehandelt werden. Die kalkulierte Chemotherapie richtet sich zum einen nach der Infektionslokalisation und den dort vorherrschenden Anaerobiern bzw. bei einer Mischinfektion auch der aeroben Erreger und nach Kenntnissen über die allgemeine Antibiotika-Empfindlichkeit einzelner Arten.

Für das Infektionsmanagement einzelner Patienten sollten grundsätzlich alle als pathogen bekannten Anaerobier, insbesondere die Arten der *B.-fragilis*-Gruppe und der pigmentierten und nicht pigmentierten *Prevotella*-Spezies, getestet werden. Die Testung gibt zudem Aufschluß über Empfindlichkeitsmuster gegen neuere Antibiotika, auch im überregionalen Vergleich (Finegold et al., 1988).

Zur Verfügung stehen dafür der Bouillondilutionstest, der Agardilutionstest, der Mikrobouillondilutionstest sowie neuerdings der E-Test und die Spiralgradientenendpunktbestimmung.

Die Ergebnisse sind nicht nur vom Testkeim, der Testsubstanz und Testmethode, sondern auch von der Anaerobiose, der Medienzusammensetzung und dem Medium-pH sowie von der Stabilität der Antibiotika in den Testmedien abhängig.

Der Agardilutionstest hat eine hohe Reproduzierbarkeit, ist jedoch mit einem hohen Arbeitsaufwand und Kosten verbunden. Daher wird diese Testmethode als

Routinetestmethode für gramnegative Anaerobier nur selten angewandt. Eine Alternative für die Routinetestung sind Mikrobouillonteste, z. B. Sceptor-System (Becton Dickinson), jedoch ergaben sich bei einem Vergleich von vier verschiedenen Medien für diese Methode, auch in Abhängigkeit der gewählten Antibiotika, für die *B. fragilis*-Gruppe teilweise diskrepante Unterschiede im Vergleich zu der Agardilutionsmethode als Referenzmethode (Aldrige und Sanders, 1987).

Abgelesen wird im allgemeinen nach 48stündiger Inkubation. Eine längere Bebrütung kann eine extensive Verringerung, speziell von β -Laktamantibiotika, zur Folge haben und in falsch hohen MHK-Werten resultieren.

Eine neuere Methode, die einfach durchzuführen ist, stellt der E-Test dar, bei dem ein Filterpapierstreifen, der auf der einen Seite mit einem kontinuierlichen Antibiotikakonzentrationsgradienten versehen ist und auf der anderen Seite eine dazu korrespondierende Skala hat, die bis zu 15 Verdünnungsstufen aufweist, auf eine mit dem Erreger vorinokulierten Agarplatte aufgelegt wird. Nach 24–48 Stunden anaerober Inkubation wird der Wert, bei dem noch Wachstum zu erkennen ist, als MHK-Wert abgelesen. Citron et al. (1991) fanden bei der *B. fragilis*-Gruppe nach 48 Stunden Inkubation auf supplementiertem Brucella-Agar und Wilkins-Chalgren-Agar 86 % Konkordanz innerhalb einer Abweichung von einer Verdünnungsstufe und 97 % innerhalb zweier Verdünnungsstufen mit dem Agardilutionstest als Referenzmethode. Bei Wüst et al. (1992) betrug diese Konkordanz sogar 91 %, respektive 98 %. Auch die Teste langsamwachsender gramnegativer Anaerobier können durch die Verwendung von Supplementiertem Brucella-Agar nach 48stündiger Inkubation abgelesen werden.

Bei der Spiralgradientenmethode wird mittels eines Spiralplaters eine Antibiotikallösung in einer kontinuierlichen Verdünnung kreisförmig auf die Agarplatte aufgetragen. Die zu testenden Erreger werden radiär zweimal im Strich aufgeimpft, so daß sie gegenüber liegen. Nach 48stündiger Bebrütung wird abgelesen. Wexler et al. (1996) fanden für diese Methode im Vergleich zum Agardilutionstest innerhalb einer Verdünnungsstufe Abweichung eine Übereinstimmung für *B. fragilis* bei 93 % der 282 durchgeführten Testungen und für *B. thetaiotaomicron* bei 94 % der 269 Testungen.

Aufgrund des technischen Aufwandes und der Kosten für die apparativen Voraussetzungen dieser Methode wird sie vorläufig nur Speziallaboratorien vorbehalten bleiben.

Therapie von Anaerobierinfektionen

Eitrige Infektionen durch gramnegative Anaerobier werden zwar primär chirurgisch saniert, jedoch bei Organinfektionen, Aspirationspneumonie, Sepsis, Endokarditis, Meningitis und Peritonitis bietet die Chemotherapie eine wertvolle Ergänzung, von der das Leben des Patienten abhängen kann. Hier müssen dann neben der Anaerobierwirksamkeit auch pharmakokinetische Eigenschaften des Antibiotikums, wie Gewebepenetration, Wirksamkeit bei sauren pH-Werten, berücksichtigt werden. Da die meisten Anaerobierinfektionen Mischinfektionen mit aeroben Erregern darstellen, muß auch an eine Inaktivierung des Chemotherapeutikums durch aerobe Keime mit resultierender Anaerobierunwirksamkeit gedacht werden.

Penicillin, Ampicillin, Mezlocillin und Piperacillin sind aktiv gegen etwa 70 % aller Prevotella- und Porphyromonas-Stämme, aber nur gegen 5–20 % aller Stämme der *B. fragilis*-Gruppe. Der Mechanismus dieser Resistenz beruht auf einer β -Laktamaseproduktion. Kombinationen aus einem β -Laktamantibiotikum und einem β -Laktamasenhemmer sind dagegen bis auf einige wenige Ausnahmen, die durch eine Metallo- β -Laktamase bedingt sein kann, die nicht durch Clavulansäure gehemmt wird (Bandoh et al. 1993; Yotsuji et al., 1983),

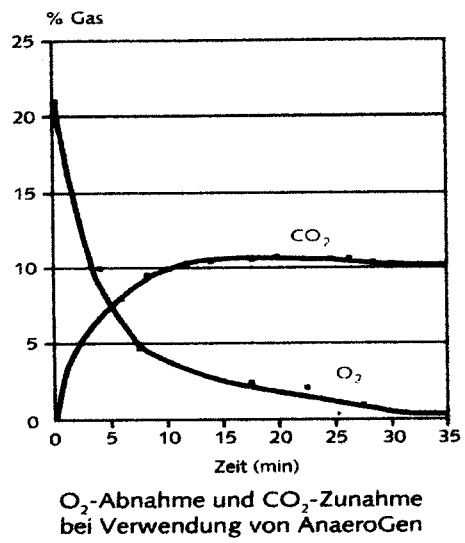


Abb. 6/1:
Darstellung der O₂-Abnahme und CO₂-Zunahme in Abhängigkeit von der Zeit bei Verwendung von AnaeroGen™ (Fa. Oxoid).

wirksam. Weitere Resistenzmechanismen gegen β -Laktamantibiotika sind Veränderungen der Penicillinbindepoteine mit verringerter Affinität des Antibiotikums und Veränderungen in Membrantunnelproteinen mit verringerter Penetration in den Extrazellularraum des Bakteriums.

