

Aus dem Department für Veterinärwissenschaften der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter Leitung von
Univ.-Prof. Dr. med. vet. Reinhard K. Straubinger, Ph. D.

Angefertigt in der Hals-Nasen-Ohrenklinik und Poliklinik
der Technischen Universität München
(Univ.-Prof. Dr. med. Henning Bier)

Etablierung eines Meningitis-Modells für das Meerschweinchen und Untersuchung Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Katharina Niedermeier
aus München

München 2011

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Straubinger

Tag der Promotion: 30. Juli 2011

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|-----------|----------------------------------------------------------------------|-----------|
| I | EINLEITUNG | 1 |
| II | SCHRIFTTUM..... | 3 |
| 1 | ANATOMIE DES OHRES | 3 |
| 2 | HÖRVORGÄNGE | 8 |
| 2.1 | Physiologie des Hörens | 8 |
| 2.2 | Hörverlust..... | 9 |
| 3 | DAS COCHLEA-IMPLANTAT | 10 |
| 3.1 | Einsatzgebiete | 10 |
| 3.2 | Aufbau..... | 10 |
| 3.3 | Funktion | 11 |
| 3.4 | Elektrisch-akustische Stimulation (EAS)..... | 12 |
| 3.5 | Insertionstrauma..... | 12 |
| 4 | COCHLEA-IMPLANTATE UND MENINGITIDEN | 14 |
| 4.1 | Medizinische Risiken | 14 |
| 4.2 | Cochlea-Implantate und Meningitiden..... | 14 |
| 4.3 | Häufige Meningitiserreger | 15 |
| 4.4 | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 16 |
| 4.4.1 | Eigenschaften | 16 |
| 4.4.2 | Virulenzfaktoren | 16 |
| 5 | DEXAMETHASON..... | 18 |
| 5.1 | Allgemeine Pharmakologie..... | 18 |
| 5.1.1 | Chemie, Stoffwechsel und Pharmakokinetik | 18 |
| 5.1.2 | Wirkung und Wirkmechanismen | 19 |
| 5.1.3 | Expression von Glucocorticoid-Rezeptoren in der Cochlea | 22 |
| 5.2 | Therapie des Innenohrs | 22 |
| 5.2.1 | Therapie des Innenohrs mit Glucocorticoiden | 22 |
| 5.2.2 | Methoden zur lokalen Medikamenten-Applikation im Innenohr | 23 |
| 5.3 | Dexamethason-freisetzende Cochlea-Implantate..... | 24 |
| 5.3.1 | Pharmakokonzentration im Innenohr | 24 |
| 5.3.2 | Auswirkungen auf das Hörvermögen | 25 |
| 5.3.3 | Mögliche Risiken Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate | 26 |

| | | |
|------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| III | EIGENE UNTERSUCHUNGEN..... | 29 |
| 1 | ZIELSETZUNG | 29 |
| 2 | MATERIAL UND METHODEN | 29 |
| 2.1 | Versuchstiere..... | 29 |
| 2.2 | Meningitiserreger <i>Streptococcus pneumoniae</i> D39 | 30 |
| 2.3 | Cochlea-Implantate | 30 |
| 2.4 | Versuchsplan | 31 |
| 2.4.1 | Bestimmung einer bakteriellen Prüfkonzentration | 33 |
| 2.4.2 | Vergleich Dexamethason-freisetzender und Dexamethason-freier Implantate .. | 34 |
| 2.5 | Versuchsdurchführung | 34 |
| 2.5.1 | Narkose und Narkoseüberwachung | 34 |
| 2.5.2 | Implantation | 35 |
| 2.5.3 | Inokulation | 36 |
| 2.5.4 | Meerschweinchenmodell der Pneumokokken-Meningitis | 37 |
| 2.5.4.1 | Klinische Überwachung der Versuchstiere | 37 |
| 2.5.4.2 | Diagnostik | 39 |
| 2.6 | Versuchsende und Probengewinnung | 39 |
| 2.7 | Probenaufbereitung | 40 |
| 2.7.1 | Gehirn..... | 40 |
| 2.7.1.1 | Fixierung und Paraffineinbettung | 40 |
| 2.7.1.2 | Entparaffinierung und histologische Färbungen | 40 |
| 2.7.2 | Cochlea..... | 42 |
| 2.7.2.1 | Fixierung, Entkalken und Paraffineinbettung | 42 |
| 2.7.2.2 | Entparaffinierung und histologische Färbungen | 42 |
| 2.8 | Probenauswertung | 43 |
| 2.8.1 | Liquor..... | 43 |
| 2.8.2 | Blut..... | 43 |
| 2.8.3 | Mittelohrabstriche | 44 |
| 2.9 | Histologie | 44 |
| 2.9.1 | Gehirn..... | 44 |
| 2.9.2 | Cochlea..... | 44 |
| 2.10 | Statistik..... | 45 |

| | | |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| IV | ERGEBNISSE | 46 |
| 1 | VERSUCH I: BESTIMMUNG DER BAKTERIELLEN PRÜFKONZENTRATION | 46 |
| 1.1 | Bestimmung der Prüfkonzentration von <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 46 |
| 1.2 | Charakteristika der Pneumokokken-Meningitis im Meerschweinchenmodell ... | 47 |
| 1.2.1 | Klinisches Monitoring..... | 47 |
| 1.2.2 | Laborbefunde und Keimzahlbestimmung | 51 |
| 1.2.2.1 | Liquor..... | 51 |
| 1.2.2.2 | Blut..... | 52 |
| 1.2.2.3 | Mittelohrabstriche | 52 |
| 1.2.3 | Histologische Untersuchungen | 53 |
| 1.2.3.1 | Gehirn..... | 53 |
| 1.2.3.2 | Cochlea..... | 56 |
| 2 | VERSUCH II: VERGLEICHSSSTUDIE | 60 |
| 2.1 | Gruppenvergleich..... | 60 |
| 2.2 | Charakteristika der Pneumokokken-Meningitis im Meerschweinchenmodell ... | 61 |
| 2.2.1 | Klinische Überwachung der Versuchstiere | 61 |
| 2.2.2 | Laborbefunde und Keimzahlbestimmung | 64 |
| 2.2.2.1 | Liquor..... | 64 |
| 2.2.2.2 | Blut..... | 64 |
| 2.2.2.3 | Mittelohrabstriche | 65 |
| 2.2.3 | Histologische Untersuchungen | 65 |
| 2.2.3.1 | Gehirn..... | 66 |
| 2.2.3.2 | Cochlea..... | 66 |
| V | DISKUSSION | 68 |
| 1 | TIERMODELL DER PNEUMOKOKKEN-MENINGITIS | 68 |
| 2 | INFEKTIONSWEG..... | 71 |
| 3 | BESTIMMUNG DER BAKTERIELLEN PRÜFKONZENTRATION | 73 |
| 4 | VERGLEICHSSSTUDIE | 74 |
| 5 | AUSBLICK..... | 81 |

| | | |
|------|-----------------------------|----|
| VI | ZUSAMMENFASSUNG | 82 |
| VII | SUMMARY | 84 |
| VIII | LITERATURVERZEICHNIS | 86 |
| IX | ANHANG TABELLEN | I |
| X | VORVERÖFFENTLICHUNGEN | I |
| XI | DANKSAGUNG | II |

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A. | <i>Arteria</i> |
| ABR | <i>engl.</i> auditory brainstem response (akustisch evozierte Hirnstammpotenziale) |
| Aqua dest. | <i>Aqua destillata</i> |
| CBP | Cholin Bindeproteine |
| CFU | <i>engl.</i> Colony forming units (Kolonie bildende Einheiten) |
| CSF | Cerebrospinalflüssigkeit |
| dB | Dezibel |
| DPOAE | Distorsivproduzierte otoakustische Emissionen |
| EAS | Elektrisch-akustische Stimulation |
| g | Gramm |
| G/l | Giga (10^9) pro Liter |
| h | Stunde(n) |
| HPLC | <i>engl.</i> high-performance liquid chromatography (Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie) |
| IgG | Immunglobulin G |
| IHZ | Innere Haarzellen |
| l/min | Liter pro Minute |
| M. | <i>Musculus</i> |
| mg/dl | Milligramm pro Deziliter |
| min. | Minute(n) |
| ml | Milliliter |
| MW | Mittelwert |
| mV | Millivolt |
| µg | Mikrogramm |
| µl | Mikroliter |
| N. | <i>Nervus</i> |
| n | Anzahl der Fälle |
| nm | Nanometer |
| OHZ | Äußere Haarzellen |
| p.i. | post inoculationem |
| PBS | <i>engl.</i> phosphate-buffered saline solution (Phosphatgepufferte Kochsalzlösung) |
| pH | pH-Wert |
| s.c. | subcutan |
| SD | <i>engl.</i> standard deviation (Standardabweichung) |
| SPL | <i>engl.</i> sound pressure level (Schalldruckpegel) |
| ZNS | Zentralnervensystem |

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Abb. 1: Übersicht über das äußere Ohr, das Mittelohr und das Innenohr | 4 |
| Abb. 2: Schnitt durch die Schneckenachse (Modiolus)..... | 5 |
| Abb. 3: Corti-Organ (Schema-Zeichnung)..... | 6 |
| Abb. 4: Innenansicht des Meerschweinchen-Felsenbeins..... | 8 |
| Abb. 5: Aufbau eines Cochlea-Implantat-Systems | 11 |
| Abb. 6: Abgabeeigenschaften Dexamethason-freisetzender Implantate in vitro | 25 |
| Abb. 7: Hörverlust nach der Implantation (ABR und DPOAE)..... | 26 |
| Abb. 8: Hemmung des Transkriptionsfaktors NF κ B durch Glucocorticoide | 27 |
| Abb. 9: Cochlea-Implantat..... | 31 |
| Abb. 10: Versuchsplan (Versuch I): Bestimmung der bakteriellen Prüfkonzentration..... | 32 |
| Abb. 11: Versuchsplan (Versuch II): Vergleichsstudie..... | 32 |
| Abb. 12: Cochlea-Implantation..... | 36 |
| Abb. 13: Infektion der Versuchstiere..... | 36 |
| Abb. 14: Ergebnisse der Konzentrationsbestimmung | 47 |
| Abb. 15: Gewichtsverlauf der Tiere aus Versuch I | 49 |
| Abb. 16: Temperaturverlauf der Tiere aus Versuch I | 50 |
| Abb. 17: Leptomeningeales Infiltrat bei einem Tier mit klinisch manifester Meningitis..... | 54 |
| Abb. 18: Cortex und Meningen von Tieren ohne Meningitis | 54 |
| Abb. 19: Ventrikel eines Tieres mit klinisch manifester Meningitis..... | 55 |
| Abb. 20: Gram-positive Kokken im Subarachnoidalraum eines Tieres mit Meningitis..... | 55 |
| Abb. 21: Bindegewebzubildungen in der Cochlea nach der Implantation | 57 |
| Abb. 22: Cochlea eines Tieres ohne Meningitis..... | 58 |
| Abb. 23: Okklusion der perilymphatischen Räume der Cochlea | 58 |
| Abb. 24: Nachweis gram-positiver Kokken in den Perilymph-Räumen der Cochlea | 59 |
| Abb. 25: Rund-Fenster-Membran von Tieren mit und ohne Meningitis | 59 |
| Abb. 26: Gewichtsverlauf der Tiere aus Versuch II..... | 62 |
| Abb. 27: Temperaturverlauf der Tiere aus Versuch II..... | 63 |
| Abb. 28: Cochleae von Tieren ohne Implantat | 67 |

TABELLENVERZEICHNIS

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Tab. 1: Rezeptoraffinität und Plasmahalbwertszeit verschiedener Steroide im Vergleich</i> | 18 |
| <i>Tab. 2: Wirkung von Glucocorticoiden</i> | 20 |
| <i>Tab. 3: Versuchsplan Versuch I</i> | 33 |
| <i>Tab. 4: Versuchsplan Versuch II</i> | 34 |
| <i>Tab. 5: Bewertungsschema</i> | 38 |
| <i>Tab. 6: Probenmaterial und Diagnostik</i> | 39 |
| <i>Tab. 7: Entparaffinierungsprotokoll</i> | 41 |
| <i>Tab. 8: Hämatoxylin-Eosin-Färbung</i> | 41 |
| <i>Tab. 9: Gram-Färbung</i> | 41 |
| <i>Tab. 10: Kernechtrubin-Anilinblau-Orange-Färbung</i> | 42 |
| <i>Tab. 11: Übersicht Ergebnisse Versuch I</i> | 46 |
| <i>Tab. 12: Zeitpunkt der Euthanasie von Tieren aus Versuch I</i> | 48 |
| <i>Tab. 13: Klinischer Score der Tiere aus Versuch I</i> | 48 |
| <i>Tab. 14: Gewichtsverlauf der Tiere aus Versuch I</i> | 49 |
| <i>Tab. 15: Temperaturverlauf der Tiere aus Versuch I</i> | 50 |
| <i>Tab. 16: Liquorbefunde der Tiere aus Versuch I</i> | 51 |
| <i>Tab. 17: Leukozytenzahl und Gesamtkeimzahl im Blut (Versuch I)</i> | 52 |
| <i>Tab. 18: Übersicht histologische Auswertung Versuch I</i> | 53 |
| <i>Tab. 19: Anzahl erkrankter Tiere im Gruppenvergleich</i> | 60 |
| <i>Tab. 20: Auswertung des Gruppenvergleichs mit Hilfe des exakten Test nach Fisher</i> | 60 |
| <i>Tab. 21: Zeitpunkt der Euthanasie von Tieren aus Versuch II</i> | 61 |
| <i>Tab. 22: Klinischer Score der Tiere aus Versuch II</i> | 61 |
| <i>Tab. 23: Gewichtsverlauf der Tiere aus Versuch II</i> | 62 |
| <i>Tab. 24: Temperaturverlauf der Tiere aus Versuch II</i> | 63 |
| <i>Tab. 25: Liquorbefunde der Tiere aus Versuch II</i> | 64 |
| <i>Tab. 26: Leukozytenzahl und Gesamtkeimzahl im Blut (Versuch II)</i> | 65 |
| <i>Tab. 27: Übersicht histologische Auswertung (Versuch II)</i> | 65 |

TABELLENVERZEICHNIS ANHANG

| | |
|------------------------------------------------------------|-------------|
| <i>Tabelle A 1: Reagenzien und Chemikalien</i> | <i>I</i> |
| <i>Tabelle A 2: Material Histologie</i> | <i>II</i> |
| <i>Tabelle A 3: Labor</i> | <i>III</i> |
| <i>Tabelle A 4: Material Mikrobiologie</i> | <i>III</i> |
| <i>Tabelle A 5: Medizinisches Verbrauchsmaterial</i> | <i>IV</i> |
| <i>Tabelle A 6: Operationsbesteck</i> | <i>V</i> |
| <i>Tabelle A 7: Software und Geräte.....</i> | <i>VI</i> |
| <i>Tabelle A 8: Medikamente und Narkosemittel</i> | <i>VII</i> |
| <i>Tabelle A 9: Übersichtstabelle Versuch I</i> | <i>VIII</i> |
| <i>Tabelle A 10: Übersichtstabelle Versuch II</i> | <i>IX</i> |

I EINLEITUNG

Die Weltgesundheitsorganisation schätzte den Anteil hörbehinderter Menschen mit mäßigem bis hochgradigem Hörverlust im Jahre 2005 auf 278 Millionen weltweit (WORLD HEALTH ORGANIZATION 2010). Für die Betroffenen ergeben sich aus ihrer Behinderung nicht selten Einschränkungen im privaten, wie auch im beruflichen Bereich, die im Extremfall zum gesellschaftlichen Ausschluss führen können. Bei Kindern, die von Taubheit betroffen sind, sind zudem die Sprache und die intellektuelle Entwicklung beeinträchtigt. Wird das Hörvermögen wiederhergestellt, verbessern sich sowohl die allgemeine Lebensqualität als auch die psychische Situation der Betroffenen.

Seit mehr als 30 Jahren können zur Therapie der hochgradigen Schwerhörigkeit Innenohrprothesen (Cochlea-Implantate) eingesetzt werden (HOCHMAIR-DESOYER et al. 1978). Mit Hilfe eines Cochlea-Implantats kann der Hörnerv unter Umgehung der meist dauerhaft geschädigten oder nicht mehr vorhandenen Hörsinneszellen des Innenohrs direkt elektrisch stimuliert werden. Dadurch kann dem Patienten ein offenes Sprachverständnis, ja sogar Musikgenuss ermöglicht werden. Bei Kindern kann eine normale, altersgerechte Sprachentwicklung stattfinden, sodass der Besuch einer Regelschule möglich wird.

Eine relativ neue Indikation für Cochlea-Implantate ist der Einsatz bei Patienten mit Resthörvermögen nach partiellem Hörverlust für hohe und mittlere Frequenzen bei gleichzeitig gut erhaltenem Hörvermögen für tiefe Frequenzen (VON ILBERG et al. 1999). Durch eine akustische Stimulation der intakten Sinneszellen im tieffrequenten Bereich durch ein konventionelles Hörgerät kombiniert mit einer elektrischen Stimulation des akustisch nicht mehr erreichbaren Hoch- und Mittelfrequenzbereichs durch ein Cochlea-Implantat, kann das Hörvermögen dieser Patienten erheblich verbessert werden. Eine solche kombinierte elektrisch-akustische Stimulation (EAS) setzt voraus, dass die funktionsfähigen Innenohrstrukturen auch nach dem Einsetzen des Cochlea-Implantats möglichst vollständig erhalten werden. Ein Schutz der Innenohrstrukturen und der Erhalt des Resthörvermögens bei der Implantation stellen in diesen Fällen eine große Herausforderung dar. Neben der Verbesserung der chirurgischen Technik und der Modifizierung und Weiterentwicklung der Implantate, ist die pharmakologische Intervention ein weiterer Ansatz, das vorhandene Resthörvermögen zu erhalten. Mögliche pharmakologische Ansatzpunkte sind die Reduktion oxidativer Stressfaktoren bedingt durch freie Radikale, eine Unterdrückung inflammatorischer Reaktionen und die Inhibition des spontanen Zelltods (Apoptose) (LEFEBVRE et al. 2002), die als Folge der Implantation auftreten können. Glucocorticoide haben sich für diese Indikation als geeignet erwiesen

(ESHRAGHI et al. 2007, JAMES et al. 2008b, PLONTKE et al. 2009). Eine gezielte lokale Applikation von Glucocorticoiden mit Reduktion systemischer Nebenwirkungen und ausreichend hohen Wirkspiegeln im Innenohr kann über ein Dexamethason-freisetzendes Cochlea-Implantat erreicht werden (JOLLY et al. 2010).