Cefoxitin und Clindamycin sind wirksam gegen 70–80 % der Isolate aus der *B. fragilis*-Gruppe (Dias et al., 1986).

Unter den Spezies der *B. fragilis*-Gruppe ist *B. fragilis* die empfindlichste Spezies. Cefotetan, ein Cephalosporin, welches Cefoxitin ähnlich ist, war in der Studie von Diaz et al. (1986) wirksam gegen *B. fragilis*, aber weniger wirksam gegen *B. distasonis*, *B. ovatus* und *B. thetaiotaomicron*.

Rodloff et al. testeten 1992 in einer Multicenterstudie 911 konsekutiv isolierte Stämme aus der *B. fragilis*-Gruppe. Imipenemresistenz zeigte sich nur bei 3 Stämmen. Damit sind Carbapeneme ebenfalls als anaerobierwirksam anzusehen.

Die Aktivität von Gyrasehemmern gegen gramnegative Anaerobier gilt als geringer (Kresken et al., 1987; Ruckdeschl et al., 1987). Appelbaum et al. testeten 1992 496 β -Laktamase bildende Stämme gramnegativer Anaerobier auf ihre Empfindlichkeit auf Amoxicillin, Temafloxacin und Clindamycin. Temafloxacin und Clindamycin zeigten eine gute in vitro Aktivität (98 % der Stämme sensibel gegenüber Clindamycin, 95 % der Stämme sensibel gegenüber Temafloxacin). Die MHK-Werte β -Laktamase-negativer Stämme der Gattung *Bacteroides* und *Prevotella* lagen signifikant unter denen der β -Laktamase-positiven Stämme, was mit einer generalisierten Permeabilitätsabnahme bei β -Laktamase-positiven Stämmen erklärt wurde. Bei der Testung von 55 *Bacteroides*-Stämmen und 17 *Prevotella*-Stämmen zeigte der wegen toxischer Effekte nicht zum therapeutischen Einsatz gekommene Gyrasehemmer Temafloxacin eine im Vergleich zu Ofloxacin und Ciprofloxacin höhere und dem Clindamycin gleichwertige Wirksamkeit (Schumacher et al., 1995). Damit zeigt sich, daß strikte Anaerobier nicht grundsätzlich aus dem Wirkspektrum der Fluorochinolone herausfallen müssen (Goldstein und Citron, 1992). Die Anaerobierwirksamkeit neuerer Chinolone bleibt abzuwarten.

Die Verwendung eines anaerobierspezifischen Chemotherapeutikums wie Metronidazol, welches die Nukleinsäuresynthese anaerober Bakterien hemmt und auf solche Erreger bakterizid wirkt, erscheint als Mittel der Wahl für Infektionen durch gramnegative Anaerobier. Auch wenn nur wenige *Bacteroides*-Isolate, mit Resistenz gegen Metronidazol beschrieben wurden (Fox und Phillips, 1987; Reyssset et al., 1992), muß berücksichtigt werden, daß Mischinfektionen mit aeroben Bakterien eine kombinierte Bekämpfung aerober und anaerober Erreger notwendig macht. Klinisch wirkungsarm sind daher Kombinationen aus einem β -Laktamantibiotikum und einem β -Laktamaseninhibitor, wie z. B. Amoxicillin/Clavulansäure, Ampicillin/Sulbactam und auch Piperacillin/Tazobactam.

Literatur

- Aldrige, K.E. und C.V. Sanders. (1987). Antibiotic – and method – dependent variation in susceptibility testing results of *Bacteroides fragilis* group isolates. *J. Clin. Microbiol.* **25**, S. 2317–2321.
- Alexander, C.J., Citron, D.M., Hunt Gerardo, S., Claros, M.C., Talan, D. und E.J.C. Goldstein. (1997). Characterization of saccharolytic *Bacteroides* and *Prevotella* isolates from infected dog and cat bite wounds in humans. *J. Clin. Microbiol.* **35**, S. 406–411.
- Appelbaum, P.C., Spangler, S.K., Shiman, R. und M.R. Jacobs. (1992). Susceptibilities of 540 anaerobic gram-negative bacilli to Amoxicillin, Amoxicillin-BRL 42715, Amoxicillin-Clavulanate, Temafloxacin, and Clindamycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* **36**, S. 1140–1143.