Die Cochlea-Implantation hat sich im Laufe der Jahre als komplikationsarme Behandlungs-methode der hochgradigen Schwerhörigkeit etabliert. Eine seltene, aber schwerwiegende Komplikation nach Cochlea-Implantation stellt die Meningitis dar. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Studie umfasst Versuche zur Sicherheit Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate. Untersucht werden diese im Hinblick auf ein möglicherweise erhöhtes postoperatives Meningitis-Risiko gegenüber Dexamethason-freien Implantaten. Eine erhöhte Infektionsrate Dexamethason-freisetzender Implantate könnte aufgrund einer möglicherweise verzögerten Einheilzeit und damit langsamerem Verschluss der Insertionsstelle mit offener Verbindung zum Innenohr unter Glucocorticoideinfluss auftreten. Ein weiterer Faktor, der das Auftreten einer Meningitis begünstigen könnte, ist der hemmende Einfluss von Dexamethason auf das Immunsystem und damit auf die Erregerabwehr. Um das Infektionsrisiko der neu entwickelten Implantate einschätzen zu können, wurde zunächst ein Meningitis-Modell für das Meerschweinchen etabliert. In einer anschließenden Vergleichsstudie wurden Dexamethason-freisetzende Cochlea-Implantate gegenüber Dexamethason-freien Implantaten und Tieren ohne Implantat im Hinblick auf das postoperative Meningitis-Risiko untersucht.

II SCHRIFTTUM

1 ANATOMIE DES OHRES

Das Ohr lässt sich in drei Abschnitte gliedern: das **äußere Ohr** (*Auris externa*), das **Mittelohr** (*Auris media*) und das **Innenohr** (*Auris interna*).

Das **äußere Ohr** besteht aus der Ohrmuschel (*Auricula*) mit ihrem Anteil aus elastischem Knorpel (*Cartilago auriculae*), der mit Epidermis überzogen ist, sowie dem äußeren Gehörgang (*Meatus acusticus externus*). Dieser verläuft am Ohrmuschelknorpel knorpelig und nach medial knöchern. Das äußere Ohr wird vom Mittelohr durch das Trommelfell (*Membrana tympani*) getrennt, das mit dem *Anulus fibrosus* in den knöchernen *Sulcus tympanicus* eingespannt ist. In der Mitte ist das Trommelfell trichterförmig zu einem Nabel (*Umbo*) eingezogen. Das **Mittelohr** umfasst die Paukenhöhle (*Cavum tympani*) in der die drei schallleitenden Gehörknöchelchen Hammer (*Malleus*), Amboss (*Incus*) und Steigbügel (*Stapes*) liegen, die Hörtrumpe (*Tuba auditiva*), die die Verbindung zum Rachenraum darstellt, sowie die pneumatischen Räume. Der Hammer ist mit seinem Griff und seinem kurzen Fortsatz am *Umbo membranae tympani* des Trommelfells befestigt. Die Verbindung zum Innenohr stellt der Steigbügel dar, der mit seiner Fußplatte (*Basis stapedis*) an das Ovale Fenster der Cochlea grenzt. Das **Innenohr** liegt in der Pyramide des Felsenbeins und enthält als *Organum vestibulocochleare* das Gleichgewichts- und Hörorgan. Das Innenohr besteht aus dem knöchernen Labyrinth, welches das häutige Labyrinth als Kapsel umgibt. Das knöcherne Labyrinth wird von dem Vorhof (*Vestibulum*), den drei Bogengängen (*Canales semicirculares*) und der Schnecke (*Cochlea*) gebildet. Zwischen dem knöchernen und dem häutigen Labyrinth befindet sich der perilymphatischer Raum, der über den *Ductus perilymphaticus* (*Aquaeductus cochleae*) und über den *Aquaeductus vestibuli* mit dem Subarachnoidalraum des ZNS in Verbindung steht (BOENNINGHAUS und LENARZ 2007, HEES und SINOWATZ 1992) (**Abb. 1**).

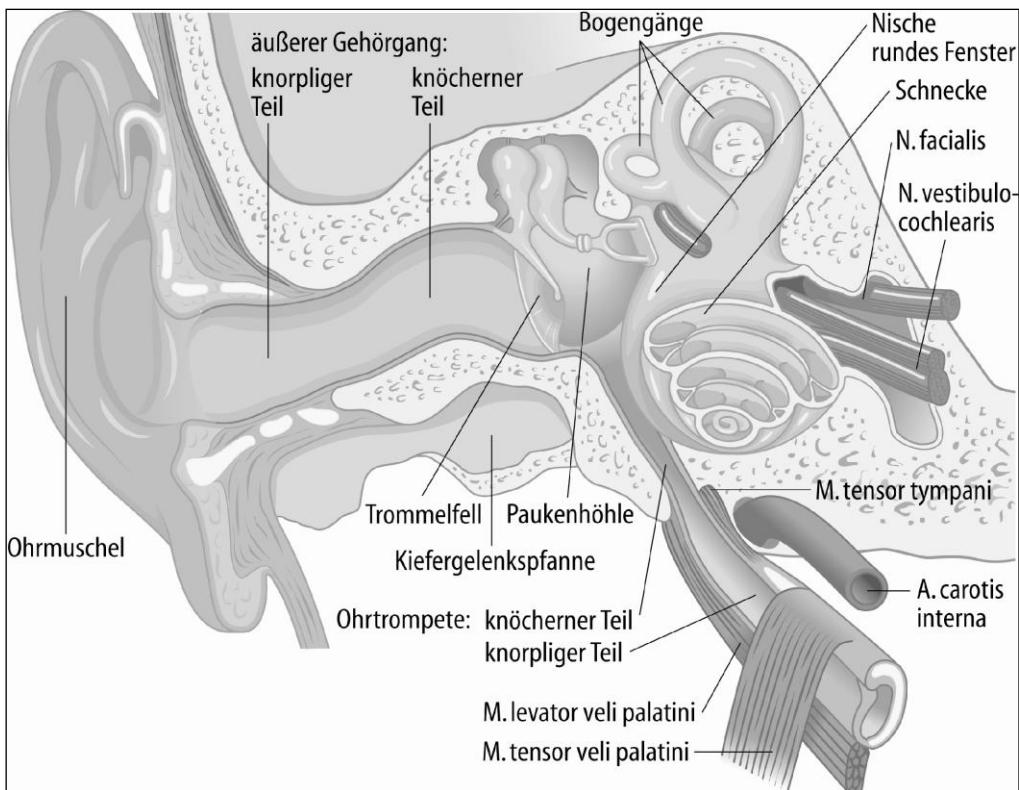


Abb. 1: Übersicht über das äußere Ohr, das Mittelohr und das Innenohr

(aus Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Boenninghaus und Lenarz, 13. Auflage, Springer Verlag, 2007)

Die knöcherne Schnecke (*Cochlea*) windet sich zweieinhalbmal spiralförmig um eine zentrale Achse, den *Modiolus*. Vom *Modiolus* aus ragt eine dünne Knochenleiste (*Lamina spiralis osseae*) in die Schneckenwindung vor und unterteilt diese in zwei mit Perilymphe gefüllte Etagen, die untere *Scala tympani* und die obere *Scala vestibuli*. Die Skalen stehen an der Schneckenspitze über das *Helicotrema* in Verbindung (Abb. 2). Die *Scala vestibuli* grenzt über das Ovale Fenster an die Fußplatte des Steigbügels, die *Scala tympani* über die Membran des Runden Fensters an das Mittelohr. Zwischen der *Scala tympani* und der *Scala vestibuli* liegt die mit Endolymphe gefüllte *Scala media* (*Ductus cochlearis*) des häutigen Labyrinths. Diese endet an der Schneckenspitze blind. Von der *Scala vestibuli* wird sie durch die Reissner-Membran (*Membrana vestibularis*) getrennt, zur *Scala tympani* wird sie von der Basilarmembran abgegrenzt. Die Basilarmembran entspringt an der *Lamina spiralis osseae* und zieht zur gegenüberliegenden Wand des knöchernen Labyrinths. Sie verbreitert sich von der Schneckenbasis zur Schneckenspitze. Die seitliche Wand wird vom *Ligamentum spirale* gebildet, das die *Stria vascularis* trägt. Die *Stria vascularis* ist ein vielschichtiges, gut vaskularisiertes Epithel, das der Nähr- und Sauerstoffversorgung der Cochlea dient (KLINKE und SILBERNAGL 2003, ULFIG 2005).

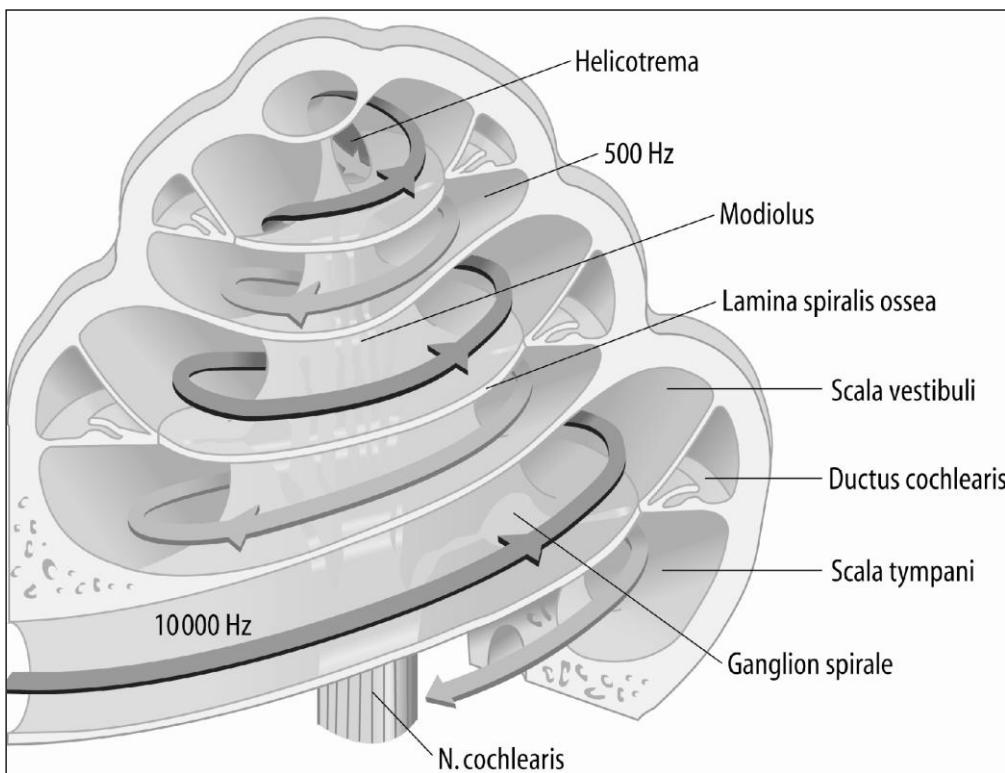


Abb. 2: Schnitt durch die Schneckenachse (Modiolus)

*Aufgeklappte Schnecke mit Perilymphbewegungen und Frequenzabbildung
(aus Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Boenninghaus, Lenarz, 13. Auflage, Springer Verlag, 2007)*

Auf der Basilarmembran der *Scala media* liegt das Corti-Organ (**Abb. 3**). Es besteht aus verschiedenen Typen von Stützzellen. Zwischen diesen sind die Haarsinneszellen eingelagert: eine Reihe innere Haarzellen (IHZ) und drei Reihen äußere Haarzellen (OHZ). Die Zellen des Corti-Organ sind im axialen Querschnitt von lateral nach medial wie folgt angeordnet: Claudio-Zellen, Hensen-Zellen, drei OHZ, zwei Pfeilerzellen und eine mediale IHZ. Die Stützzellen begrenzen drei spiralförmig verlaufende Kanalsysteme, den inneren Tunnel, den Nuel-Raum und den äußeren Tunnel. Die Stützzellen sind an ihren apikalen Enden untereinander und mit den Sinneszellen über *Zonulae occludentes* und *tight junctions* verbunden, sodass die Tunnelräume von dem Endolymphraum der *Scala media* getrennt sind. Die Tunnelräume enthalten die so genannte Corti-Lymphe, die in ihrer Zusammensetzung der Perilymphe ähnelt, da die Basilarmembran und die basalen Zellverbindungen der Stützzellen keine Diffusionsbarriere darstellen. Die Haarzellen stehen so in einer Potenzialdifferenz zwischen der natriumreichen Endolyphe der *Scala media* und der kaliumreichen Perilymphe (HEES und SINOWATZ 1992, LEHNHARDT et al. 2000).

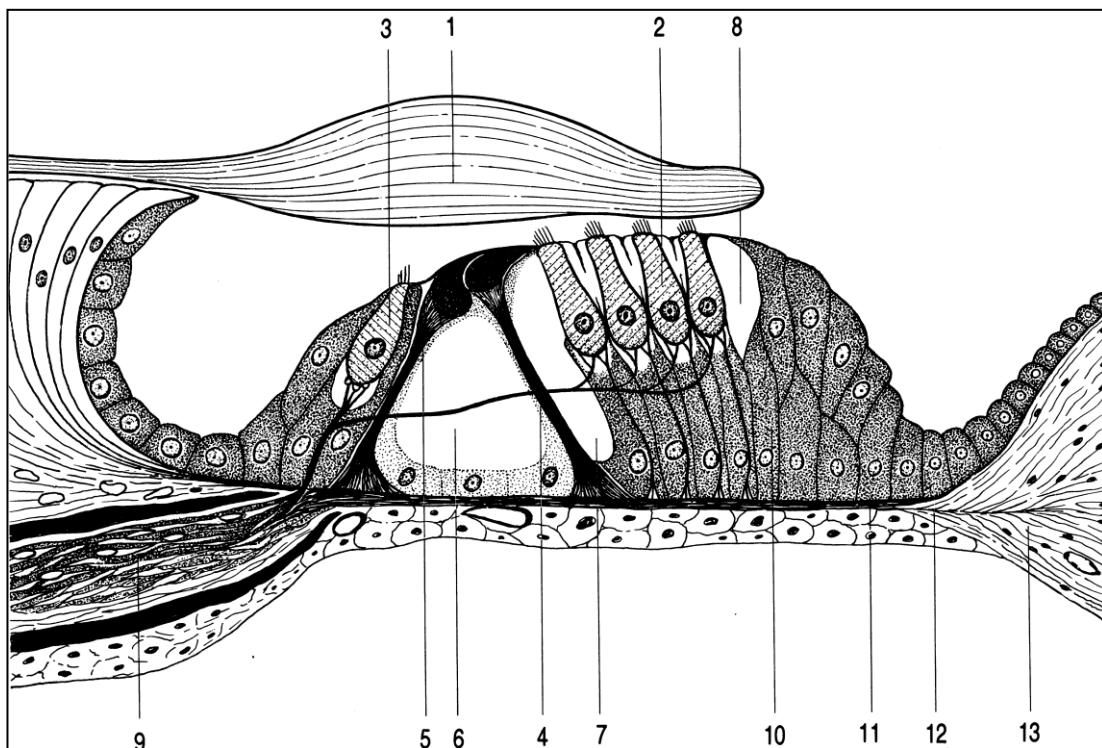


Abb. 3: Corti-Organ (Schema-Zeichnung)

1 Membrana tectoria; 2 äußere Haarzellen; 3 innere Haarzelle; 4 äußere Pfeilerzelle; 5 innere Pfeilerzelle; 6 innerer Tunnel; 7 Nuelscher Raum; 8 äußerer Tunnel; 9 Nervus cochlearis; 10 Hensen-Zellen; 11 Basilarmembran; 12 Claudius-Zellen; 13 Ligamentum spirale (aus Histologie, Hees, Sinowatz, 2. völlig neu bearbeitete Auflage, Deutscher Ärzteverlag, 1992)

Die Haarsinneszellen sitzen auf den verdickten Anteilen von Phalangenzellen (Deiter-Zellen), die diese umhüllen, in ihrer Lage fixieren und die durchlöcherte Deckplatte (*Membrana reticularis*) bilden. Durch diese ragen die an der Spitze der Sinneszellen gelegenen Stereozilien. An den äußeren Haarzellen sind dies etwa 100 - 120, an den inneren etwa 60 pro Zelle (LEHNHARDT et al. 2000). Die Stereozilien haben unterschiedliche Längen und Formen. An den äußeren Haarzellen sind sie charakteristisch in w-Form angeordnet, an den inneren Haarzellen stehen sie ungeordnet. Über den Sinneszellen liegt die *Membrana tectoria*, die von den längsten Spitzen der Stereozilien der äußeren Haarzellen berührt wird. Zwischen der Tectorialmembran und den Haarzellen befindet sich ein kleiner, mit Endolymphe gefüllter Spalt. Benachbarte Zilien sind untereinander durch feine seitliche Verbindungen („cross links“) verbunden. Die kleineren Stereozilien sind über so genannte „tip links“ an ihrer Spitze mit der dahinter liegenden Reihe längerer Zilien verknüpft (KLINKE und SILBERNAGL 2003, RHYS EVANS et al. 1985).