- Bandoh, K., Ueno, K., Watanabe, K. und N. Kato. (1993). Susceptibility patterns and resistance to imipenem in the *Bacteroides fragilis* group species in Japan: a 4-year study. *Clin. Infect. Dis.* **16**, S. 382–386.
- Brook, I. und M.L. Myhal. (1991). Adherence of *Bacteroides fragilis* group species. *Infect. Immun.* **59**, S. 742–744.
- Brook, I. (1995). *Bacteroides* infections in children. *J. Med. Microbiol.* **43**, S. 92–98.
- Brook, I. (1995). *Prevotella* and *Porphyromonas* infections in children. *J. Med. Microbiol.* **42**, S. 340–347.
- Brook, I. (1995). Microbiology of gastrostomy site wound infections in children. *J. Med. Microbiol.* **43**, S. 221–223.
- Brook, I. und E.H. Frazier. (1993). Anaerobic osteomyelitis and arthritis in a military hospital: a 10 year experience. *Am. J. Med.* **94**, S. 21–28.
- Burlage, R. S. und P.D. Ellner. (1985). Comparison of the PRAS II, AN-Ident, and RapID-ANA systems for identification of anaerobic bacteria. *J. Clin. Microbiol.* **22**, S. 32–35.
- Cato, E.P. und J.L. Johnson. (1976). Reinstatement of species rank of *Bacteroides fragilis*, *B. ovatus*, *B. distasonis*, *B. thetaiotaomicron* and *B. vulgatus*: designation of neotype strains for *Bacteroides fragilis* (Veillon and Zuber) Castellani and Chalmers and *Bacteroides thetaiotaomicron* (Distaso) Castellani and Chalmers. *Int. J. Syst. Bact.* **26**, S. 230–237.
- Citron, D.M., Baron, E.J., Finegold, S.M., und E.J.C. Goldstein. (1990). Short prerduced anaerobically sterilized (PRAS) biochemical scheme for identification of clinical isolates of bile-resistant *Bacteroides* species. *J. Clin. Microbiol.* **28**, S. 2220–2223.
- Citron, D. M., Ostovari, M. I., Karlsson A. und E. J. Goldstein. (1991). Evaluation of the E test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. *J. Clin. Microbiol.* **29**, S. 2197–2203.
- Collins, M.D. und H.N. Shah. (1986). Reclassification of *Bacteroides praeacutus* Tissier (Holdeman and Moore) in a new genus, *Tissierella*, as *Tissierella praeacuta* comb. nov. *Int. J. Syst. Bact.* **36**, S. 461–463.
- Cooper S.W., Pfeiffer, D.G. und F.P. Tally. (1985). Evaluation of xylan fermentation for the identification of *Bacteroides ovatus* and *Bacteroides thetaiotaomicron*. *J. Clin. Microbiol.* **22**, S. 125–126.
- Dahlen, G., Wikström, M., Renvert, S., Gmür, R. und B. Guggenheim. (1990). Biochemical and serological characterisation of *Bacteroides intermedius* strains isolated from the deep periodontal pocket. *J. Clin. Microbiol.* **28**, S. 2269–2274.
- Decker, E.M., Krätzer, A., Schumacher, U., Manncke, B. und H. Werner. (1993). Adhäsion-Nachweis bei *Bacteroides*- und *Prevotella*-Arten durch Hämagglutinations-Inhibition. *Lab. Med.* **17**, S. 533–537.
- Dias, M.B.S., Jacobus, N.V., Tally, F.P. und S.L. Gorbach. (1986). Activity of cefotetan against anaerobic bacteria. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **4**, S. 359–363.
- Dunn, D.L. und R.L. Simmons. (1984). The role of anaerobic bacteria in intraabdominal infections. *Rev. Infect. Dis.* **6**, S. 139–146.
- Eiring, P. und B. Manncke. (1996). Identifizierung von klinisch relevanten Anaerobiern der Gattungen *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium* und *Peptostreptococcus* mit den Schnell-Identifizierungssystemen Rapid ID 32 A und Vitek-ANI – Vergleich mit der konventionellen Methode. *J. Lab. Med.* **20**, S. 403–412.
- Eiring, P., Manncke, B., Gerbracht, K. und H. Werner. (1995). *Bacteroides fragilis* adheres to laminin significantly stronger than *Bacteroides thetaiotaomicron* and other species of the genus. *Zbl. Bakt.* **282**, S. 279–286.
- Eschenbach, D.A., Buchanan, T.M., Pollock, P.S., Forsyth, P.S., Alexander, E.R., Lin, J.-S., Wang, S.-P., Wentworth, B., McCormack, W.M. und K.K. Holmes. (1975). Polymicrobial etiology of acute pelvic inflammatory disease. *New Engl. J. Med.* **193**, S. 166–171.
- Finegold, S.M. (1977). Anaerobic bacteria in human disease. Academic Press, New York.
- Finegold, S.M. and the National Committee For Clinical Laboratory Standards Working Group On Anaerobic Susceptibility Testing. (1988). Susceptibility testing of anaerobic bacteria. *J. Clin. Microbiol.* **26**, S. 1253–1256.
- Finegold S.M., Jousimies-Somer H.R. und H.M. Wexler. (1993). Current perspectives on anaerobic infections. *Inf. Dis. Clin. North Am.* **7**, S. 257–275.

- Frandsen, E.V.G., Poulsen, K. und M. Kilian. (1995). Confirmation of the species *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *Int. J. Syst. Bact.*, **45**, S. 429–435.
- Haapsalo, M. (1986). *Bacteroides buccae* and related taxa in necrotic root canal infections. *J. Clin. Microbiol.* **24**, S.940–944.
- Hamman, R. und H. Werner. (1983). Guanine-plus-cytosine content and production of phenylacetic acid by *Bacteroides putredinis* (Weinberg et al., 1937) Kelly (1957) and *Bacteroides splanchnicus* Werner et al. (1975). *Int. J. Syst. Bact.* **33**, S. 120–121.
- Hofstad, T. (1980). Lipopolysaccharides from anaerobic gram-negative rods. *Infection* **8** Suppl. 2, S. 136–137.
- Holdeman, L.V. und W.E.C. Moore. (1974). New genus, *Coprococcus*, twelve new species, and emended descriptions of four previously described species of bacteria from human feces. *Int. J. Syst. Bact.* **24**, S. 260–277.
- Imhof, A. und I. Heinzer. (1996). Continuous monitoring of Oxygen Concentrations in several systems for cultivation of anaerobic bacteria. *J. Clin. Microbiol.* **34**, S. 1646–1648.
- Johnson J.L., Moore C.E.W. und L.V.H. Moore. (1986). *Bacteroides caccae* sp. nov., *Bacteroides merdae* sp. nov., and *Bacteroides stercoris* sp. nov. isolated from human feces. *Int. J. Syst. Bact.* **36**, S. 499–501.
- Johnston, B.L., Edelstein, M.A., Holloway E.Y. und S.M. Finegold. (1987). Bacteriologic and clinical study of *Bacteroides oris* and *Bacteroides buccae*. *J.Clin. Microbiol.* **25**, S. 491–493.
- Kasper, D.L., Onderdonk, A.B., Polk, B.F. und J.G. Bartlett. (1979). Surface antigens as virulence factors in infection with *Bacteroides fragilis*. *Rev. Infect. Dis.* **1**, S. 278–288.
- King, A. und J. Phillips. (1996). Evaluation of the Rapid ID 32 A system for the identification of the *Bacteroides fragilis* group. *Clin. Microbiol. Inf.* **2**, S. 115–122.
- Kitch ,T.T. und P.C. Appelbaum.(1989). Accuracy and reproducibility of the 4-hour ATB 32A method for anaerobe identification. *J. Clin. Microbiol.* **27** S. 2509–2513.
- Kirby, B.D., George, W.L., Sutter, V.L., Citron, D.M. und S.M. Finegold. (1980). Gram-negative anaerobic bacilli: their role in infection and patterns of susceptibility to antimicrobial agents. I. Little-known *Bacteroides* species. *Rev. Infect. Dis.* **2**, S.914–951.
- Kobayashi, Y. und T. Nakae. (1986). The permeability property of the outer membrane of *Bacteroides fragilis*, a strictly anaerobic opportunistic pathogen. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **141**, S. 292–298.
- Kolenbrander, P.E., Andersen, R.N. und L.V. Holdeman. (1985). Coaggregation of oral *Bacteroides* species with other bacteria: central role in coaggregation bridges and competitions. *Infect. Immun.* **48**, S. 741–746.
- Kornmann, K.S. und W.J. Loesche. (1980). The subgingival microflora during pregnancy. *J. Periodontal Res.* **15**, S. 111–122.
- Koshy, S.S., Montrose, M.H., und C.L. Sears. (1996). Human intestinal epithelial cells swell and demonstrate actin rearrangement in response to the metalloprotease toxin of *Bacteroides fragilis*. *Infect. Immun.* **64**, S. 5022–5028.
- Kresken, M. und B. Wiedemann. (1987). Empfindlichkeit klinischer Isolate gegenüber 4-Chinolon-Carbonsäuren. *Fortschr. Antimicrob. Antineopl. Chemother.* **6–10**, S. 1711–1717.
- Labbé, S. und D. Grenier. (1995). Characterization of the human immunoglobulin G Fc-binding activity of *Prevotella intermedia*. *Infect. Immun.* **63**, S. 2785–2789.
- Loesche, W.J., Syed, S.A., Laughon, B.G. und J. Stoll. (1982). The bacteriology of acute necrotizing ulcerative gingivitis. *J. Periodontol.* **53**, S. 223–230.
- Mandell, G.C. (1974). Bacterial activity of aerobic and anaerobic polymorphnuclear neutrophils. *Infect. Immun.* **2**, S. 337–341.
- Marina, M., Strong, C.A., Civen, R., Molitoris, E. und S.M. Finegold. (1993). Bacteriology of anaerobic pleuropulmonary infections: preliminary report. *Clin. Infect. Dis.* **16**, Suppl. 4, S. 256–262.
- Marx, A., von Nicolai, H., Hamman, R. und F. Zilliken. (1980). Purification and properties of a new neuraminidase from *Bacteroides bivius*. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **361**, S. 300–301.
- Milson, S.E., Sprague, S.V., Dymock, D., Weightman, A.J. und W.G. Wade. (1996). Rapid differentiation of *Prevotella intermedia* and *P. nigrescens* by 16S rDNA PCR-RFLP. *J. Med. Microbiol.* **44**, S. 41–43.