Die *Scala media* ist mit Endolymph, einer kaliumreichen (ca. 140 mmol/l), natriumarmen Flüssigkeit, die von der *Stria vascularis* sezerniert und im *Saccus endolymphaticus* resorbiert wird, gefüllt. Durch die Ionenverteilung in der Endolymph wird gegenüber dem umgebenden Extrazellulärtraum ein positives Potential von +80 mV erzeugt, das so genannte endocochleäre Potential. Die Perilymphe in der *Scala tympani* und der *Scala vestibuli* weist einen hohen Gehalt an Natrium und einen geringen Gehalt an Kalium auf, sodass ein chemisches Gleichgewichtspotential von 0 mV gegenüber der Umgebung entsteht. Das Ruhemembranpotential der Haarsinneszellen liegt bei etwa -50 mV (innere Haarzellen) bzw. -70 mV (äußere Haarzellen), woraus sich für die Zilienoberfläche eine Potentialdifferenz von 130 - 150 mV errechnet. Dieses transmembrane Potentialgefälle ist eine wichtige Voraussetzung für die Schalltransduktion und die damit verbundenen Ionenströme (SCHMIDT 2007, SPECKMANN und HESCHELER 2008). Bei den Haarsinneszellen handelt es sich um sekundäre Sinneszellen, die selbst keine Nervenfortsätze ausbilden. Die bipolaren Neurone des *Ganglion Spirale* liegen in Aushöhlungen des *Modiolus* an der medialen Wand der *Scala tympani*. Etwa 95 % der dendritischen Fortsätze der Nervenzellen sind myelinisiert und ziehen afferent von den inneren Haarzellen zu den Ganglienzellen im *Modiolus*. Dabei ist jede innere Haarzelle mit vielen afferenten Nervenfasern verbunden, die unverzweigt an den Haarzellen ansetzen. Nur etwa 5 % der Nervenfasern sind nicht myelinisiert und ziehen vielfach verzweigt an die äußeren Haarsinneszellen. Die Axone der Nervenfasern bilden den *Nervus cochlearis*. Sie ziehen zum *Nucleus cochlearis* der gleichen Seite und der Gegenseite. Neben den afferenten Fasern ziehen efferente, inhibitorische Fasern aus den Olivenkernen des Hirnstamms zu den äußeren Haarzellen und an die Endigungen der afferenten Fasern der inneren Haarzellen (LENHARDT et al. 2000, ULFIG 2005).

Das Meerschweinchen wird als Versuchstier in der Innenohrforschung eingesetzt, da das Innenohr von Meerschweinchen und Mensch anatomisch weitgehend gleich aufgebaut ist. Es variieren lediglich die Anzahl der cochleären Windungen und die Länge der Cochlea. Während die Cochlea des Meerschweinchens mit einer Länge von 18 mm 3,5 bis vier Windungen aufweist, besitzt die menschliche Cochlea eine Länge von 35 mm und 2¾ Windungen (VON BÉKÉSY 1960, FELIX 2002). Weiterhin ist die knöcherne Kapsel der Cochlea des Meerschweinchens dünn und die Cochlea liegt frei exponiert im Mittelohr (COOPER 1975) (**Abb. 4**). Unter diesen Umständen lässt sich eine Cochlea-Implantation sicher und reproduzierbar durchführen. Das Innenohr des Meerschweinchens ist zudem im Gegensatz zu Ratte und Gerbil bei der Geburt bereits voll entwickelt (VON BÉKÉSY 1960, SAHA und SLEPECKY 2000).

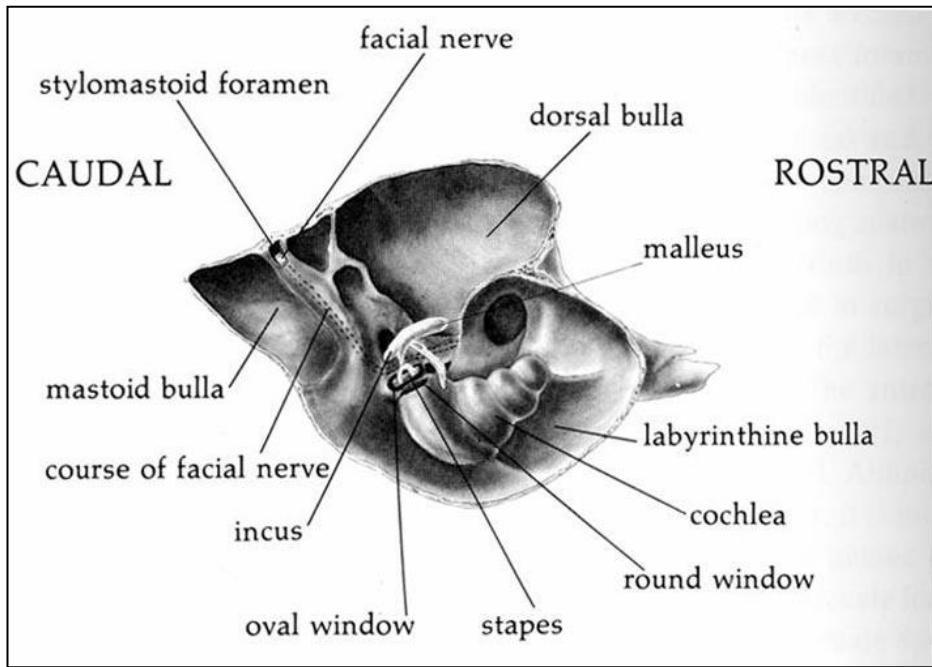


Abb. 4: Innenansicht des Meerschweinchen-Felsenbeins

Die Cochlea des Meerschweinchens liegt frei exponiert im Mittelohr
(aus *Anatomy of the guinea pig*, Cooper, Harvard University Press, 1975)

2 HÖRVORGÄNGE

2.1 Physiologie des Hörens

Die am Ohr an kommenden Schallwellen erreichen über den äußeren Gehörgang das Trommelfell, welches durch die Schalldruckschwankungen in Schwingung versetzt wird. Die Vibrationen werden über die Gehörknöchelchen an das flüssigkeitsgefüllte Innenohr weitergeleitet. Das Mittelohr fungiert dabei als Impedanzwandler und erlaubt die Übertragung der Schallwellen aus dem Medium Luft, das einen niedrigen Wellenwiderstand aufweist, an das flüssigkeitsgefüllte Innenohr mit hohem Wellenwiderstand. Im Innenohr entsteht durch die Vibrationen des Steigbügels, der mit seiner Fußplatte am ovalen Fenster der Cochlea ansetzt, eine Wanderwelle, die sich entlang der Membranen der Cochlea wellenförmig zur Schnecken spitze hin ausbreitet. Die Wanderwelle erreicht frequenzspezifisch Amplitudenmaxima. Hier ist die Erregung der Sinneszellen maximal. Bei tiefen Frequenzen wird das Maximum apikal in der Nähe des *Helicotrema*, bei hohen Frequenzen basal nahe des Steigbügels ausgebildet. Grundlage ist die unterschiedliche Elastizität der Basilarmembran, die am basalen Ende der Hörschnecke schmal und steif, am apikalen Ende durch den abnehmenden Durchmesser des knöchernen Kanals breit und weich ist, sowie die unterschiedliche Masse des Corti-Organ (KLINKE und SILBERNAGL 2003, PREYER 1994). Die OHZ fungieren als mecha-

nische Verstärker. Sie erhöhen die Frequenzselektivität und die Empfindlichkeit des Innenohrs, indem sie durch mechanische Rückkopplung die Auslenkung der Wanderwelle verstärken, sodass diese um den Faktor 100 bis 1.000 mal größer ist als bei einer rein passiven Schwingung der Basilarmembran (DALLOS 1992).

Durch die Auslenkung der Basilarmembran und die Verschiebung der Tectorialmembran entstehen Scherkräfte an den äußeren Haarzellen, die der Basilarmembran aufsitzen. Sie werden gegen die Tectorialmembran verschoben und ihre Zilien, die in die Tectorialmembran hineinragen, werden mechanisch abgelenkt. Das tangentiale Abscheren der Zilien stellt für die Sinneszellen einen adäquaten Reiz für die Auslösung eines Aktionspotenzials dar. Das entstandene Aktionspotential wird über den Hörnerv und die aufsteigende Hörbahn in den auditorischen Cortex geleitet, wo ein Höreindruck entsteht.

Der wahrnehmbare Frequenzbereich des Menschen liegt zwischen 20 Hz und 20 kHz. Das Gehör ist dabei zwischen 2 kHz und 5 kHz am empfindlichsten (LEHNHARDT et al. 2000). Der Hörbereich des Meerschweinchens liegt zwischen 50 Hz und 50 kHz, bei einer maximalen Empfindlichkeit zwischen 2 und 8 kHz (HEFFNER et al. 1971).

2.2 Hörverlust

Ein Hörverlust bezeichnet eine Verminderung des Hörvermögens. Die Ausprägung eines Hörverlustes kann von einer leichten Schwerhörigkeit bis hin zur hochgradigen, an Taubheit grenzenden Schwerhörigkeit reichen. Man unterscheidet neben der zentralen Schwerhörigkeit im Wesentlichen zwei Formen des Hörverlustes, je nachdem, welcher Teil des Ohres betroffen ist. Liegt dem Hörverlust eine Störung der Schallübertragung im äußeren Ohr oder im Mittelohr zugrunde, spricht man von einer Schallleitungsstörung. Bei der Schallempfindungsstörung (Innenohrschwerhörigkeit) hingegen ist die Umwandlung der in die Cochlea gelangenden Schallwellen in neuronale Erregungsmuster gestört. Die Störung kann entweder in der Gehörschnecke lokalisiert sein (cochleäre oder sensorische Schwerhörigkeit), den Hörnerv oder aber periphere Anteile der Hörbahn betreffen (neuronale Schwerhörigkeit). In über 90 % der Fälle sind Schäden oder ein Verlust innerer und/oder äußerer Haarsinneszellen oder Spinalganglionzellen die Ursache für den Hörverlust bei Schallempfindungsstörungen (RICHARDSON et al. 2008). Während eine Schallleitungsstörung oft medikamentös oder operativ behandelt werden kann, kann der Funktionsverlust des Innenohrs meist nur über ein Hörgerät oder ein Cochlea-Implantat ausgeglichen werden.

3 DAS COCHLEA-IMPLANTAT

3.1 Einsatzgebiete

Cochlea-Implantate sind Innenohrprothesen für hochgradig schwerhörige Kinder und Erwachsene. Sie werden eingesetzt, wenn bei Patienten mit cochleärer Innenohrschwerhörigkeit mittels herkömmlicher schallverstärkender Hörgeräte kein ausreichendes Sprachverständnis mehr erreicht werden kann. Dabei kann das Cochlea-Implantat sowohl bei prälingual (vor abgeschlossenem Spracherwerb) ertaubten bzw. gehörlosen Kindern als auch bei postlingual ertaubten Erwachsenen angewandt werden. Voraussetzung für den Einsatz eines Cochlea-Implantats ist eine cochleäre Schwerhörigkeit bzw. Gehörlosigkeit. Um eine Stimulation durch das Implantat zu erreichen muss der Hörnerv intakt sein.

Eine weitere Indikation stellt der Einsatz bei Resthörigkeit dar. Ein Cochlea-Implantat wird eingesetzt, wenn das Sprachverständigen trotz optimaler Versorgung subjektiv „nicht ausreichend“ ist oder 30 % der Wörter in einem Sprachverständnistest für einsilbige Wörter (Freiburger Einsilber) bei 70 dB SPL mit Hörgerät nicht verstanden werden (LASZIG et al. 2004). Prälingual ertaubte, spätimplantierte Erwachsene können je nach logopädischer Schulung während der Kindheit ebenfalls von einem Cochlea-Implantat profitieren. Das Erreichen eines freien Sprachverständnisses ist jedoch in der Regel nicht möglich, da das zentrale Hörsystem die Verarbeitung akustischer Signale nicht gelernt hat (LOMBER et al. 2010).

3.2 Aufbau

Alle heute auf dem Markt erhältlichen Cochlea-Implantate sind ähnlich aufgebaut und unterscheiden sich vor allem im Elektrodendesign und in der verwendeten Sprachkodierungsstrategie. Ein Cochlea-Implantat-System besteht im Wesentlichen aus zwei Teilen: einem externen Audioprozessor (Sprachprozessor) und dem eigentlichen Implantat (**Abb. 5, rechts**). Der Audioprozessor umfasst ein Mikrofon zur Aufnahme und Umwandlung der ankommenen Schallwellen sowie eine Sendespule zur drahtlosen Übertragung der Signale unter die Haut. Des Weiteren beinhaltet der Sprachprozessor den Batterieteil, der die Stromversorgung des Implantats sicherstellt (**Abb. 5, rechts**). Das Implantat enthält eine Empfangsspule zur Aufnahme der ankommenen Signale, ein Elektrodenträger (Elektrodenarray) mit Stimulationselektroden, die in die *Scala tympani* der Cochlea eingeführt wird, sowie eine Referenzelektrode (**Abb. 5, rechts**).

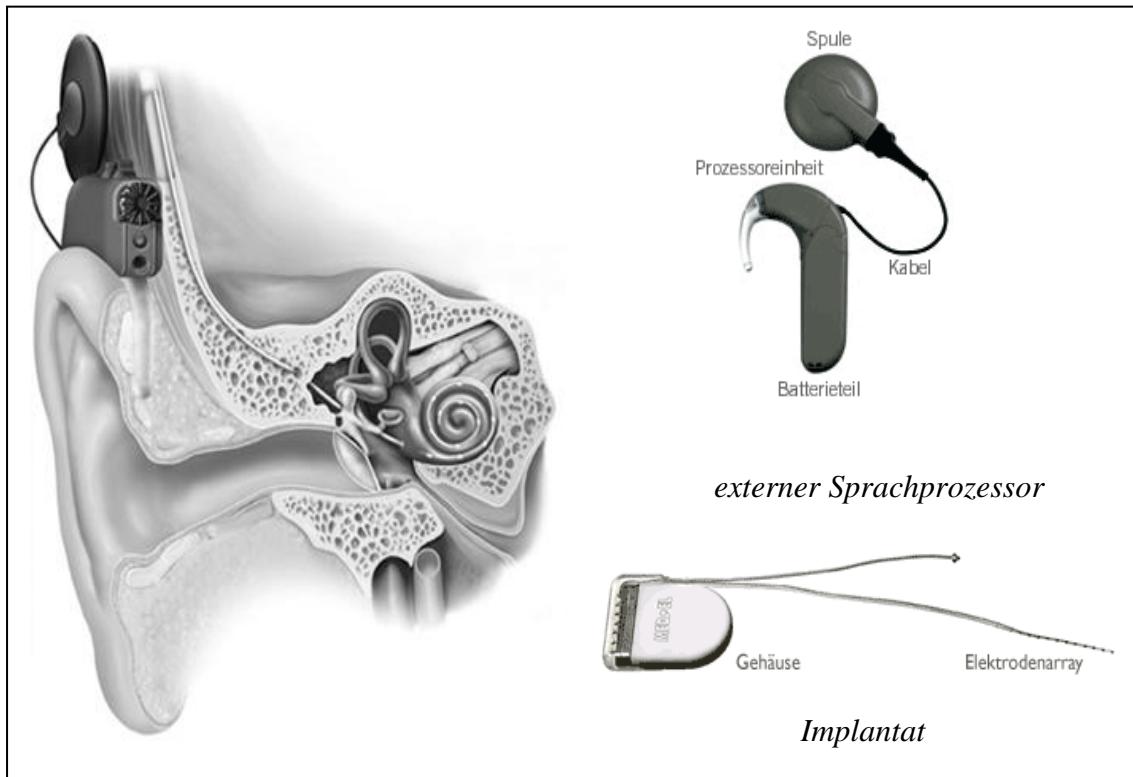


Abb. 5: Aufbau eines Cochlea-Implantat-Systems

links: Cochlea-Implantat in situ

rechts: externer Sprachprozessor und Implantat der Fa. MED-EL

3.3 Funktion

Ein Cochlea-Implantat sorgt für die Umwandlung eines akustischen Reizes in elektrische Impulse, die direkt den Hörnerv reizen. Indem es die elektrischen Reize direkt an den Hörnerv bringt, übernimmt das Cochlea-Implantat die Funktion des Innenohres. Das Gehäuse des Implantats wird subkutan hinter dem Ohr platziert und der Elektrodenträger über eine Rund-Fenster-Insertion oder ein in die basale Windung der Cochlea gebohrtes Loch (Cochleostomie) in die *Scala tympani* der Cochlea eingeführt. Der Sprachprozessor stellt den externen Anteil des Implantats dar und wird mit einem Magneten hinter dem Ohr angebracht. Ankommende akustische Signale werden zunächst vom Mikrofon des externen Sprachprozessors aufgenommen und dort in Hochfrequenzsignale umgewandelt. Die Hochfrequenzimpulse werden über ein Kabel an die Sendespule des Sprachprozessors und von dort aus durch die Haut an die Empfangsspule des Implantats gesendet. Hier werden die Pulsmuster in elektrische Ströme umgewandelt und diese an die Stimulationselektroden in der *Scala tympani* weitergeleitet. Die Weiterleitung im Elektrodenträger erfolgt über Platinum-Iridium-Drähte, die

in das Silikon des Elektrodenträgers eingebettet sind. Über die Länge des Elektrodenträgers sind Stimulationselektroden-Kontakte angeordnet. Die Anzahl variiert je nach Hersteller und verwendeter Sprachkodierungsstrategie zwischen 12 und 22 Kontakten. Die Stimulierung der Spiralganglienzellen durch die Elektrodenkontakte erfolgt parallel oder sequentiell. Bei der parallelen Stimulierung werden Neurone durch zwei oder mehr Kontakte gleichzeitig angeregt, während die Anregung bei sequentieller Stimulierung nacheinander erfolgt. Durch die Stimulation werden an den Spiralganglienzellen Aktionspotentiale ausgelöst, die über den Hörnerv an das Gehirn weitergeleitet werden, wo sie als akustische Signale verarbeitet werden.