- Moll, W. M., Ungerechts, J., Marklein, G. und K.P. Schaal. (1996). Comparison of BBL Crystal ANR ID Kit and API rapid ID 32 A for identification of anaerobic bacteria. *Zbl. Bakt.* **284**, S. 329–347.
- Moore, L.V.H., Cato, E.P. und W.E.C. Moore. (1991). Anaerobe laboratory manual update: a supplement to the VPI anaerobe laboratory manual. 4th ed. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Va.
- Moore, L.V.H., Johnson, J.L. und W.E.C. Moore. (1994). Descriptions of *Prevotella tanneri* sp. nov. and *Prevotella enoea* sp. nov. from the human gingival crevice and emendation of the description of *Prevotella zoogloformans*. *Int. J. Syst. Bact.* **44**, S. 599–602.
- Moncrief, J.S., Obiso, R., Barroso, L.A., Kling, J.J., Wright, R.L., Van Tassel, R.L., Lyster, D.N. und T.D. Wilkins. (1995). The enterotoxin of *Bacteroides fragilis* is a metalloprotease. *Infect. Immun.* **63**, S. 175–181.
- Myers, L.L., Firehammer, B.D., Shoop, D.S. und M.M. Border. (1984). *Bacteroides fragilis*: a possible cause of acute diarrheal disease in newborn lambs. *Infect. Immun.* **44**, S. 241–244.
- Myers, L.L., Shoop, D.S., Stackhouse, L.L., Newman, F.S., Flaherty, R.J., Letson, G.W. und R.B. Sack. (1987). Isolation of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* from humans with diarrhoea. *J. Clin. Microbiol.* **25**, S. 2330–2333.
- Nagy, E., Manncke, B. und H. Werner. (1994). Fibronectin and vitronectin binding of *Bacteroides fragilis* and eight other species of the genus. *Zbl. Bakt.* **281**, S. 235–239.
- Namavar, F., Verweij-Van Vught, A.M.J.J., Bal, M. und D.M. MacLaren. (1987). Effect of *Bacteroides fragilis* cellular components on chemotactic activity of polymorphonuclear leucocytes towards *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol.* **24**, S. 119–124.
- Onderdonk, A.B., Noon, N.E., Kasper, D.L. und J.G. Bartlett. (1978). Adherence of *Bacteroides fragilis* in vivo. *Infect. Immun.* **19**, S. 1083–1087.
- Otto, B.R., Kusters, J.G., Luirink, J., De Graaf, F.K. und B. Oudega. (1996). Molecular characterization of a heme-binding protein of *Bacteroides fragilis* BE 1. *Infect. Immun.* **64**, S. 4345–4350.
- Otto, B.R., Verweij-Van Vught, A.M.J.J., Doorn, V.J. und D.M. MacLaren. (1988). Outer membrane proteins of *Bacteroides fragilis* and *Bacteroides vulgatus* in relation to iron uptake and virulence. *Microb. Pathog.* **4**, S. 279–287.
- Oyston, P.C.F. und P.S. Handley. (1991). Surface components of *Bacteroides fragilis* involved in adhesion and haemagglutination. *J. Med. Microbiol.* **34**, S. 51–55.
- Pruzzo, C., Dainelli, B. und M. Richetti. (1984). Piliated *Bacteroides fragilis* strains adhere to epithelial cells and are more sensitive to phagocytosis by human neutrophils than nonpiliated strains. *Infect. Immun.* **43**, S. 189–199.
- Pruzzo, C., Guzmán und B. Dainelli. (1989). Incidence of hemagglutination activity among pathogenic and non-pathogenic *Bacteroides fragilis* strains and role of capsule and pili in HA and adherence. *FEMS Microbiology Letters* **59**, S. 113–118.
- Rodloff, A.C., Werner, H., Kresken, M., Jansen, A. und the German *Bacteroides* study group. (1992). German multicentre study on the in vitro susceptibility of *Bacteroides* species. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **11**, S. 1074–1080.
- Ruckdeschl, G., Ehret, W., Pfaller, P. und I. Veigl. (1987). Vergleichende Untersuchungen in vitro zur Wirkung von sieben Chinolonderivaten gegenüber anaeroben Bakterien. *Fortschr. Antimikrob. Antineopl. Chemother.* **6–10**, S. 1767–1776.
- Sack, R.B., Albert, M.J., Alam, K., Neogi, P.K.B. und M.S. Akbar. (1994). Isolation of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* from Bangladeshi children with diarrhea: a controlled study. *J. Clin. Microbiol.* **32**, S. 960–963.
- Schreckenberger, P.C., Celig, D.M. und W.M. Janda. (1988). Clinical evaluation of the Vitek ANI card for identification of anaerobic bacteria. *J. Clin. Microbiol.* **26**, S. 225–230.
- Schumacher, U.K., Manncke, B. und H. Werner. (1995). In-vitro-Wirksamkeit von Chinolonen gegenüber 139 Anaerobiern – Vergleich von Ciprofloxacin, Ofloxacin und Temafloxacin mit Clindamycin, Metronidazol und Cefotaxim. *Chemotherapie Journal* **4**, S. 208–210.
- Schumacher, U.K., Eiring, P. und F.-M. Häcker. (1997). Incidence of *Bilophila wadsworthia* in appendiceal, peritoneal and fecal samples from children. *Clin. Microbiol. Infect.* **3**, S. 134–136.

- Shah, H.N. und M.D. Collins. (1982). Reclassification of *Bacteroides multiacidus* (Mitsuoka, Terada, Watanabe and Uchida) in a new genus *Mitsuokella*, as *Mitsuokella multiacidus* comb. nov. Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. C 3, S. 491–494.
- Shah, H.N. und M.D. Collins. (1988). Proposal for reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis*, and *Bacteroides endodontalis* in a new genus, *Porphyromonas*. Int. J. Syst. Bact. **38**, S. 128–131.
- Shah, H.N. und M.D. Collins. (1989). Proposal to restrict the genus *Bacteroides* (Castellani and Chalmers) to *Bacteroides fragilis* and closely related species. Int. J. Syst. Bact. **39**, S. 85–87.
- Shah, H.N. und M.D. Collins. (1990). *Prevotella*, a new genus to include *Bacteroides malaninogenicus* and related species formerly classified in the genus *Bacteroides*. Int. J. Syst. Bact. **40**, S. 205–208.
- Shah, H.N. und S.E. Gharbia. (1992). Biochemical and chemical studies on strains designated *Prevotella intermedia* and proposal of a new pigmented species, *Prevotella nigrescens* sp. nov. Int. J. Syst. Bact. **42**, S. 542–546.
- Shibata, Y., Fujimura, S. und T. Nakamura. (1993). Purification and partial characterization of an elastolytic serine protease of *Prevotella intermedia*. Appl. Environm. Microbiol. **59**, S. 2107–2111.
- Shinzato, T. und A. Saito. (1994). A mechanism of pathogenicity of „*Streptococcus milleri* group“ in pulmonary infection: synergy with an anaerobe. J. Med. Microbiol. **40**, S. 118–123.
- Steffen, E.K. und D.J. Hentges. (1981). Hydrolytic enzymes of anaerobic bacteria isolated from human infections. J. Clin. Microbiol. **14**, S. 153–156.
- Tanner, A.C.R., Listgarten, M.A., Ebersole, J.L. und M.N. Strzempko. (1986). *Bacteroides forsythus* sp. nov., a slow-growing, fusiform *Bacteroides* sp. from the human oral cavity. Int. J. Syst. Bact. **36**, S. 213–221.
- Thomas, F.P. und H. Werner. (1983). Untersuchungen über die Brauchbarkeit eines miniaturisierten Anaerobieridentifizierungssystems – Vergleich mit der konventionellen Methode an 230 Stämmen. Wehrmed. Mschr. **27**, S. 275–285.
- van Winkelhoff, A.J., Abbas, F., Pavicic, M.J.A.M.P. und J. de Graaff. (1991). Chronic conjunctivitis caused by oral anaerobes and effectively treated with systemic metronidazol plus amoxycillin. J. Clin. Microbiol. **29**, S. 723–725.
- Vel, W.A.C., Namavar, F., Marian, A. Verweij-van Vught, J.J., Pubben, A.N.B. und D.M. MacLaren. (1986). Haemagglutination by the *Bacteroides fragilis* group. J. Med. Microbiol. **21**, S. 105–107.
- Wennström, J., Dahlen, G., Svensson, J. und S. Nyman. (1987). *Actinobacillus actinomycetem comitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius*. Predictors for periodontal disease? Oral Microbiol. Immun. **2**, S. 158–163.
- Weiss, E.I., Kolenbrander, P.E., London, J., Hand, A.R. und R.N. Andersen. (1987). Fimbria-associated proteins of *Bacteroides loeschei* PK 1295 mediate intergeneric coaggregations. J. Bacteriol. **169**, S. 4215–4222.
- Weiss, E.I., London, J., Kolenbrander, P.E., Andersen, R.N., Fischler, C. und R.P. Sirnganian. (1988). Characterization of monoclonal antibodies to fimbria-associated adhesins of *Bacteroides loeschei* PK 1295. Infect. Immun. **56**, S. 219–224.
- Werner H. (1974). Differentiation and medical importance of saccharolytic intestinal *Bacteroides*. Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) **24**, S. 340–343.
- Werner, H. Anaerobier-Infektionen – Pathogenese, Klinik, Therapie, Diagnostik. Thieme, Stuttgart-New York, 2. Auflage 1985.
- Werner, H., Neuhaus, F. und C. Reichertz. (1970). Otogener Hirnabszeß durch die darmbewohnende *Bacteroides*-Art *B. fragilis*. Dtsch. med. Wschr. **95**, S. 343–345.
- Wexler, H.M., Molitoris, E., Murray, P.R., Washington, J., Zabransky, R.J., Edelstein, P.H. und S.M. Finegold. (1996). Comparison of spiral gradient endpoint and agar dilution methods for susceptibility testing of anaerobic bacteria: a Multilaboratory collaborative evaluation. J. Clin. Microbiol. **34**, S. 170–174.
- Wexler, H.M., Reeves, D., Summanen, P.H., Molitoris, E., McTeague, M., Duncan, J., Wilson K.H. und S.M. Finegold. (1996). *Sutterella wadsworthensis* gen. nov. sp. nov., bile resistant microaerophilic *Campylobacter gracilis*-like clinical isolates. Int. J. Syst. Bact. **46**, S. 252–258.
- Willems, A. und M.D. Collins. (1995). 16 S rRNA gene similarities indicate that *Hallela seregens* (Moore and Moore) and *Mitsuokella dentalis* (Haapasalo et al.) are genealogically highly related

- and are members of the genus *Prevotella*: emended description of the genus *Prevotella* (Shah and Collins) and description of *Prevotella dentalis* comb. nov. *Int. J. Syst. Bact.* **45**, S. 832–836.
- Wüst, J. und U. Hardegger. (1992). Comparison of the E test and a reference agar dilution method for susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **11**, S. 1169–1173.
- Yotsuji, A., Minami, S., Inoue, M. und S. Mitsuhashi. (1983). Properties of novel β -lactamase produced by *Bacteroides fragilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **24**, S. 925–929.

Anschrift der Verfasser:

Dr. med. L. Zabel
Prof. Dr. med. H. Werner
Abteilung Medizinische Mikrobiologie
der Universität Tübingen
Silcherstraße 7
72076 Tübingen

Tabelle 1 Als Virulenzfaktoren betrachtete Aktivitäten bzw. Strukturen von *B. fragilis*

Merkmal	Vorkommen
Serumresistenz	+
Relative Resistenz gegen PMN-Phagozytose	+
Kapselbildung	+ oder -
Endotoxin, Lipid A	+
Neuraminidase	+
Fibrinolysin	- oder +
DNase	+
Lysozymresistenz	+
Relative Sauerstoffunempfindlichkeit	+

Tabelle 2 Bindung an Adhäsionsproteine im Latexagglutinationstest (nach Nagy et al., 1993)