3.4 Elektrisch-akustische Stimulation (EAS)

Eine Indikation für Cochlea-Implantate ist der Einsatz bei Patienten mit Resthörvermögen nach partiellem Hörverlust. Der partielle Hörverlust stellt eine besondere Form des Hörverlusts dar, bei dem eine leichte bis mittlere Schallempfindungsschwerhörigkeit für tiefe Frequenzen und eine völlige Schwerhörigkeit für mittlere bis hohe Frequenzen vorliegt. Eine Versorgung betroffener Patienten erfolgt mittels kombinierter elektrisch-akustischer Stimulation (EAS) (VON ILBERG et al. 1999). Hierbei werden die apikalen Bereiche der Cochlea über ein konventionelles Hörgerät akustisch stimuliert, wodurch eine Schallverstärkung der durch den Patienten noch wahrnehmbaren tiefen Frequenzen erreicht wird. Zusätzlich wird ein Cochlea-Implantat eingesetzt, das die basalen Anteile der Cochlea elektrisch stimuliert und somit das Hören in mittleren bis hohen Frequenzbereichen ermöglicht. Cochlea-Implantat und Hörgerät sind dabei in einem Gerät kombiniert (MED-EL FlexEAS, Cochlear HYBRID).

3.5 Insertionstrauma

Der Erhalt des Resthörvermögens bei einer EAS-Versorgung stellt eine große Herausforderung dar. Die Insertion des Elektrodenträgers in die Cochlea kann direkte physikalische Schäden an den Strukturen des Innenohrs verursachen, die zu einer deutlichen Funktionseinbuße bis hin zu einer vollständigen Ertaubung führen können. Histologische Studien an menschlichen Felsenbeinen zeigten, dass in die Cochlea eingeführte Elektroden milde bis schwerwiegende Insertionstraumata hervorrufen können (REBSCHER et al. 2008). Die Schäden im Innenohr reichen dabei von einer Dislozierung der Basilmembran oder des *Ligamentum Spirale* bis hin zu einer Fraktur der *Lamina Spiralis* mit Verlagerung der Elektrode in die *Scala media* oder *Scala vestibuli* mit entsprechender Schädigung der Innenohrstrukturen. Als häufigste Folge der Elektrodeninsertion treten Schädigungen der scalären Außenwand, sowie der

Basilarmembran auf (NADOL et al. 2001, WARDROP et al. 2005a, WARDROP et al. 2005b). Studien zeigen, dass eine leichte Verschiebung der Basilarmembran keine narbigen Veränderungen oder neuronale Degeneration zur Folge hat (RICHTER et al. 2005). Ein Aufreißen der Basilarmembran führt jedoch zu einer Vermischung von Peri- und Endolymph mit toxischer Wirkung für die Strukturen des Cortischen Organs (SHADDOCK et al. 1985). Kommt es zu einem Eindringen der Elektrode in die *Scala media*, sind direkte Schädigungen des Cortischen Organs und der Dendriten des Hörnervs nicht auszuschließen. Als Folge ist eine Degeneration von Spiralganglienzellen möglich. Zusätzlich zu einer direkten mechanischen Schädigung kann eine progrediente Hörminderung durch postoperative intracochleäre Reaktionen als späte Antwort auf das physikalische Trauma auftreten, selbst wenn ein Erhalt des Resthörvermögens unmittelbar nach der Implantation zunächst gelungen ist. Als Folge des direkten physikalischen Traumas kann es durch die Aktivierung von Signalkaskaden und Freisetzung von Entzündungsmediatoren zu einem Untergang der äußeren Haarzellen (OHZ), später auch der inneren Haarzellen (IHZ) und der Stütz- und Pfeilerzellen kommen. Dabei scheinen mehrere Mechanismen wie Nekrose, Nekrose-ähnlicher programmierte Zelltod und Apoptose am Zelluntergang beteiligt zu sein (ESHRAGHI und VAN DE WATER 2006). In Tiermodellen konnte gezeigt werden, dass dem Verlust der Haarzellen aufgrund der fehlenden trophischen Versorgung der neuronalen Zellen eine Degeneration der peripheren Dendriten und schließlich der Ganglienzellen folgt (CLARK 2003).

Um das Risiko eines postoperativen Hörverlustes zu minimieren, erfolgte in den letzten Jahren eine Modifizierung und Weiterentwicklung der Elektroden durch die Hersteller hin zu atrautamischen Elektrodentypen, die zum einen flexibler, zum anderen dünner und teilweise kürzer sind. Weiterhin kann durch eine Anpassung der Operationstechnik und eine Implantation über das Runde Fenster das durch das Einführen des Elektrodenträgers verursachte Implantationstrauma weiter verringert werden. Trotz dieser Fortschritte gelingt es dennoch nicht in allen Fällen, das Resthörvermögen zu erhalten. So tritt bei etwa einem Drittel der Patienten postoperativ ein teilweiser oder kompletter Verlust des Resthörvermögens auf (GSTOETTNER et al. 2008). Einen weiteren Ansatz zur Protektion der verbliebenen Haarsinneszellen und auditorischen Neuronen stellt die Applikation von pharmakologisch wirksamen Substanzen, unter anderem von Glucocorticoiden, dar.

4 COCHLEA-IMPLANTATE UND MENINGITIDEN

4.1 Medizinische Risiken

Die medizinischen Risiken einer Cochlea-Implantation sind im Allgemeinen gering. Wie bei anderen Operationen am Mittel-/oder Innenohr unter Vollnarkose können dennoch als Komplikationen postoperative Entzündungen, Schädigung des *Nervus facialis*, Sensibilitätsstörungen im Bereich der Ohrmuschel, Gleichgewichtsstörungen und Störungen des Geschmacksempfindens auftreten. Bei vorhandenem Resthörvermögen kann es durch die Implantation zu einem Verlust desselben kommen. Weiterhin kann ein Tinnitus auftreten. Eine seltene, aber schwerwiegende Komplikation nach Cochlea-Implantation stellt die Meningitis dar.

4.2 Cochlea-Implantate und Meningitiden

Im Jahr 2002 informierte die U. S. Food and Drug Administration (FDA) erstmals über einen Anstieg der Meningitis-Fälle bei Cochlea-Implantat-Empfängern und einen möglichen Zusammenhang zwischen Cochlea-Implantaten und dem Auftreten bakterieller Meningitiden (U. S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION 2002). Bis September 2003 wurden weltweit 118 Fälle bakterieller Meningitis gemeldet, davon 55 Fälle in den Vereinigten Staaten und 63 Fälle in anderen Ländern. Das Alter der Patienten reichte dabei von 13 Monaten bis 81 Jahren. Der Zeitpunkt des Auftretens der Erkrankung lag zwischen 24 Stunden nach der Implantation bis zu mehr als 6 Jahre, wobei bei 60 % der Patienten die Erkrankung innerhalb des ersten Jahres nach der Implantation, meist innerhalb der ersten Wochen, auftrat (U. S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION 2002). In einer im Jahr 2003 veröffentlichten Studie der Centers for Disease Control (CDC) wurde das Risiko der bakteriellen Meningitis bei Kindern mit Cochlea-Implantaten untersucht. Die Studie schloss insgesamt 4.264 Kinder im Alter von bis zu 6 Jahren ein, die zwischen Januar 1997 und August 2002 ein Cochlea-Implantat erhalten hatten. Die Inzidenz der Meningitis-Fälle nach der Implantation lag bei 138,2 Fällen pro 100.000 Personen pro Jahr, was etwa dem 30-fachen gegenüber Gleichaltrigen einer Kontrollgruppe aus der Normalbevölkerung entspricht (REEFHUIS et al. 2003). In einer Folgestudie von September 2002 bis Dezember 2004 konnten zwölf weitere Meningitis-Fälle erfasst werden (BIERNATH et al. 2006).

Die Frage, ob ein Cochlea-Implantat als prädisponierender Faktor das Risiko einer Meningitis erhöht, konnte bisher noch nicht eindeutig beantwortet werden. Ein Grund ist wohl, dass es über bisherige Patientenstudien lediglich gelang, die Inzidenz der Meningitis unter Cochlea-Implantat-Empfängern und in der Normalbevölkerung zu erfassen (BIERNATH et al. 2006,

REEFHUIS et al. 2003). Die tatsächliche Inzidenz der Meningitis unter Hörbehinderten scheint jedoch nicht bekannt zu sein. Darüber hinaus konnten in den Studien bei Cochlea-Implantat-Empfängern einige Risikofaktoren identifiziert werden, die das Auftreten einer Meningitis begünstigen. Hierzu zählen angeborene oder erworbene anatomische Innenohrdefekte, insbesondere mit offenem Zugang zum Liquorraum und nicht mehr intakter Blut-Hirn-Schranke, Otitis media oder Meningitis in der Vorgeschichte, Frakturen im Bereich der Schädelbasis, ventrikulo-peritoneale Shunts (Cerebralshunts), sowie Immunsuppression (BIERNATH et al. 2006, REEFHUIS et al. 2003, RUBIN 2010). In der US-Studie der CDC konnte zudem ein signifikant höheres Risiko für Meningitis bei Kindern mit einem speziellen Implantattyp nachgewiesen werden. Es handelt sich dabei um ein Modell mit einem so genannten „Positioner“ (AB 5100H oder AB5100H11. Fa. Advanced Bionics, Symlar), der den Elektrodenträger nach der Implantation in einer Position nahe des *Modiolus* halten sollte. Studien aus England und Europa konnten diesen Zusammenhang jedoch nicht bestätigen (SUMMERFIELD et al. 2005). Aus Sicherheitsgründen wurde dieser Implantattyp im Juli 2002 durch den Hersteller vom Markt genommen. Als weitere Maßnahme wurden Empfehlungen zur Vakzination von Cochlea-Implantat-Empfängern gegen die Haupterreger *Streptococcus pneumoniae* und *Haemophilus influenzae Typ B* herausgegeben und zur Meldung von Meningitis-Fällen an zentrale Behörden aufgefordert. Trotz dieser Maßnahmen treten jedes Jahr neue Fälle von Meningitiden bei Cochlea-Implantat-Empfängern auf.

4.3 Häufige Meningitiserreger

In einer weltweiten Studie untersuchte die U. S. Food and Drug Administration (FDA) Liquorproben aus insgesamt 69 Fällen. Der am häufigsten nachgewiesene Erreger war *Streptococcus pneumoniae* (46 Fälle), es folgten *Haemophilus influenzae Typ B* und andere (9 Fälle), *Escherichia coli* (4 Fälle), *Streptococcus viridans* (3 Fälle), *Staphylococcus* spp. (4 Fälle) und andere unspezifische Bakterien (4 Fälle) (U. S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION 2002). Auch in weiteren Studien konnte *Streptococcus pneumoniae* als einer der häufigsten Meningitis-Eerreger nachgewiesen werden (BIERNATH et al. 2006, REEFHUIS et al. 2003).

4.4 *Streptococcus pneumoniae*

4.4.1 Eigenschaften

Streptococcus pneumoniae ist ein gram-positives Bakterium, das zur Gruppe der α -hämolsierenden Streptokokken zählt. Pneumokokken sind rund-ovale bis lanzettförmige Kokken mit einer Größe zwischen 0,5 und 2 μm . Aufgrund ihrer paarweisen Lagerung wurden sie früher auch als Diplokokken bezeichnet. Obwohl auch unbekapselte Formen existieren, besitzen die meisten klinischen Isolate eine Polysaccharidkapsel. Aufgrund der chemischen Struktur der Kapselpolysaccharide können derzeit 91 verschiedene Serovare unterschieden werden (BENTLEY et al. 2006, PARK et al. 2007). Auf Blutagarplatten wachsen Pneumokokken als glatte, schleimig glänzende Kolonien mit einer zentralen Eindellung und einem grünlichen Hämolysehof. Die Anzucht der fakultativen Anaerobier erfolgt unter mikroaerophilen Bedingungen in einer 5 – 10 %-igen CO_2 -Atmosphäre. Wachstums- und Temperaturoptimum liegen bei 37 °C. Die Abgrenzung zu anderen α -hämolsierenden Streptokokken erfolgt durch ihre Empfindlichkeit gegenüber Optochin (Ethylhydrocuprein) (BOWERS und JEFFRIES 1955), die Lyse der Zellen in Gegenwart von Galle sowie die Zusammensetzung der Polysaccharide in ihrer Zellwand (HAHN et al. 2005). Die für gram-positive Bakterien typische Zellwand ist je nach Stamm 16 - 25 nm dick und besteht wie bei allen gram-positiven Bakterien aus einer mehrlagigen Peptidoglykanschicht mit daran gebundenen oder darin eingebetteten Teichonsäuren, Proteinen und Kapselpolysacchariden.

4.4.2 Virulenzfaktoren

Pneumokokken besitzen eine Reihe von Pathogenitäts- und Virulenzfaktoren, die ihre Funktion in der Adhäsion und Invasion humaner Epithelzellen haben. Bei den meisten der bislang charakterisierten Virulenzfaktoren handelt es sich um Strukturen auf der Zelloberfläche und einige zytoplasmatische Proteine. Als Hauptvirulenzfaktor wird das Kapselpolysaccharid angesehen (KOEDEL et al. 2002), das anti-phagozytäre Eigenschaften besitzt und den Bakterien dadurch Schutz vor Phagozytose durch das Immunsystem verleiht. Die Kapselpolysaccharide sind an die Zellwand der Bakterien gebunden. Ein weiterer Bestandteil der Zellwand von *Streptococcus pneumoniae* sind Teichonsäuren. Dies sind anionische, phosphodiesterhaltige Polymere, die entweder kovalent an das Peptidoglykan gebunden (Wandteichonsäuren = wall teichonic acids) oder über einen Lipidanker in der Cytoplasmamembran verankert sind (Lipo-teichonsäure = lipoteichonic acids). An die Teichonsäurensäurereste ist Phosphorylcholin gebunden, das die nicht-kovalente Bindung so genannter Cholin-Bindeproteine (CBP) vermit-

telt. Pneumokokken können 13 - 16 verschiedene CBPs produzieren, die eine wichtige Rolle als Virulenzfaktoren spielen (GOSINK et al. 2000). Zur Gruppe der cholinbindenden Proteine gehören unter anderem die Zellwand-Hydrolasen LytA, LytB, LytC und CbpD, sowie die Virulenzfaktoren CbpA und PspA (*pneumococcal surface protein A*). Das Autolysin LytA trägt durch Lyse der Pneumokokkenzellwand und Freisetzung von zytoplasmatischen und zellwandständigen Virulenzfaktoren wie Pneumolysin und Neuraminidase zur Gewebsschädigung bei (BERRY et al. 1989). Die Autolysine LytB, LytC, sowie die CBPs CbpA und CbpD spielen eine Rolle bei der Kolonisation des Nasopharynx (GOSINK et al. 2000). PspA trägt zur Virulenz bei, indem es die Bindung von Komplement 3b verhindert und somit die Aktivierung des alternativen Komplementaktivierungswegs unterbindet (TU et al. 1999). Dadurch wird die komplementvermittelte Phagocytose eingedämmt. Weitere über Teichonsäurereste an die Zellwand gebundene Proteine stellen Hyaluronidase und Neuramidase dar. Diese spalten Hyaluronsäure und Neuraminsäure in Bindegewebe und der Extrazellulärmatrix eukaryotischer Zellen. Pneumolysin ist ein Virulenzfaktor, der von nahezu allen klinischen Isolaten von *Streptococcus pneumoniae* gebildet wird. Es stellt den einzigen Virulenzfaktor dar, der nicht aus der Zelle abgegeben wird, sondern im Zytoplasma verbleibt, und erst bei Zerfall der Zelle freigesetzt wird. Es handelt sich hierbei um ein porenbildendes Zytotoxin, das die Lyse eukaryotischer Zellen durch Bildung von oligomeren Poren in der cholesterinhaltigen Membran hervorruft. Darauf hinaus aktiviert Pneumolysin über die Bindung an IgG unspezifisch das Komplementsystem und induziert die Entzündungsreaktion durch Aktivierung der Phospholipase A₂ (ROSSJOHN et al. 1998) und weiterer Entzündungsmediatoren wie TNF α , Prostaglandinen und Leukotrienen. Gleichzeitig hemmt Pneumolysin unspezifische Abwehrmechanismen der Wirtszelle, wie z. B. die Zilienfunktion, und zerstört die Integrität epithelialer Zellverbände durch Auflösung interzellulärer Verbindungen (*tight junctions*).

5 DEXAMETHASON

5.1 Allgemeine Pharmakologie

5.1.1 Chemie, Stoffwechsel und Pharmakokinetik

Dexamethason ist ein künstlich synthetisiertes Glucocorticoid. Die wichtigsten endogenen Glucocorticoide sind Cortison, Corticosteron und Cortisol (Hydrocortison). Glucocorticoide sind Nebennierenrinden-Hormone, die natürlicherweise überwiegend in der *Zona fasciculata* der Nebennierenrinde gebildet werden. Sie sind an der Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels beteiligt und beeinflussen den Fett- und Proteinstoffwechsel. Chemisch gesehen sind alle Stoffe mit glucocorticoider Wirkung Derivate des Pregnans, einem Steroid mit 21 C-Atomen. Medizinische Bedeutung erlangten die Glucocorticoide aufgrund ihrer anti-phlogistischen Eigenschaften (GÄRTNER und HAEN 2002).