Bacteroidesspezies	[n]	Fibronectinbindung		Vitronectinbindung	
		+	-	+	-
<i>B. fragilis</i>	19	19	0	15	4
<i>B. thetaiotaomicron</i>	21	4	17	1	20
<i>B. ovatus</i>	21	2	19	7	14
<i>B. vulgatus</i>	18	18	0	6	12
<i>B. distasonis</i>	9	2	7	-	9
<i>B. uniformis</i>	12	-	12	-	12
<i>B. caccae</i>	15	1	14	2	13
<i>B. stercoris</i>	14	-	14	-	14
<i>B. merdae</i>	3	-	3	-	3

Tabelle 3 Natürlicher Standort sacharolytischer gramnegativer Anaerobier der Gattung Prevotella und Bacteroides

Oral	Genital	Intestinal
<i>P. oralis</i>	<i>P. bivia</i>	<i>B. vulgatus</i>
<i>P. oris</i>	<i>P. disiens</i>	<i>B. thetaiotaomicron</i>
<i>P. buccae</i>		<i>B. distasonis</i>
<i>P. buccalis</i>		<i>B. fragilis</i>
<i>P. veroralis</i>		<i>B. uniformis</i>
<i>P. zooglyphiformans</i>		<i>B. ovatus</i>
<i>P. heparinolytica</i>		<i>B. eggerthii</i>
<i>P. oulorum</i>		<i>B. caccae</i>
<i>P. dentalis</i>		<i>B. merdae</i>
		<i>B. stercoris</i>
		<i>B. splanchnicus</i> (nicht zur <i>B.-fragilis</i> -Gruppe gehörend)
Schwarzpigmentiert		
<i>P. melaninogenica</i>		
<i>P. denticola</i>		
<i>P. loeschei</i>		
<i>P. intermedia</i>		
<i>P. nigrescens</i>		
<i>P. corporis</i>		

Tabelle 4 Infektionen der Frau, bei denen häufig gramnegative Anaerobier beteiligt sind (nach H. Werner, 1984)

Endometritis
Pyometra
Myometritis
Parametritis
Douglas Abszeß und andere Abszesse im kleinen Becken
Thrombophlebitis im kleinen Becken
Salpingitis, Pyosalpinx
Ovarialabszeß
Peritonitis
Bartholinitis
Wundinfektion, Wundabszeß
Septikämie
Metastatische Infektion (z. B. Lungenabszesse bei septischem Abort)
Chorioamnionitis
Intrauterine Infektion
(Neugeboreneninfektion)

Tabelle 5 Anforderung an ein Abstrichsystem für gramnegative Anaerobier

kein Austrocknen
kein Verdünnen
kein Wachstum
kein O ₂ -Einfluß
Kontrollmöglichkeit auf O ₂ -Freiheit
kein Platzen von Zellen
keine Schädigung von Keimen durch Substanzen, die mit der Probe eingebracht werden
keine Schädigung durch UV-Strahlung
Aufrechterhaltung des Grundstoffwechsels

Tabelle 6 Differenzierung und Identifizierung Indol-positiver Bacteroides-Spezies nach Citron et al., 1990

Spezies	Trehalose	Rhamnose	Xylan	Salicin	Saccharose
<i>B. ovatus</i>	+	+	+	+	+
<i>B. thetaiotaomicron</i>	+	+	-	-	+
<i>B. uniformis</i>	V(W)	V(W)	V	+	+
<i>B. stercoris</i>	-	+	-	-	+
<i>B. eggerthii</i>	-	+	-	-	-
<i>B. splanchnicus</i>	-	-	-	-	-

+, > 95 % der getesteten Stämme waren positiv; -, > 95 % der getesteten Stämme waren negativ; V, variabler Testausfall; W, schwach positiv in jedem Test

Tabelle 7 Differenzierung und Identifizierung nichtpigmentierter *Prevotella*-Arten nach Finegold, 1995

Spezies	Indol	Äskulin-hydrolyse	Arabinose	Cellobiose	Glukose	Laktose	Salicin	Saccharose	Xylose	Xylan	α -Fucosidase	β -Xylosidase	Gaschromatographie
<i>P. buccae</i>	-	+	+	+	+	+	+	W	V	-	+	+	A (pibiv)
<i>P. oris</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	A (pibiv)
<i>P. dentalis</i>	-	V	+	+	+	+	-	+	+	-	-	V	A
<i>P. heparinolytica</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	A (piv)
<i>P.</i>	-	+	V	+	+	+	V	+	V	+	+	+	AP/p (ibiv)
zoogloiformans													
<i>P. buccalis</i>	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	aiv
<i>P. oralis</i>	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	A
<i>P. oulorum</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	A
<i>P. veroralis</i>	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	ab
<i>P. bivia</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	Aiv (ib)
<i>P. disiens</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	A (pibiv)

+, > 95 % der getesteten Stämme waren positiv; -, > 95 % der getesteten Stämme waren negativ; V, variabler Testausfall; W, schwach positiv in jedem Test. A, Essigsäure; P, Propionsäure; B, Buttersäure; IB, Isobuttersäure, IV, Isovaleriansäure. Große Buchstaben stehen für einen hohen Anteil an Fettsäuren, kleine für einen geringen Anteil. In Klammern stehen variable Reaktionsausfälle in der Gaschromatographie.

Tabelle 8 Differenzierung und Identifizierung pigmentierter *Prevotella*-Arten nach Finegold, 1995

Spezies	Indol	Äskulin-hydrolyse	Lipase	Cellobiose	Glukose	Laktose	Saccharose	α -Fucosidase	β -Galaktosidase	Gaschromatographie
<i>P. corporis</i>	-	-	-	-	+	-	-	+	-	Aibiv (b)
<i>P. denticola</i>	-	+	-	+	+	+	+	+	+	A (ibiv)
<i>P. intermedia</i>	+	-	+	-	+	-	+	+	-	Aiv (ib)
<i>P. loeschei</i>	-	+	V	+	+	+	+	+	+	A/aibiv
<i>P. melaninogenica</i>	-	+	-	+	+	+	+	+	+	A (ibiv)
<i>P. nigrescens</i>	+	-	+	-	+	-	+	+	-	Aiv (pib)

+, > 95 % der getesteten Stämme waren positiv; -, > 95 % der getesteten Stämme waren negativ; V, variabler Testausfall; +, meistens positiv; -, meistens negativ. Große Buchstaben stehen für einen hohen Anteil an Fettsäuren, kleine für einen geringen Anteil. In Klammern stehen variable Reaktionsausfälle in der Gaschromatographie.