Das Ziel der Synthesierung von Glucocorticoid-Derivaten war ursprünglich eine Steigerung der Wirksamkeit bei gleichzeitiger Verminderung der Nebenwirkungen. So konnte neben einer Wirkungssteigerung auch eine verminderte Affinität der Derivate für Mineralcorticoid-Rezeptoren erzielt werden. Während endogene Glucocorticoide mit gleicher Affinität sowohl an Glucocorticoid-Rezeptoren als auch an Mineralocorticoid-Rezeptoren binden, fehlt diese Eigenschaft bei den synthetischen Derivaten (**Tab. 1**) (FORTH et al. 2002).

Tab. 1: Rezeptoraffinität und Plasmahalbwertszeit verschiedener Steroide im Vergleich

| Glucocorticoid | relative glucocorticoide | relative mineralocorticoide | $t \frac{1}{2}$ (min) |
|----------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| | Potenz | Potenz | |
| Cortisol | 1 | 1 | 87 - 96 |
| Dexamethason | 30 | 0 | 201 - 255 |

Der Serumcortisolspiegel des Menschen schwankt zwischen 5 und 25 µg pro 100 ml. Die natürliche Cortisolausschüttung erfolgt pulsatil in einem circadianen Rhythmus. Die höchsten Cortisolkonzentrationen können beim Menschen morgens zwischen 3.00 und 10.00 Uhr gemessen werden. Cortisol wird im Blut zu mehr als 90 % an Proteine gebunden, davon etwa zu 75 % an das Transportprotein Transcortin, etwa zu 15 % an Albumin und nur etwa 10 % zirkulieren frei. Synthetische Glucocorticoide werden mit Ausnahme von Prednisolon kaum an Transcortin gebunden. Sie werden zu etwa 60 % unspezifisch an Albumin gebunden, der Rest zirkuliert frei. Die Halbwertszeit ($t \frac{1}{2}$) von Cortisol beträgt ca. 90 Minuten. Die

Plasmahalbwertszeiten von synthetischen Derivaten sind wesentlich länger, wodurch auch teilweise die größere biologische Wirksamkeit erklärt werden kann (**Tab. 1**) (GÄRTNER und HAEN 2002).

5.1.2 Wirkung und Wirkmechanismen

Derzeit werden zwei Wirkmechanismen der Glucocorticoide beschrieben:

- 1 Wirkung über intrazelluläre Glucocorticoid-Rezeptoren mit anschließender Aktivität an Genen

Glucocorticoid-Rezeptoren liegen in inaktivierter Form an ein Hitzeschockprotein (HSP 90) gebunden im Cytosol vor. Nach Glucocorticoidbindung kommt es zu einer Dissoziation von diesem Protein und der Hormon-Rezeptor-Komplex wandert zum Zellkern, wo er an Glucocorticoid-responsive Elemente der DNA bindet und die Transkription verschiedener Gene reguliert (BARNES 2006). Dieser Effekt setzt erst mit einer Latenz von mehreren Stunden ein und ist zudem gekennzeichnet durch die Abhängigkeit von der Proteinbiosynthese.

- 2 Wirkung über Membran-integrierte Rezeptoren

Die sofort einsetzende Wirkung der Glucocorticoide wird über die Bindung an spezielle Membran-integrierte Rezeptoren vermittelt, wodurch vermutlich eine Second-messenger-Kaskade aktiviert wird. Als Second Messenger wirken dabei Phospholipase C, Proteinkinase C, sowie die Veränderung des intrazellulären pH-Werts und des intrazellulären Ca^{2+} -Gehalts (SCHMIDT et al. 1998). Für das Vorhandensein eines solchen Mechanismus spricht, dass die über Membran-integrierte Rezeptoren vermittelten Wirkungen nicht durch Steroidrezeptor-Antagonisten gehemmt werden können. Weiterhin können Steroide auch Wirkungen an kernlosen Zellen (Erythrozyten, Thrombozyten) vermitteln und Steroid-Analoga, die nicht ins Zellinnere eindringen, ebenfalls eine Wirkung an Zellen auslösen (STELLATO 2004).

Tab. 2 gibt eine Übersicht über die rezeptorvermittelte Wirkung von Glucocorticoiden in verschiedenen Stoffwechselgebieten.

Tab. 2: Wirkung von Glucocorticoiden

| Betroffenes Stoffwechselgebiet | Wirkmechanismus | Literatur |
|--------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| Immunsystem | <ul style="list-style-type: none"> • Hemmung der Cytokinsynthese (Interleukin 1-6, Interleukin 8, TNFα, Granulozyten/Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor) • Hemmung der Induktion proinflammatorischer Enzyme (iNOS, cPLA₂) • Synthese antiinflammatorischer Proteine (Lipocortin 1, Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist) • Hemmung der Induktion von Zellinteraktionsmolekülen • Hemmung der Ausschüttung präformierter Mediatoren (z. B. Histamin) • Beschleunigter Abbau von Mediatoren (z. B. Bradikinin, Tachykinine) • Induktion der Akutphase-Proteine in der Leber • Inhibition der Zellinteraktionen von Entzündungszellen (eosinophile Granulozyten, T-Lymphozyten, Mastzellen) | (GÄRTNER und HAEN 2002) (BARNES 1998) (AUPHAN et al. 1995) (MESSER und RUPEC 2001) |
| kardiovaskuläres System | <ul style="list-style-type: none"> • positive inotrope Wirkung • Gefäßkonstriktion • Bildung von Adrenalin und Angiotensinogen • Hypertension durch Na⁺-Retention und verminderte Wasserausscheidung | (GÄRTNER und HAEN 2002) |
| Glucose-Stoffwechsel | <ul style="list-style-type: none"> • Förderung der Gluconeogenese aus Aminosäuren • Steigerung des Glucoseumsatzes • Abnahme der Glucosetoleranz und Insulinempfindlichkeit | (GÄRTNER und HAEN 2002) (KLINKE et al. 2005) |
| Protein-Stoffwechsel | <ul style="list-style-type: none"> • Förderung des Proteinabbaus (katabole Wirkung) • Vermehrte Ausscheidung von Aminosäuren und Harnsäure | (GÄRTNER und HAEN 2002) (KLINKE et al. 2005) |
| Lipid-Stoffwechsel | <ul style="list-style-type: none"> • Förderung der lipolytischen Wirkung von Catecholaminen und lipolytischen Peptiden • Umverteilung des Körperfetts (Stammfettsucht) | (GÄRTNER und HAEN 2002) |
| Calciumstoffwechsel | <ul style="list-style-type: none"> • Erhöhung der Ca²⁺-Ausscheidung über die Nieren • Hemmung der Ca²⁺-Resorption aus dem Darm • Knochenabbau | (GÄRTNER und HAEN 2002) |

| Betroffenes Stoffwechselgebiet | Wirkmechanismus | Literatur |
|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| Muskulatur und Bindegewebe | <ul style="list-style-type: none">• Verminderung der Fibroblasten und Kollagensynthese• Muskelschwäche durch Proteinabbau | (KLINKE et al. 2005) |
| Wasser- und Elektrolythaushalt | <ul style="list-style-type: none">• Steigerung der glomerulären Filtrationsrate• Verminderte Wasserausscheidung (mineralocorticoide Wirkung)• Hypokaliämie und metabolische Alkalose durch vermehrte K^+-Ausscheidung• Vermehrte Na^+-Retention | (GÄRTNER und HAEN 2002) |
| NO-Synthese | <ul style="list-style-type: none">• Hemmung der Induktion der NO-Synthase (iNOS) | (DI ROSA et al. 1990) |

5.1.3 Expression von Glucocorticoid-Rezeptoren in der Cochlea

Glucocorticoid-Rezeptoren im Innenohr wurden zunächst in verschiedenen Tiermodellen nachgewiesen. 1989 identifizierten RAREY und LUTTGE zum ersten Mal Mineralocorticoid-Rezeptoren in der Cochlea und dem vestibulären Gewebe der Ratte (RAREY und LUTTGE 1989). 1996 wiesen RAREY und CURTIS Glucocorticoid-Rezeptoren im cochleären und vestibulären Labyrinth des menschlichen Innenohrs nach (RAREY und CURTIS 1996). Die höchste Konzentration an Glucocorticoid-Rezeptoren in der Cochlea konnte im *Ligamentum spirale* gefunden werden, mittlere Konzentrationen im Bereich des Corti-Organs und die niedrigsten im Gewebe der *Stria vascularis*. Im vestibulären Labyrinth variierte die Anzahl an Glucocorticoid-Rezeptoren in den sensorischen und nicht-sensorischen Regionen. Hohe Konzentrationen konnten in der *Crista ampullaris* und den *Maculae utriculi* nachgewiesen werden. Niedrigere Konzentrationen enthielten die *Maculae* der *Sacculae*. Nicht-sensorische Gebiete der Bogengänge zeigten ebenfalls eine hohe Dichte an Glucocorticoid-Rezeptoren, während die *Crista ampullaris* und die hinteren Wand des *Utriculus* eine geringere Anzahl an Glucocorticoid-Rezeptoren aufwiesen (RAREY und CURTIS 1996).

5.2 Therapie des Innenohrs

5.2.1 Therapie des Innenohrs mit Glucocorticoiden

Die Behandlung mit Glucocorticoiden ist die weltweit häufigste pharmakologische Intervention bei akuten Hörverlusten verschiedener Ursachen, z. B. dem akutem idiopathischen Hörverlust oder Hörverlust nach der Exposition gegenüber ototoxischen Substanzen oder schädlichen Lärmbelastungen. Die Wirksamkeit von Glucocorticoiden konnte in verschiedenen Traumamodellen, so beispielsweise bei akutem akustischem Trauma (TAKEMURA et al. 2004, WEI et al. 2006a), Aminoglykosid-Ototoxizität (HIMENO et al. 2002), Pneumokokken-Meningitis (KIM et al. 2007), autoimmunassoziiertem Hörverlust (TRUNE et al. 1999), Cochleostomie (YE et al. 2007) und Insertionstrauma nach Cochlea-Implantation (ESHRAGHI et al. 2007, JAMES et al. 2008a) nachgewiesen werden. Bei der Therapie des Innenohrs spielen vermutlich verschiedene Wirkmechanismen der Glucocorticoide eine Rolle, wie beispielsweise die antiphlogistische Wirkung durch die Blockade proinflammatorischer Mediatoren und die immunsuppressive Wirkung. Zudem besitzen Glucocorticoide antioxidative Wirksamkeit. Insbesondere Dexamethason weist durch Unterdrückung der Stress-induzierten Signalkaskade unter Beteiligung des Transkriptionsfaktors NFκB eine antiapoptotische Wirkung auf, die in einem Modell nach akustischen Traumata nachgewiesen werden

konnte (CANLON et al. 2007). In verschiedenen Tiermodellen untersuchte Wirkmechanismen, wie z. B. die Stabilisierung der Gefäßbarriere gegenüber zirkulierenden Entzündungsmediatoren und Immunkomplexen, eine Verminderung der Produktion und Wirkung von Vasopressin sowie die Erhöhung der Expression von Aquaporinen im Innenohr, könnten zudem Einfluss auf die Innenohrhomöostase haben (TRUNE 2006) und so zum Schutz der Innenohrstrukturen beitragen.

5.2.2 Methoden zur lokalen Medikamenten-Applikation im Innenohr

In den letzten Jahren hat die lokale Applikation von Medikamenten zur Therapie von Innenohrkrankungen ein steigendes Interesse erfahren. Viele Innenohrkrankungen können über eine systemische Therapie nicht adäquat behandelt werden. Dabei limitiert die Blut-Cochlea-Barriere (oder auch Blut-Labyrinth-Barriere), die in ihrem anatomischen Aufbau und in ihrer Funktion der Blut-Hirn-Schranke entspricht, den Übertritt von Medikamenten aus dem Blutstrom (JUHN 1988). Eine lokale Applikation ermöglicht höhere intracochleäre Wirkspiegel im Vergleich zur systemischen Applikation (BACHMANN et al. 2001, BIRD et al. 2007). Weiterhin können systemische Nebenwirkungen verringert werden.

Medikamente zur Therapie von Innenohrkrankungen können entweder direkt intracochlear oder intratympanal an die Rund-Fenster-Membran appliziert werden. Bezuglich der lokalen Medikamentenapplikation an das Innenohr bestehen pharmakokinetische Besonderheiten, die berücksichtigt werden müssen. Im Vergleich zum systemischen Blutkreislauf werden die Innenohrflüssigkeiten nicht aktiv durchmischt, Substanzen verteilen sich im Wesentlichen passiv durch Diffusion. In präklinischen Studien konnte ein ausgeprägter baso-apikaler Konzentrationsgradient im Innenohr und fehlende gleichförmige Verteilung nach intratympanaler Applikation nachgewiesen werden (MYNATT et al. 2006, PLONTKE et al. 2008a). Hinzu kommt eine hohe Variabilität der intracochleären Konzentration nach Applikation an die Rund-Fenster-Membran (ARNOLD et al. 2005, BACHMANN et al. 2001, BIRD et al. 2007) sowie die Clearance von intratympanal applizierten Substanzen aus Mittel- und Innenohr (BIRD et al. 2007, PLONTKE et al. 2008b, PLONTKE und SALT 2006). Die lokale Applikation an die Rund-Fenster-Membran stellt so aus pharmakokinetischer Sicht aufgrund der raschen Verteilung lokal applizierter Substanzen über die laterale Wand (*Ligamentum spirale*) in die *Scala vestibuli* und das Vestibulum in erster Linie eine interessante Strategie für die Therapie vestibulärer Erkrankungen dar. Durch die Eröffnung des Innenohrs zur Implantation des Elektrodenträgers bietet die Cochlea-Implantation die Möglichkeit der direkten intracochleären Mediakamentenapplikation. Verschiedene Strategien umfassen die Gabe des Medika-

ments an die Rund-Fenster-Membran vor der Implantation (BIRD et al. 2007), einmalige Injektion von Substanzen in die *Scala tympani* während der Implantation (KIEFER et al. 2004) oder Tränken des Elektrodenträgers mit Medikamentenlösungen oder Gelformulierungen vor der Insertion. Daneben kann das Implantat als Medikamententräger genutzt werden. Pharmakologisch wirksame Substanzen können in diesem Fall über ein Reservoir im Inneren des Elektrodenträgers oder über ein Pumpensystem durch einen Katheter in die Cochlea eingebracht werden (GARNHAM et al. 2005, HOCHMAIR et al. 2006). Weiterhin kann die Oberfläche des Elektrodenträgers mit der Medikamentenformulierung beschichtet werden („Coating“) (RICHARDSON et al. 2009) oder die zu applizierenden Substanz in das Material des Elektrodenträgers eingebunden werden (FARAHMAND GHAVI et al. 2010, JOLLY et al. 2010), sodass eine Abgabe des Medikaments nach der Insertion stattfindet.

5.3 Dexamethason-freisetzende Cochlea-Implantate

FARAHMAND GHAVI und Kollegen konnten zeigen, dass Dexamethason in kristalliner Form mit medizinischem Silikon, das für Elektrodenträger der Cochlea-Implantate verwendet wird, gemischt werden kann (US patent publication No. 2007/0213799A1) (FARAHMAND GHAVI et al. 2010). Bei Kontakt mit Flüssigkeit löst sich das Dexamethason in der Silikonmatrix und diffundiert aus dem Silikonträger. Nach einem Abgabemaximum am Anfang stellt sich relativ schnell eine gleichbleibende Abgabe des Dexamethasons ein. Die Abgaberate ist dabei abhängig von der Oberfläche, die mit Flüssigkeit in Kontakt steht. Die Abgabedauer wird durch den Durchmesser des Silikonträgers und den Anteil an Dexamethason bestimmt. Silikonträger in der Größe derzeit verwendeter Elektrodenträger ermöglichen eine Dexamethasonabgabe in geringen Mengen bis hin zu mehreren Monaten. Das mit Dexamethason vermischtte Silikon weist bis auf eine höhere Opazität keine veränderten Eigenschaften im Vergleich zu reinem Silikon auf. Dies insbesondere im Hinblick auf die physikalischen Eigenschaften des Elektronenträgers, wie z. B. die Steifigkeit, von großer Bedeutung. Die Steifigkeit beeinflusst das Vorschieben des Elektrodenträgers in die Cochlea während der Implantation und somit das Ausmaß des Insertionstraumas.

5.3.1 Pharmakokonzentration im Innenohr

In vorausgegangenen Studien wurden die Eigenschaften Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate (10 % w/w Dexamethason = 10 Gewichtsprozent, 10 % des Gewichts des Silikons sind Dexamethason) sowohl *in vitro* in einem Kapillarmodell (**Abb. 6**) als auch *in vivo* am Meerschweinchen untersucht (KIEFER et al. 2008). *In vivo* wurde die Dexamethason-

menge, die über Dexamethason-freisetzende Implantate (10 % w/w Dexamethason) in die Cochlea abgegeben wurde, in der Perilymphe mittels HPLC gemessen. Die gemessene Konzentration hatte ihr Maximum 60 min (4,7 µg/ml) nach der Implantation und lag nach 24 Stunden bei 0,5 µg/ml (KIEFER et al. 2008). *In vitro* konnte eine kontinuierliche Abgabe von Dexamethason über einen Zeitraum von bis zu 90 Tagen gezeigt werden (Abb. 6).