Tabelle 9 Reaktionsausfälle für die *B.-fragilis*-Gruppe in der konventionellen Bunten Reihe, angeglichen an das Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Cooper et al., 1985, Johnson et al., 1986 und Citron et al., 1990

	<i>B. fragilis</i>	<i>B. vulgatus</i>	<i>B. distasonis</i>	<i>B. caccae</i>	<i>B. merdae</i>	<i>B. stercoris</i>	<i>B. thetaiotaomicron</i>	<i>B. ovatus</i>	<i>B. uniformis</i>	<i>B. eggerthii</i>	<i>B. splanchnicus</i>
Arabinose	-	+	-	+	++	++	+	+	+W	+	+
Cellobiose	-W	-	+	+	W-	++	+	+	+	-W	-
Fruktose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-W	d
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Laktose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+W	+	-
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+W	+	+
Melezitose	-	-	+	+	+	-	d	+-	-	-	-
Raffinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Rhamnose	-	+	+	+	+W	+	+	+W	-	-W	-
Saccharose	+	+	+	+	+	+	+	+	+W	-	-
Salicin	-	-	+	+	+W	-	+	+	+	-	-
Trehalose	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Äskulin pH	+-	-	W+	W	W-	++	W+	W+	+-	-W	-
Hydrolyse	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indol	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Gelatine	-W	+	-W	d	-W	-	-W	d	-	-	+-
KNO ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylan	-	++	-	-	-	V	-	+	V	+	ND
Katalase	+-	-	+-	-	+-	-	+-	+-	+-	-	-
Inulin	d	+-	+	+	W	+	d	d	+W	-	-
α -Fucosidase	97	85	2	97	46	17	75	31	85	10	+

+ bedeutet positiver Reaktionsausfall; - bedeutet negativer Reaktionsausfall; w, schwach positiv; +-, meistens positiv; ++, meistens negativ; V, variable Reaktionen. Die Zahlen für den α -D-Fucosidase-Nachweis beziehen sich auf die in der Literatur angegebenen Prozent getesteter Stämme.

Abbildung 1 Phylogenetischer Baum der Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas-Gruppe aufgrund von 16S rRNA-Homologien (nach Willems und Collins, 1995)

Abbildung 2 *Bacteroides fragilis*: Schematische Darstellung von Strukturen und Aktivitäten (modifiziert nach Werner, 1985)

Abbildung 3 Prädispositionsfaktoren, die eine Anaerobierinfektion begünstigen (nach Werner, 1985)

Abbildung 4 Darstellung der O₂-Abnahme und CO₂-Zunahme in Abhängigkeit von der Zeit bei Verwendung von AnaeroGen™ (Fa. Oxoid)

Abbildung 5 Bei der Evakuierungs-Befüllungs-Methode (Fa. Mart Systeme) wird das Luftgemisch bis zu einem Druck von 750 mBar abgesaugt und durch ein Gasgemisch von 85 % N₂, 10 % CO₂ und 5 % H₂ ersetzt. Nach dreimaligem Ablauf dieses Vorgangs ist eine anaerobe Atmosphäre vorhanden.

Abbildung 6 Dichotomes Schema zur Identifizierung von indolnegativen Bacteroides-Spezies

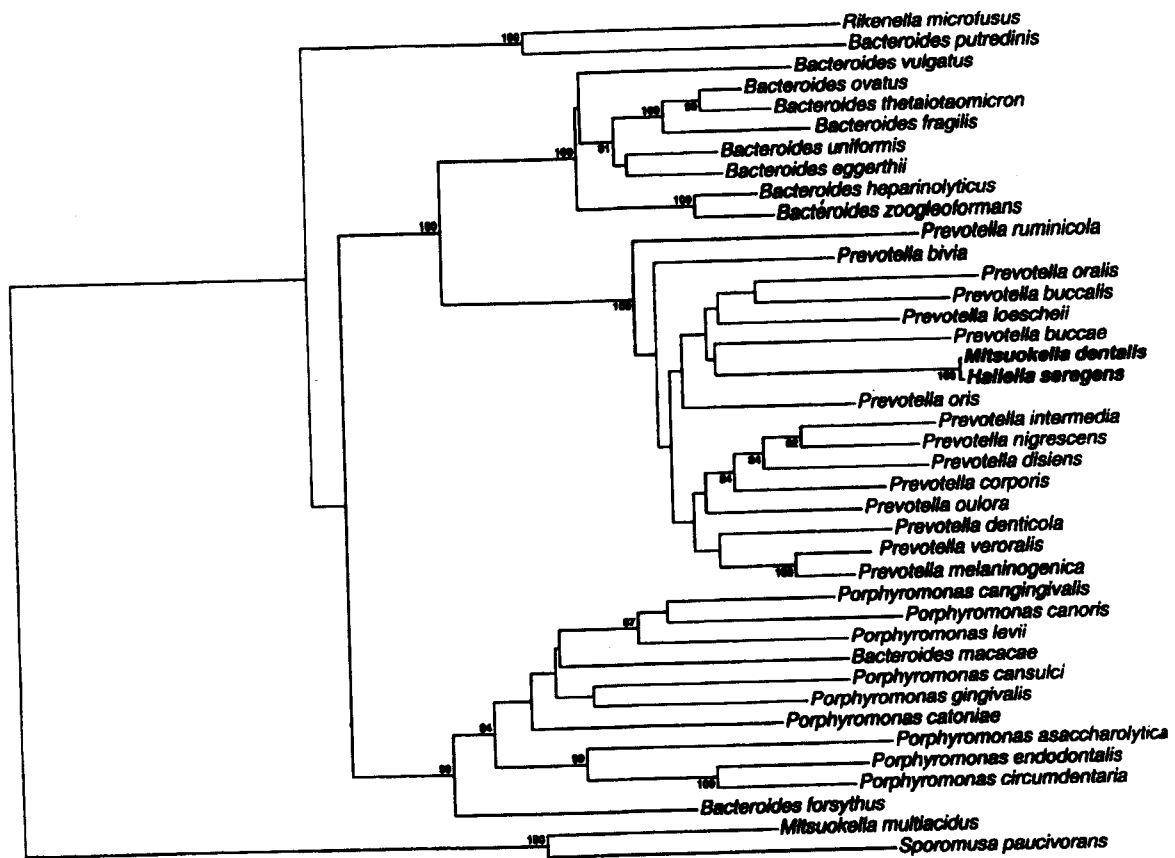


Abb.1/1:
Phylogenetischer Baum der Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas-Gruppe aufgrund von 16S rRNA-Homologien (nach Willems und Collins, 1995)