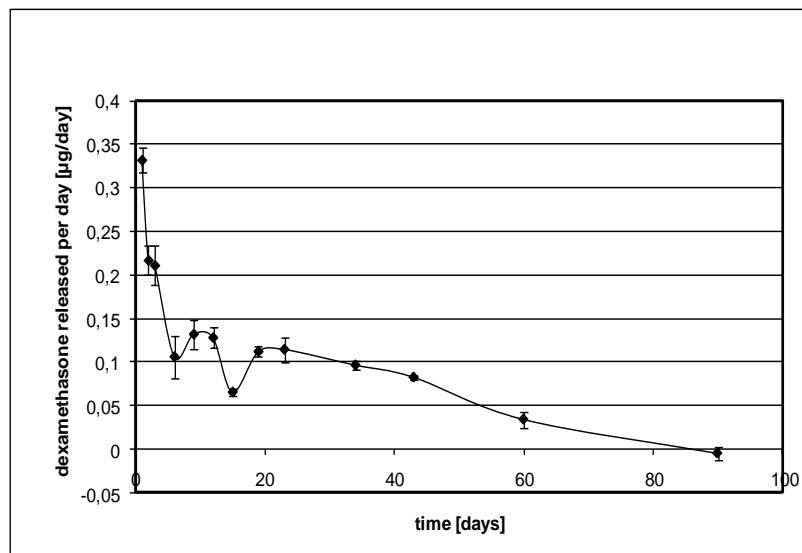


Abb. 6: Abgabeeigenschaften Dexamethason-freisetzender Implantate *in vitro*

Dexamethason-freisetzende Cochlea Implantate (10 % w/w Dexamethason, n=2) wurden in 1 ml Kochsalzlösung bei 37°C verbracht. Jeweils 100 µl Kochsalzlösung wurden am Tag der Messung entnommen und ersetzt. Aus den entnommenen Proben wurde die Dexamethason-Konzentration mittels HPLC bestimmt.

5.3.2 Auswirkungen auf das Hörvermögen

Die Wirksamkeit Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate in Bezug auf den Hörerhalt nach der Implantation wurde *in vivo* in einem Meerschweinchenmodell untersucht (KIEFER et al. 2008). Hierfür wurden normalhörende Meerschweinchen einseitig mit Dexamethason-freisetzenden Implantaten (Dex) (2 % w/w Dexamethason) oder mit Dexamethason-freien (NoDex) Kontrollimplantaten implantiert.

Im Verlauf von sechs Monaten wurde das Hörvermögen und das Ausmaß des Hörverlust nach der Implantation regelmäßig mit ABR-Messungen (akustisch evozierte Hirnstammpotenziale) und Messungen der DPOAE (Distorsionsprodukte der otoakustischen Emissionen) überprüft. In der folgenden Abbildung (Abb. 7) sind die Ergebnisse der ABR- und DPOAE-Messungen für die verschiedenen Implantattypen dargestellt. Tiere, die mit einem Dexamethason-

freisetzenden Implantat (2 % w/w Dexamethason) implantiert worden waren, zeigten einen um durchschnittlich 10-15 dB geringeren Hörverlust nach der Implantation als Tiere mit Dexamethason-freien Implantaten (**Abb. 7**).

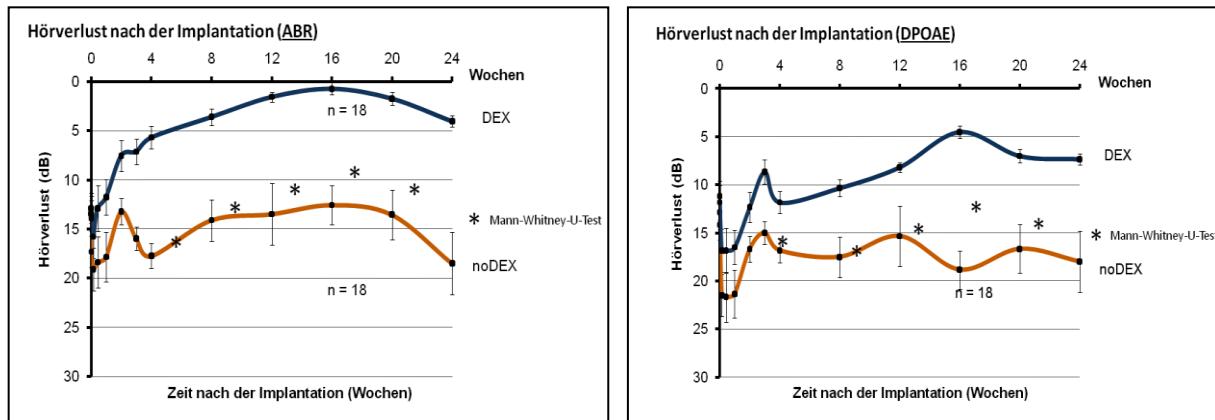


Abb. 7: Hörverlust nach der Implantation (ABR und DPOAE)

Hörverlust in dB nach der Implantation Dexamethason-freisetzender und Dexamethason-freier Implantate gemessen mit ABR und DPOAE. Tiere, die mit einem Dexamethason-freisetzenden Implantat (2 % w/w Dexamethason) implantiert worden waren, zeigten einen um durchschnittlich 10-15 dB geringeren Hörverlust nach der Implantation als Tiere mit Dexamethason-freien Implantaten (KIEFER et al. 2008, STARK et al. 2010)

5.3.3 Mögliche Risiken Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate

Bei der Beurteilung Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate im Hinblick auf das postoperative Infektionsrisiko müssen insbesondere zwei Nebenwirkungen der Glucocorticoide als mögliche Risikofaktoren in Betracht gezogen werden. Dies ist zum einen die immun-suppressive Wirkung der Glucocorticoide, zum anderen deren antiproliferativer Effekt.

Glucocorticoide führen über verschiedene Mechanismen zu einer Immunsuppression. Die Immunsuppression scheint dabei unter anderem über die Inhibition des Transkriptionsfaktors NF κ B vermittelt zu werden. NF κ B wird im Rahmen von Endzündungs- und Immunreaktionen durch verschiedene Stimuli wie Cytokine, oxydativen Stress, Bakterien, Viren und andere Pathogene aktiviert. NF κ B sind Transkriptionsfaktoren, die eine wichtige Rolle bei der Genregulation der Zellen des Immunsystems einnehmen. Sie sind an der Expression verschiedener Cytokine und Wachstumsfaktoren beteiligt, wie beispielsweise Interleukin (IL)-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, Tumornekrosefaktor (TNF)- α , TNF- β oder Granulozyten-/Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor. Reguliert werden weiterhin die Gene immunmodulierender Moleküle, wie der T-Zellrezeptoren TCR- α und - β oder der Haupthistokompatibilitäts-komplexe (MHC) der Klasse I und II (MESSER und RUPEC 2001). Einige dieser

Faktoren werden nicht nur durch NF κ B induziert, sondern sind auch selbst in der Lage, NF κ B zu aktivieren. Als Beispiel seien hier TNF- α , IL-1 und IL-6 genannt. NF κ B ist ein Dimer, das typischerweise aus einer p50- und einer p65-Untereinheit besteht. Im Zytoplasma liegt er an eine inhibitorische Untereinheit, I κ B, gebunden vor. Der wichtigste Inhibitor von NF κ B in der Familie der I κ B ist I κ B- α . Nach einem Stimulus kommt es zur Aktivierung einer I κ B-Kinase. Die inhibitorische Untereinheit löst sich und es erfolgt die Translokation des Transkriptionsfaktors in den Zellkern. Hier bindet der Transkriptionsfaktor an spezifische DNA-Bindungsstellen und steigert die Transkriptionsrate der Zielgene. Glucocorticoide stellen potente Inhibitoren von NF κ B dar. Die Inhibition des Transkriptionsfaktors erfolgt dabei über die Induktion des inhibitorischen Proteins I κ B- α auf mRNA- und Proteinebene sowie über Inhibition der p65-Untereinheit und der DNA-Bindung der Untereinheiten p50 und p65 durch den Glucocorticoid-Rezeptor (AUPHAN et al. 1995, RAY und PREFONTAINE 1994, SCHEINMAN et al. 1995) (Abb. 8). Diese Effekte, die zu einer Immunsuppression führen, können das Auftreten postoperativer Infektionen begünstigen.

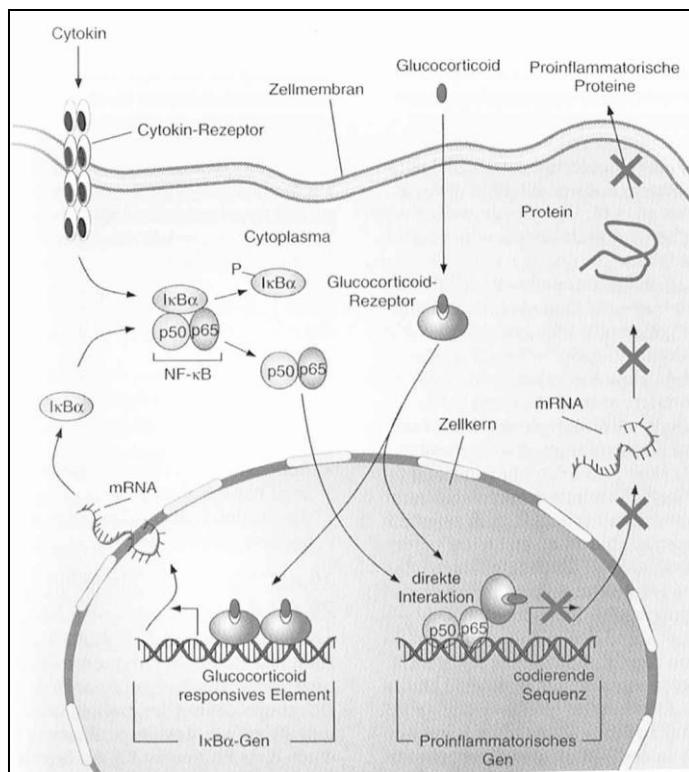


Abb. 8: Hemmung des Transkriptionsfaktors NF κ B durch Glucocorticoide

Glucocorticoide stellen potente Inhibitoren von NF κ B dar. Die Hemmung des Transkriptionsfaktors NF κ B erfolgt dabei über die Induktion des inhibitorischen Proteins I κ B- α auf mRNA- und Proteinebene sowie über die Inhibition der p65-Untereinheit und der DNA-Bindung der Untereinheiten p50 und p65 durch den Glucocorticoid-Rezeptor (aus Repetitorium Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Aktories, Förstermann, Hofmann und Starke, Urban und Fischer Verlag, 2009)

Neben der immunsuppressiven Wirkung müssen die antiproliferativen Eigenschaften der Glucocorticoide als mögliche Risikofaktoren in Betracht gezogen werden. Um das postoperative Infektionsrisiko zu reduzieren, wird ein rasches und reizarmes Einheilen des Implantats angestrebt. Im Verlauf des Einheilprozesses bildet sich eine Hülle aus Bindegewebe um das Implantat. Glucocorticoide beeinflussen unter anderem die Kollagensynthese und den Knochenstoffwechsel (KLINKE et al. 2005). Es konnte gezeigt werden, dass Glucocorticoide in physiologischen Konzentrationen die Knochenneubildung stimulieren, während pharmakologische Dosen die Kollagensynthese und den Knochenstoffwechsel hemmen. CANALIS et al. sowie DIETRICH et al. wiesen diese Effekte in *in-vitro*-Studien an fetalem Organgewebe der Ratte nach (CANALIS 1983, DIETRICH et al. 1979). In pharmakologischen Dosen hemmen Glucocorticoide die Funktion differenzierter Fibroblasten und somit die Zellproliferation (LUKERT et al. 1991). Zudem erhöhen sie in diesen Konzentrationen die Apoptoserate in Osteoblasten und Osteoklasten (WEINSTEIN et al. 1998). Das um das Implantat gebildete Bindegewebe stellt eine physikalische Barriere für aus dem Mittelohr aufsteigende Bakterien dar. Sollte die Bildung des Bindegewebes aufgrund der Nebenwirkung der Glucocorticoide verzögert stattfinden, kann dies aus dem Mittelohr aufsteigende Infektionen begünstigen.

Aufgrund der oben beschriebenen Wirkmechanismen der Glucocorticoide wurde in der vorliegenden Studie zunächst von einem durch Dexamethason-freisetzende Implantate verursachten, erhöhten Infektionsrisiko gegenüber Dexamethason-freien Implantaten ausgegangen.

III EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1 ZIELSETZUNG

Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung nicht Medikamenten-freisetzender sowie Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate im Hinblick auf das postoperative Meningitis-Risiko.

Das Versuchsvorhaben wurde in zwei Versuchsabschnitte geteilt: Anhand der Untersuchung verschiedener Bakterienkonzentrationen wurde im Rahmen der ersten Versuchsreihe eine bakterielle Prüfkonzentration für den Meningitis-Erreger *Streptococcus pneumoniae* bestimmt (**Versuch I**). Die in **Versuch I** evaluierte Prüfkonzentration wurde in einer anschließenden Vergleichsstudie (**Versuch II**) zur Beurteilung des postoperativen Meningitis-Risikos nach Implantation der verschiedenen Implantattypen (mit und ohne Dexamethason) verwendet.

Der Anteil erkrankter Tiere sollte bei Anwendung der Prüfkonzentration zwischen 20 und 45 % liegen, da das Risikoprofil Dexamethason-beladener Cochlea-Implantate aufgrund der immunsuppressiven und proliferationshemmenden Wirkung des Dexamethasons zunächst als höher gegenüber unbeladenen Implantaten eingestuft wurde. Diese niedrige Infektionsrate sollte es ermöglichen, in der Vergleichsstudie ein möglicherweise durch Dexamethason-beladene Cochlea-Implantate verursachtes, erhöhtes Infektionsrisiko zu erfassen.

Ob ein Cochlea-Implantat einen prädisponierenden Faktor darstellt, der das Risiko einer postoperativen Meningitis unabhängig von anderen Risikofaktoren erhöht, wurde im Rahmen der Vergleichsstudie durch einen Belastungsversuch nicht-implantiertiger Tiere untersucht.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchstiere

Verwendet wurden pigmentierte BFA-Meerschweinchen beiderlei Geschlechts der Firma Charles River WIGA GmbH in Sulzbach und der Universität Tübingen. Bei ihrer Ankunft wogen die Tiere zwischen 200 und 350 g. Die Tiere wurden in den Räumen des Instituts der Experimentellen Onkologie und Therapieforschung des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München untergebracht. Nach ihrer Ankunft und in der Zeit zwischen Implantation und Infektion wurden die Tiere in einem Raum mit 4,3 m² Grundfläche und einer Höhe von 2,08 m nach Geschlecht getrennt in Kolonie gehalten. Die Raumtemperatur betrug 19 °C bis 24 °C bei einer konstanten Luftdurchflussrate von 500 l/min und einer Luftfeuchte

von 50 bis 60 %. Über ein elektronisch gesteuertes 12- Stunden Hell-/Dunkel-System wurde ein circadianer Rhythmus geregelt. Das Futter bestand aus Wasser, Heu und Grünpellets (Altromin®) *ad libitum*. Als Einstreu wurde entkeimte Weichholzfaser verwendet.

Im Anschluss an die fünfjährige Einheilphase nach der Implantation wurden die Tiere für die Inokulation von *Streptococcus pneumoniae* in den Räumen des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München untergebracht. Nach der Exposition gegenüber den Erregern wurden die Tiere in Einzelkäfigen gehalten und über einen Zeitraum von fünf Tagen jeweils zweimal täglich auf klinische Symptome untersucht. Am fünften Tag nach der Inokulation oder bei Auftreten klinischer Symptome einer Meningitis erfolgte die Probenentnahme.

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß § 8 des Deutschen Tierschutzgesetzes durch die Regierung von Oberbayern (Versuchsvorhaben 55.2-1-54-2531-58-06) genehmigt.

2.2 Meningitiserreger *Streptococcus pneumoniae* D39

Für die Infektion wurde eine Keimsuspension verwendet, die auf eine bestimmte Konzentration (1×10^9 CFU/ml) eingestellt und anschließend unter Zusatz von 10 % Glycerol bei -80 °C tiefgefroren wurde. Durch Anlegen einer Verdünnungsreihe mit steriler, phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) ließen sich aus der Ausgangslösung Suspensionen verschiedener Konzentrationen herstellen. Die Keimkonzentrationen der jeweiligen Suspensionen wurden vor der Inokulation der Tiere durch Ausstreichen definierter und konstanter Volumina auf Columbia-Blutagarplatten und Berechnung der Keimzahl nach 48-stündigem Bebrüten der Platten unter mikroaerophilen Bedingungen bei 37 °C überprüft.

2.3 Cochlea-Implantate

Implantiert wurde ein an der Spitze konisch zulaufender Silikonstift, der in Form und Größe an die Cochlea des Meerschweinchens angepasst wurde. Ein Silikonstift hatte im Durchmesser zwischen 0,3 mm an der Spitze und 0,6 mm an der dicksten Stelle. Die Länge betrug 3 cm. Ein schwarzer Punkt bei 3 mm half die Implantationstiefe zu kontrollieren. Bei Dexamethason-freisetzenden Stiften ist das Silikon an der Spitze auf einer Länge von 5 mm mit Dexamethason (10 % w/w Dexamethason = 10 Gewichtsprozent, 10 % des Gewichts des Silikons sind Dexamethason) gemischt. Dexamethason-freisetzende Stifte sind an einer weißen (opaken) Spitze zu erkennen, während Dexamethason-freie Silikonstifte gleichmäßig durchsichtig sind (**Abb. 9**).