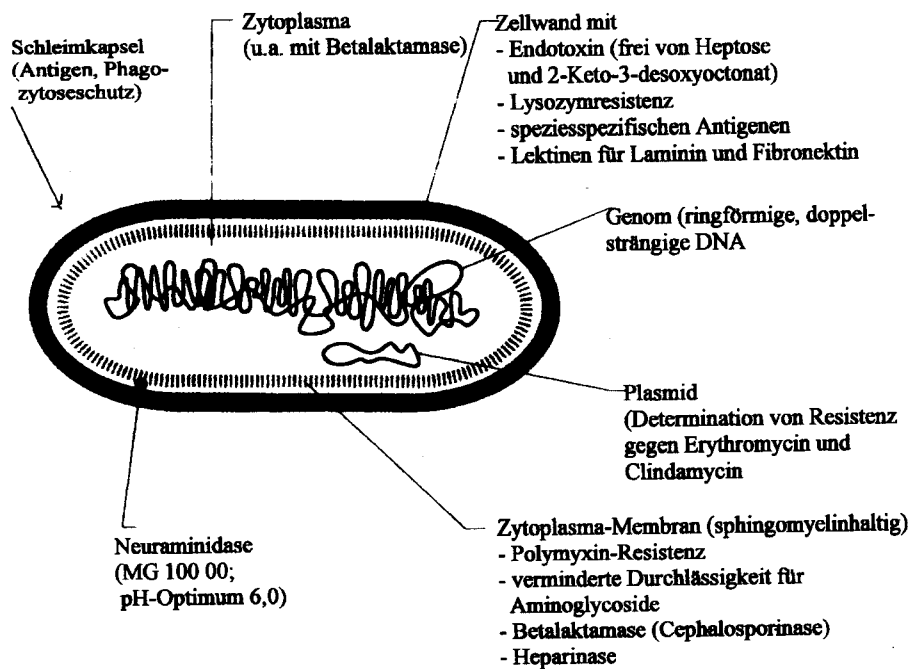


Abb. 2/1:
Bacteroides fragilis: Schematische Darstellung von Strukturen und Aktivitäten (modifiziert nach Werner, 1985)

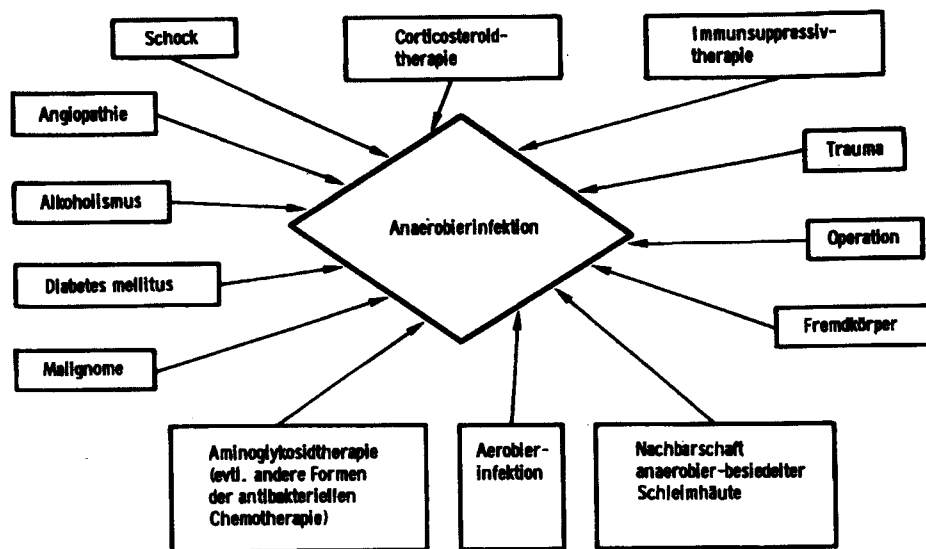


Abb. 5/1:

Prädispositions-faktoren, die eine Anaerobierinfektion begünstigen (nach Werner, 1985).

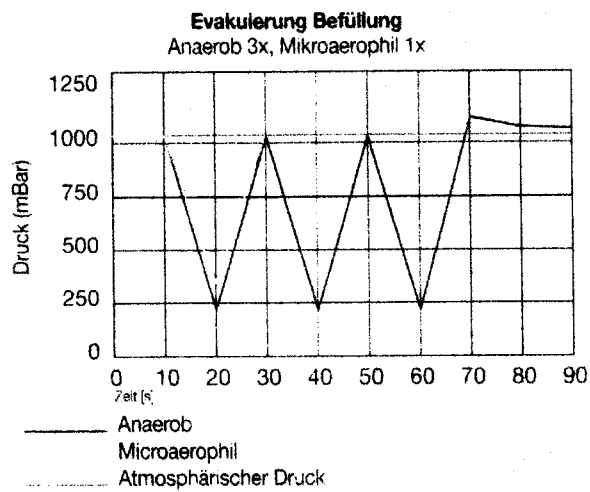
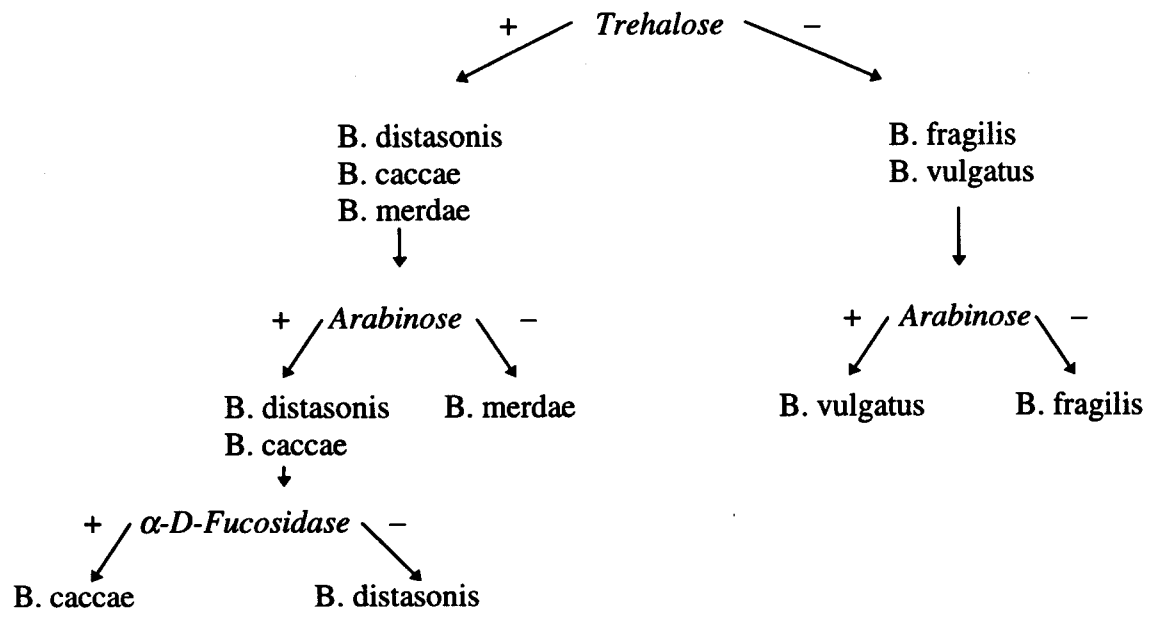


Abb. 6/2:

Bei der Evakuierungs-Befüllungs-Methode (Fa. Mart Systeme) wird das Luftgemisch bis zu einem Druck von 750mBar abgesaugt und durch ein Gasgemisch von 85% N₂, 10%CO₂ und 5% H₂ ersetzt. Nach dreimaligem Ablauf diese Vorgangs ist eine anaerobe Atmosphäre vorhanden.



((Abb.6))