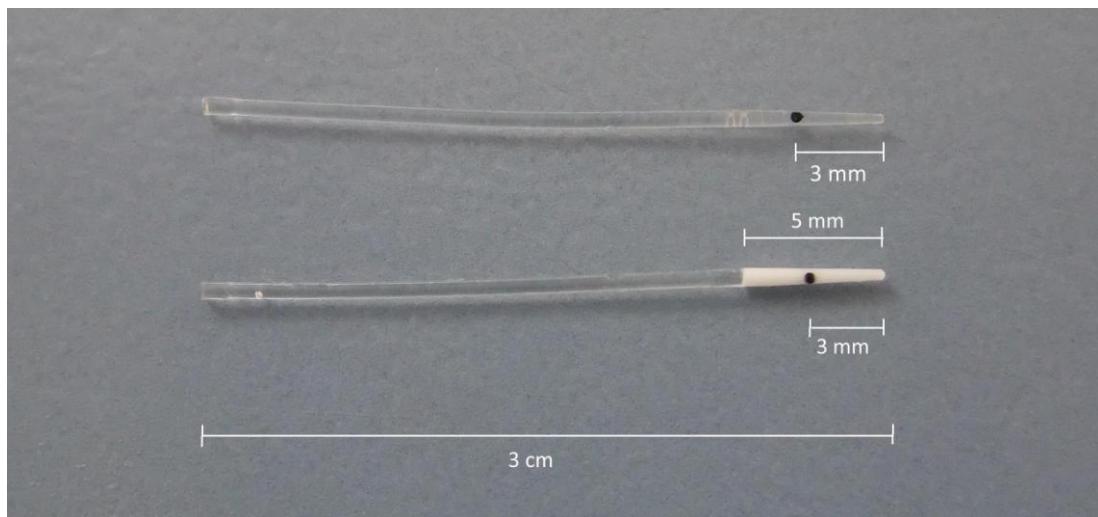


Abb. 9: Cochlea-Implantat

Oben: Dexamethason-freier Silikonstif

Unten: Dexamethason-freisetzender Silikonstif; auf einer Länge von 5 mm ist das Silikon des Implantats mit Dexamethason vermischt (10 % w/w Dexamethason)

2.4 Versuchsplan

Das Versuchsvorhaben wurde in zwei Versuchsabschnitte unterteilt. Ziel der ersten Versuchsreihe (**Versuch I**) war die Bestimmung einer bakteriellen Prüfkonzentration, die in der anschließenden Vergleichsstudie (**Versuch II**) zur Untersuchung Dexamethason-freisetzender und Dexamethason-freier Cochlea-Implantate verwendet werden sollte.

In **Versuch I** wurde den Tieren jeweils linksseitig ein Dexamethason-freier Silikonstift implantiert. Nach einer Einheilphase von fünf Wochen wurden die implantierten Tiere verschiedenen Bakterienkonzentrationen von *Streptococcus pneumoniae* exponiert. Nach der Inokulation wurde ein Zeitraum von fünf Tagen angesetzt. In diesem Zeitraum wurden die Tiere zweimal täglich auf klinische Symptome untersucht. An Tag 5 oder beim Auftreten klinischer Symptome einer Meningitis erfolgte die Probenentnahme (**Abb. 10**).

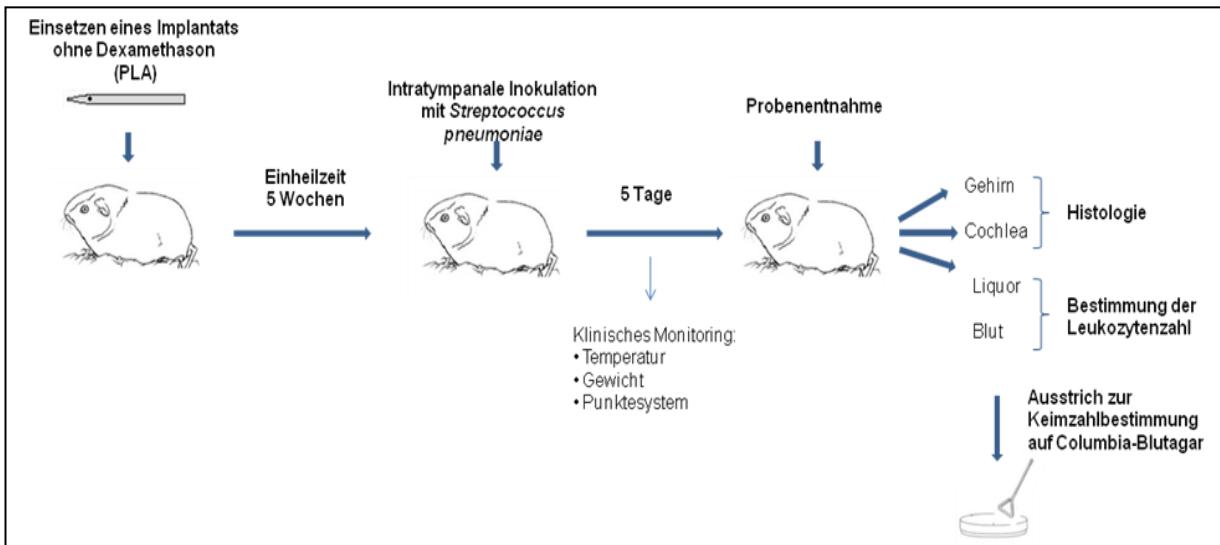


Abb. 10: Versuchsplan (Versuch I): Bestimmung der bakteriellen Prüfkonzentration

Für die Vergleichsstudie (**Versuch II**) wurden die Versuchstiere ebenfalls linksseitig wechselseitig mit Dexamethason-freisetzenden und Dexamethason-freien Silikonstiften implantiert. Nach einer Einheilzeit von fünf Wochen wurden die implantierten Tiere mit der aus den Vorversuchen ermittelten Keimzahl belastet. Einer dritten Gruppe von Tieren wurde vor der Inokulation kein Implantat eingesetzt. Nach der Exposition gegenüber dem Erreger wurden die Tiere analog zu dem Vorgehen in **Versuch I** für fünf Tage klinisch überwacht. An Tag 5 oder bei Auftreten klinischer Symptome erfolgte die Probenentnahme (**Abb. 11**).

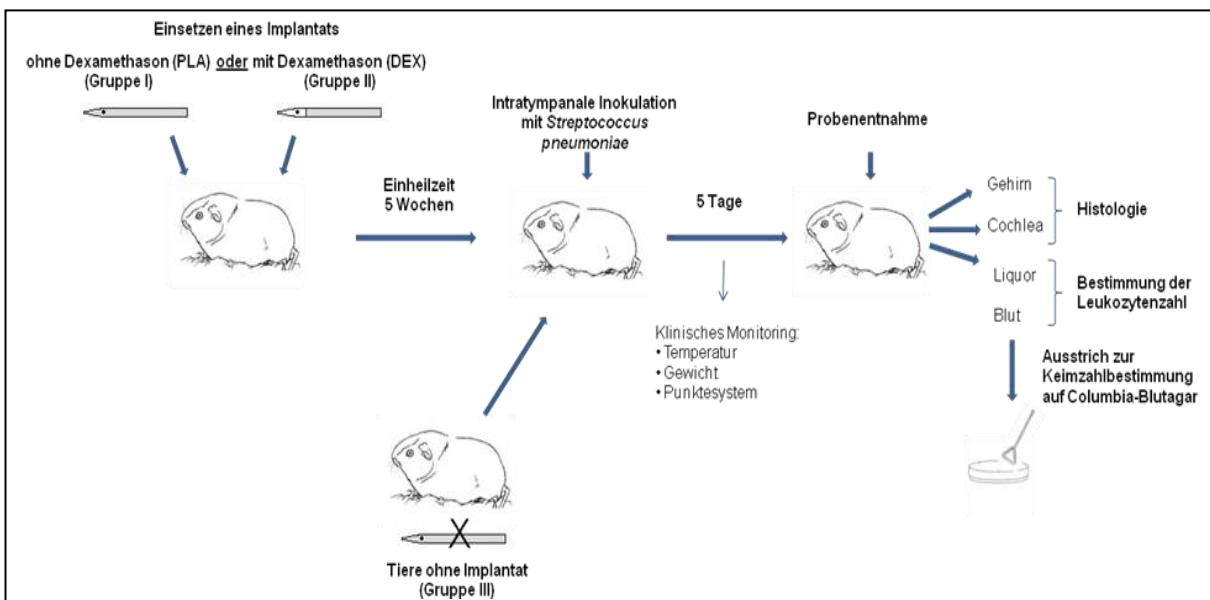


Abb. 11: Versuchsplan (Versuch II): Vergleichsstudie

2.4.1 Bestimmung einer bakteriellen Prüfkonzentration

In **Versuch I** wurde den Versuchstieren jeweils linksseitig ein Dexamethason-freier Silikonstift implantiert. Die Tiere wurden postoperativ für drei Tage mit einem Schmerzmittel (Metacam® 1,5 mg/ml Suspension zur oralen Eingabe, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, 0,2 mg/kg) und zur Infektionsprophylaxe ebenfalls für drei Tage mit einem Antiinfektivum (Baytril® 2,5 % orale Lösung, Bayer Healthcare AG, Leverkusen, 10 mg/kg) versorgt. Nach der Implantation wurde eine Einheilphase von fünf Wochen gewährt. Während dieser Zeit wurden die Tiere regelmäßig auf Zeichen einer Infektion (*Otitis media*) oder postoperativ auftretende Komplikationen untersucht.

Nach der Einheilphase von fünf Wochen wurden die implantierten Tiere verschiedenen Bakterienkonzentrationen des Meningitis-Erregers *Streptococcus pneumoniae* exponiert. Für die intratympanale Infektion wurden Keimkonzentrationen zwischen 1×10^9 CFU/ml und 1×10^4 CFU/ml gewählt und pro Konzentration eine bestimmte Anzahl an Tieren (n) infiziert (**Tab. 3**). Inokuliert wurden jeweils 10 µl der entsprechenden Ausgangssuspension.

Tab. 3: Versuchsplan Versuch I

| Elektrodenotyp | Keimkonzentration (CFU/ml) | Applizierte Menge (µl) | Anzahl inokulierter Tiere (n) |
|-------------------|----------------------------|------------------------|-------------------------------|
| ohne Dexamethason | 1×10^9 | 10 µl | 3 |
| ohne Dexamethason | 1×10^8 | 10 µl | 10 |
| ohne Dexamethason | 1×10^7 | 10 µl | 8 |
| ohne Dexamethason | 1×10^6 | 10 µl | 8 |
| ohne Dexamethason | 1×10^5 | 10 µl | 10 |
| ohne Dexamethason | 1×10^4 | 10 µl | 4 |
| gesamt | | | 43 |

Nach der Exposition wurden die Tiere in Einzelkäfigen untergebracht. Für einen Zeitraum von fünf Tagen wurden die Tiere zweimal täglich jeweils morgens und abends auf klinische Symptome untersucht und ihr Gesundheitszustand nach einem selbstentwickelten Bewertungsschema, das unter anderem verschiedene Parameter der klinischen Meningitis erfasst, beurteilt (siehe Abschnitt **III, 2.5.4.1 Klinische Überwachung der Versuchstiere**).

Das Versuchsende wurde für Tag 5 nach der Inokulation angesetzt. Zeigten Tiere Zeichen einer klinisch manifesten Meningitis oder ein stark beeinträchtigtes Allgemeinbefinden, erfolgte der Versuchsabbruch zu einem früheren Zeitpunkt.

2.4.2 Vergleich Dexamethason-freisetzender und Dexamethason-freier Implantate

Nach der Heilungsphase von fünf Wochen wurden zuvor mit verschiedenen Implantattypen implantierte Tiere sowie eine Gruppe von Tieren ohne Implantat der in den Vorversuchen bestimmten Bakterienkonzentration (1×10^5 CFU/ml) des Meningitis-Erregers *Streptococcus pneumoniae* exponiert. Für die Vergleichsstudie wurde jeweils eine Gruppengröße von 15 Tieren gewählt (Tab. 4).

Tab. 4: Versuchsplan Versuch II

| Implantattyp | Keimkonzentration (CFU/ml) | Applizierte Menge (µl) | Anzahl inokulierter Tiere (n) |
|------------------------------|----------------------------|------------------------|-------------------------------|
| ohne Dexamethason (Gruppe I) | 1×10^5 | 10 µl | 15 |
| mit Dexamethason (Gruppe II) | 1×10^5 | 10 µl | 15 |
| ohne Implantat (Gruppe III) | 1×10^5 | 10 µl | 15 |
| gesamt | | | 45 |

2.5 Versuchsdurchführung

2.5.1 Narkose und Narkoseüberwachung

Die Implantation, die Inokulation, sowie die Probenentnahme wurden unter Anästhesie durchgeführt. Gewählt wurde eine balancierte Anästhesie mit einer Kombination aus 0,2 mg/kg Medetomidin (Domitor®, Janssen Cilag GmbH, Neuss), 1,0 mg/kg Midazolam (Midazolam ratiopharm®, ratiopharm GmbH, Ulm) und 0,025 mg/kg Fentanyl (Fentanyl®, Janssen Cilag GmbH, Neuss), die in einer Mischspritze aufgezogen intramuskulär appliziert wurden. Praeoperativ wurde den Tieren zusätzlich ein Schmerzmittel (Metacam® Suspension zur oralen Eingabe, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, 0,2 mg/kg) peroral verabreicht, um postoperativ eine ausreichende Schmerzstillung zu erreichen. Um ein Austrocknen der Cornea während der Narkose zu verhindern, wurde eine Augensalbe (Thilo

Tears Augengel, Alcon Pharma GmbH, Freiburg) aufgetragen. Zur Beurteilung der Narkosetiefe wurden Lid-, Ohr-, vordere Zwischenzehen- und hintere Zwischenzehen- sowie der Stellreflex in regelmäßigen Abständen geprüft. Zudem wurde die Atemfrequenz beobachtet und mit Hilfe eines Thermometers die Körperkerntemperatur (37,9 – 39,7 °C) rektal gemessen. Um ein Auskühlen der Tiere zu verhindern, lagen diese auf einem Wärmekissen. Die Antagonisierung erfolgte mit einer Kombination aus 1 mg/kg Atipamezol (Antisedan®, Pfizer GmbH, Berlin), 0,1 mg/kg Flumazenil (Anexate®, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) und 0,03 mg/kg Naloxon (Naloselect® Pharmaselect GmbH, Ladenburg).

2.5.2 Implantation

Implantiert wurde stets die linke Cochlea. Hierfür wurden die Tiere zunächst im Kopfbereich hinter dem linken Ohr rasiert und die entsprechende Hautstelle mit einer Jodlösung (Braunol®, B. Braun, Melsungen) desinfiziert. Der Bereich wurde mit 0,2 ml Lokalanästhetikum (Ultracain 1 %-Suprarenin 5 ml, Injektionslösung, Sanofi Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt am Main) unterspritzt. Zur Implantation wurde retroauricular eine Inzision mit dem Skalpell gesetzt, nachdem zuvor die Lokalisation der Bulla durch Palpation erfasst wurde. Anschließend wurde durch die Muskelschichten bis auf den Knochen präpariert und das Mastoid unter Zuhilfenahme eines Raspatoriums freigelegt. Mit einem sterilen Diamantbohrer (Durchmesser des Bohrkopfes 2,7 mm) wurde das Mittelohr eröffnet. Das Mastoid wurde als Zugang zum Mittelohr gewählt, da so eine Schädigung des *Nervus facialis* vermieden werden konnte und diese Vorgehensweise einen freien Blick auf das Runde Fenster und die Cochlea erlaubte. Mit einem Diamantbohrer (Durchmesser des Bohrkopfes 0,7 mm) wurde etwa 1 mm ventral des Runden Fensters eine Öffnung in der Wand der basalen Windung der Cochlea (Cochleostomie) geschaffen (**Abb. 12A**). Das Implantat wurde bis einschließlich des schwarzen Punktes bei 3 mm in die basale Windung der Cochlea eingeführt (**Abb. 12B**). Anschließend wurde das Implantat am Bohrloch mit Faszie/Bindegewebe umlegt. Zur Infektionsprophylaxe wurden zwei Tropfen (ca. 50 µl) Enrofloxacin (Baytril® 2,5 % Injektionslösung, Bayer Healthcare AG, Leverkusen) ins Mittelohr appliziert. Zuletzt wurden die Muskelschichten und anschließend die Haut mit einer fortlaufenden Naht oder Einzelheften mit Vicryl 4-0 USP (Vicryl®, Ethicon GmbH, Norderstedt) verschlossen. Zur Infektionsprophylaxe wurde für drei Tage Enrofloxacin (Baytril® 2,5 % orale Lösung, Bayer Healthcare AG, Leverkusen, 10 mg/kg) peroral verabreicht. Weiterhin wurden die Tiere für drei Tage mit einem Schmerzmittel (Metacam® 1,5 mg/ml Suspension zur oralen Eingabe, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, 0,15 mg/kg) versorgt.

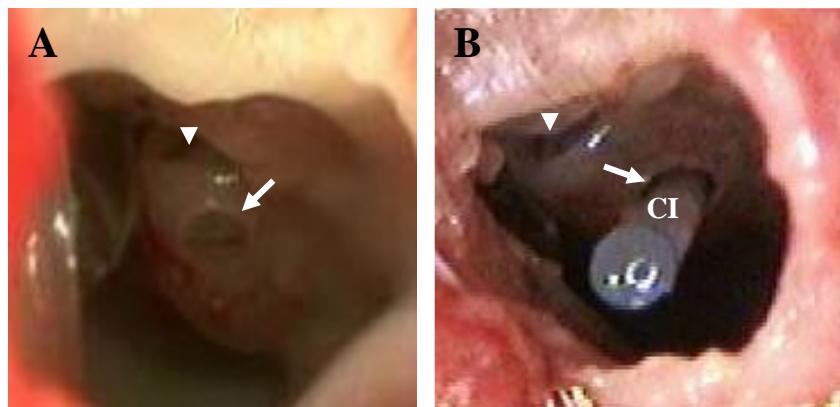


Abb. 12: Cochlea-Implantation

(A) *Blick in das eröffnete Mittelohr. Die Cochlea liegt frei exponiert im Mittelohr, 1 mm unterhalb des Runden Fensters (Pfeilspitze ►) wurde eine Cochleostomie angelegt (durchgehender Pfeil →), über die das Implantat in die Cochlea eingeführt wurde. (B) In die Cochleostomie eingeführtes Implantat (CI).*

2.5.3 Inokulation

Fünf Wochen postoperativ wurden die Tiere verschiedenen Bakterienkonzentrationen des Erregers *Streptococcus pneumoniae* exponiert. Analog dem Vorgehen bei der Implantation wurde ein Zugang zum Mittelohr über das Mastoid hergestellt. Nach der Eröffnung des Mittelohrs sollte der Blick auf die Cochlea und das Implantat frei sein (Abb. 13A). Anschließend wurde ein etwa 1 x 1 mm großes Stück eines resorbierbaren Gelschwämmchens (Gelfoam® absorbable gelatin compressed sponge, Pfitzer AG) in das Mittelohr eingebracht (Abb. 13B).

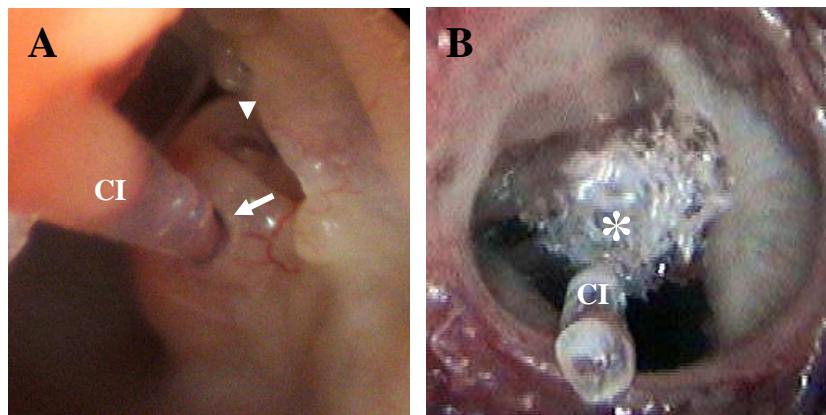


Abb. 13: Infektion der Versuchstiere

(A) *Blick in das eröffnete Mittelohr auf die Cochlea und das Runde Fenster (Pfeilspitze ►). Das Implantat (CI) wurde über eine Cochleostomie (durchgehender Pfeil →) eingeführt.*
 (B) *Die Applikation der Keimsuspension erfolgte auf ein resorbierbares Gelschwämmchen (*), das im Mittelohr platziert wurde, um ein Abfließen der Keimsuspension über die Tuba auditiva zu verhindern.*

Auf das Schwämmchen wurde anschließend die Keimsuspension appliziert, wodurch ein Abfließen der Suspension über die Tuba auditiva verhindert werden sollte. Ein Inokulum von 10 µl der entsprechenden Keimkonzentration wurde mit einer Eppendorf-Pipette aufgezogen und über das Bohrloch auf das Schwämmchen appliziert. Zuletzt wurden die Muskelschichten und anschließend die Haut mit einer fortlaufenden Naht oder Einzelheften mit Vicryl 4-0 USP (Vicryl®, Ethicon GmbH, Norderstedt) verschlossen.

Nach der Exposition wurden die Tiere in Einzelkäfigen untergebracht und für drei Tage mit einem Schmerzmittel (Metacam® Suspension zur oralen Eingabe, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, 0,15 mg/kg) versorgt. Die Tiere wurden für fünf Tage, wie in Abschnitt **III, 2.5.4.1 Klinische Überwachung der Versuchstiere** beschrieben, überwacht.

2.5.4 Meerschweinchenmodell der Pneumokokken-Meningitis

2.5.4.1 Klinische Überwachung der Versuchstiere

Nach der Inokulation wurden die Tiere zweimal täglich jeweils morgens und abends auf klinische Symptome untersucht und ihr Gesundheitszustand nach einem Beurteilungsschema, das unter anderem verschiedene Parameter der Meningitis erfasst, bewertet. Das Beurteilungsschema wurde in Form eines Punktesystems ausgearbeitet. Insgesamt konnte eine maximale Punktzahl von 21 Punkten vergeben werden. In **Tab. 5** sind die überwachten Kriterien und die Punktevergabe dargestellt. Im Folgenden werden die Werte, die sich aus diesem Punktesystem ergeben mit dem englischen Begriff „Score“ bezeichnet. Zudem wurde das Gewicht der Tiere über den Versuchszeitraum erfasst und beurteilt.

Tab. 5: Bewertungsschema

| Beurteilungskriterium | | Punkteverteilung |
|---------------------------------|----------------------------------------|------------------|
| (Explorations-)verhalten | aufmerksam | 0 |
| | reduziert | 1 |
| | lethargisch | 2 |
| Körperhaltung | physiologisch | 0 |
| | Schonhaltung | 1 |
| | abnorme Körperhaltung | 2 |
| Kopfhaltung | Seitenlage | 3 |
| | physiologisch | 0 |
| | Kopfschiefhaltung | 1 |
| Bewegung | abnorme Kopfhaltung | 2 |
| | spontan | 0 |
| | auf Reiz von außen | 1 |
| Bewegungsablauf | keine Bewegung auf Reiz von außen | 2 |
| | physiologisch | 0 |
| | abnorm | 1 |
| Stellreflex | erhalten | 0 |
| | vermindert | 1 |
| | ausgefallen | 2 |
| Rektaltemperatur | im Normalbereich | 0 |
| | leicht erhöht (39,7-40°C) | 1 |
| | stark erhöht (>40°C) | 2 |
| Allgemeinbefinden | ungestört | 0 |
| | geringgradig gestört | 1 |
| | mittelgradig gestört | 2 |
| ZNS-Symptomatik | hochgradig gestört | 3 |
| | keine ZNS-Symptome | 0 |
| | Vestibularsymptom | 1 |
| Preyerreflex | zentralnervöse Symptome | 2 |
| | normalhörend | 0 |
| | teilweiser oder einseitiger Hörverlust | 1 |
| | beidseitiger Hörverlust | 2 |

Ein Abbruch erfolgte vor Versuchsende, wenn nach Anwendung des Punktesystems ein bestimmter Grenzwert erreicht wurde (Score 10 von 21) und/oder klinische Symptome auftraten, die mit einem Weiterleben der Tiere nicht vereinbar waren.

2.5.4.2 Diagnostik

Tab. 6 gibt eine Übersicht über das entnommene Probenmaterial und die durchgeführten Untersuchungen zur Diagnose der Meningitis. Im Rahmen der Diagnostik erfolgte die Entnahme von Cerebrospinalflüssigkeit und Blut. Beide Körperflüssigkeiten wurden hinsichtlich der Leukozytenzahl untersucht, die durch Auszählen in einer Zellzählkammer ermittelt wurde. Weiterhin erfolgte eine Bestimmung der Gesamtkeimzahl durch Ausstriche auf Blutagarplatten. Zum Erreger nachweis wurden Ausstriche von Mittelohrabstrichen auf Columbia-Blutagarplatten angefertigt. Die histologische Untersuchung von Gehirn und Cochlea diente der Bestätigung der Ergebnisse der klinischen Befunde, Laborparameter und Kulturen.

Tab. 6: Probenmaterial und Diagnostik

| Probenmaterial | Bestimmung der Leukozytenzahl | Bestimmung der Keimzahl | Ausstrich auf Blutagarplatten | Histologie |
|----------------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------------|------------|
| Liquor | X | X | - | - |
| Blut | X | X | - | - |
| Mittelohr | - | - | X | - |
| Gehirn | - | - | - | X |
| Cochlea | - | - | - | X |

2.6 Versuchsende und Probengewinnung

Am fünften Versuchstag erfolgte die Probenentnahme unter Vollnarkose. Zunächst wurde Liquor durch Punktions des *Foramen magnum* gewonnen. Hierfür wurden die Tiere in Bauchlage gelagert und der Kopf der Tiere in ventraler Flexion fixiert. Nach Ausrasieren der Nackenregion wurde ein sagittaler Schnitt angesetzt und die atlanto-occipitale Membran freipräpariert. Anschließend wurde die Membran mit einer Einmal-Insulinspritze (Omnican® 40, B. Braun, Melsungen) punktiert, wobei Liquormengen zwischen 150 - 250 µl gewonnen werden konnten. Anschließend wurde der Brustraum für die Blutentnahme und die transkardiale Perfusion eröffnet. Dem betreffenden Tier wurden 10 ml Lokalanästhetikum (Ultracain 1 % Suprarenin 5 ml, Injektionslösung, Sanofi Aventis, Frankfurt am Main) subkutan entlang der nachfolgenden Schnittlinien verabreicht: 1. median entlang der Linea alba, 2. in einem Bogen von der Apertura thoracia bis zur rechten Achselhöhle, 3. dem rechten letzten Rippenbogen ca. 2 cm folgend. Es wurde eine Thorakotomie durchgeführt und die Organe des Brustraums freigelegt. Nach der Eröffnung des Brustraums wurde durch kardiale Punktion 1 ml Blut ent-

nommen. Für die Perfusion wurde die linke Herzkammer mit einem Scherenschlag eröffnet. In die Herzkammer wurde eine an eine Perfusionsspumpe angeschlossenen Kanüle eingeführt und das Tier zunächst zum Ausspülen des Blutes aus dem Kreislaufsystem mit 200 ml Phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) durchspült. Im Anschluss erfolgte eine Perfusion mit 200 ml 4 %-igem Formalin zur Fixierung des Gewebes. Ein Schnitt in den rechten Vorhof ermöglichte den Abfluss von Blut und Perfusionslösung. Im Verlauf der Perfusion trat der Tod der Tiere durch Blutentzug ein.

Der Perfusion folgte die Dekapitation und Entnahme von Gehirn und Cochleae. Nach dem Abpräparieren der Schädelhaut wurde die Schädeldecke durch zwei Scherenschnitte vom Hinterhauptsloch in Richtung der caudalen Augenwinkel gelöst und durch Umklappen nach rostral entfernt. Anschließend wurden die Hiranteile vorsichtig aus dem Schädel gelöst und zur Nachfixierung über Nacht in 4 %-iges Formalin verbracht. Nach der Entfernung des Gehirns wurden die Felsenbeine aus dem Schädel gelöst. Nach Eröffnen der Bulla wurde mittels einer Einwegimpföse ein Abstrich aus dem Mittelohr entnommen. Die eröffneten Felsenbeine wurden anschließend zur Fixierung in 4 %-iges Formalin verbracht.

2.7 Probenaufbereitung

2.7.1 Gehirn

2.7.1.1 Fixierung und Paraffineinbettung

Nach der Entnahme wurden die Gehirne über Nacht in 4 %-igem Formalin nachfixiert. Die Entwässerung und Paraffineinbettung erfolgte über eine aufsteigende Alkoholreihe in einem Einbettautomaten. Die Gehirne wurden mit einem Mikrotom in horizontaler Ebene geschnitten (Schnittdicke 3,5 µm). Die Schnitte wurden in einem 37 °C warmen Wasserbad geglättet und auf Objektträger aufgezogen.

2.7.1.2 Entparaffinierung und histologische Färbungen

Nach Aufbringen auf die Objektträger und Trocknen über Nacht in einem Wärmeschrank wurden die zu färbenden Schnitte über eine absteigende Alkoholreihe entparaffiniert (**Tab. 7**).

Tab. 7: Entparaffinierungsprotokoll

| | |
|-------------------|--------|
| Xylol | 5 min. |
| Xylol | 5 min. |
| Xylol | 5 min. |
| Isopropanol 100 % | 5 min. |
| Ethanol 100 % | 5 min. |
| Ethanol 96 % | 5 min. |
| Ethanol 70 % | 5 min. |
| Aqua dest. | 5 min. |

Im Anschluss an die Entparaffinierung wurden die Schnitte gefärbt.

Für die Hämatoxylin-Eosin-Färbung wurde folgendes Färbeschema (**Tab. 8**) verwendet:

Tab. 8: Hämatoxylin-Eosin-Färbung

| | |
|----------------------------------------------------------------------|----------|
| Hämatoxylin | 10 min. |
| Wässern unter fließendem Wasser bis keine Farbschlieren mehr abgehen | variabel |
| Eosin | 5 min. |
| Spülen mit Aqua dest. | 1 min. |

Nach der Durchführung der Färbung wurden die Schnitte über eine aufsteigende Alkoholreihe und Xylol mit Eukitt® (Eukitt®, O. Kindler GmbH, Freiburg) eingedeckt.

Zum Nachweis gram-positiver Bakterien wurde eine Gram-Färbung nach folgendem Protokoll durchgeführt:

Tab. 9: Gram-Färbung

| | |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Kristallviolett (Gentianaviolett) | 2-3 min. |
| Spülen mit Aqua dest. | 1 min. |
| Lugol'sche Lösung | 1 min. |
| Spülen mit Aqua dest. | 1 min. |
| In Differenzierungslösung schwenken bis keine Farbschlieren mehr abgehen | wenige Sekunden |
| Spülen mit Aqua dest. | 1 min. |
| Gegenfärbung mit Karbolfuchsin | 1 min. |

Nach der Durchführung der Färbung wurden die Schnitte über eine aufsteigende Alkoholreihe und Xylol mit Eukitt® (Eukitt®, O. Kindler GmbH, Freiburg) eingedeckt.

2.7.2 Cochlea

2.7.2.1 Fixierung, Entkalken und Paraffineinbettung

Nach der Entnahme und Fixierung der Felsenbeine erfolgte die Entkalkung des Knochens bei 37 °C in EDTA-Citronensäure-PBS-Lösung, welche täglich gewechselt wurde. Die Verweildauer in der Entkalkungslösung war abhängig von der Knochendicke und betrug 1 - 2 Wochen. Nach Beendigung der Entkalkung wurde die Bullawand um die Cochlea entfernt und diese anschließend in Phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) für eine Stunde auf einem Schwingtisch gespült. Die Entwässerung und Paraffineinbettung erfolgte über eine aufsteigende Alkoholreihe in einem Einbettautomaten. Anschließend wurden die Cochleae in Einbettförmchen ausgerichtet, sodass eine Schnittebene entlang der Schneckenlängsachse möglich war, und mit Paraffin ausgegossen. Die eingebetteten Cochleae wurden mit einem Mikrotom geschnitten (Schnittdicke 3,5 µm), die Schnitte anschließend in einem 37 °C warmen Wasserbad geglättet und auf Objektträger aufgezogen.

2.7.2.2 Entparaffinierung und histologische Färbungen

Nach Aufbringen auf die Objektträger und Trocknen über Nacht in einem Wärmeschrank wurden die Schnitte über eine absteigende Alkoholreihe (**Tab. 7**) entparaffiniert. Anschließend wurde jeder 5. Schnitt mit Hämatoxylin-Eosin (HE) (**Tab. 8**) und jeder 6. Schnitt mit einer Kernechtrubin-Anilinblau-Orange-Färbung (**Tab. 10**) angefärbt.

Tab. 10: Kernechtrubin-Anilinblau-Orange-Färbung

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Kernechtrubinlösung | 5 min. |
| Spülen mit Aqua dest. | 1 min. |
| 5 %ige Wolframatophosphorsäure | 5 min. |
| Spülen mit Aqua dest. | 1 min. |
| Anilinblau-Orange nach Halmi-Konecny | 8 min. |
| Spülen mit Aqua dest. | 1 min. |
| Entfernung überschüssiger Farbanteile durch Differenzierung in 96 %-igem Ethanol | wenige Sekunden |

Nach der Durchführung der Färbung wurden die Schnitte über eine aufsteigende Alkoholreihe und Xylol mit Eukitt® (Eukitt®, O. Kindler GmbH, Freiburg) eingedeckt.

Zum Nachweis gram-positiver Bakterien wurde eine Gram-Färbung nach dem in **Tab. 9** beschriebenen Protokoll durchgeführt.

2.8 Probenauswertung

2.8.1 Liquor

Für die Bestimmung der Leukozytenzahl wurde die Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) zur Lyse von Erythrozyten und zum Anfärben der Zellkerne von Entzündungszellen in einem Verhältnis von 1:10 mit Türk'scher Lösung (Fa. Merck, Darmstadt) versetzt. Das Auszählen der Leukozyten erfolgte in einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer. Als Grenzwert für eine Meningitis wurde eine Leukozytenzahl von 1.000 Zellen/ μ l angesehen (RUPPRECHT und PFISTER 2004).

Zur Keimzahlbestimmung wurde eine Verdünnungsreihe der Liquorproben mit steriler PBS angelegt. Anschließend wurden jeweils 100 μ l der Verdünnungsstufen unter sterilen Bedingungen auf Columbia-Blutagarplatten ausgestrichen. Nach 24-stündigem Bebrüten bei 37 °C in einem Brutschrank unter mikroaerophilen Bedingungen wurden die gewachsenen Kolonien ausgezählt und die Gesamtkeimzahl berechnet. Als Grenzwert für eine Meningitis wurde eine Gesamtkeimzahl von 100.000 CFU/ml gewählt. Die Restmenge an Liquor wurde abzentrifugiert und für weitere Untersuchungen bei -80 °C tiefgefroren und gelagert.

2.8.2 Blut

Zur Keimzahlbestimmung wurde durch kardiale Punktions 1 ml Blut in einem Blutsammelröhrchen mit Heparinzusatz (Monovette®, Sarstedt, Nümbrecht) gewonnen. Vor der Entnahme erfolgte die Zugabe von 100 μ l steriler PBS-Lösung in das Röhrchen, um eine vorzeitige Lyse der Bakterien durch das Heparin zu verhindern. Nach Anlegen einer Verdünnungsreihe mit Verdünnungen von 1:2, 1:5 und 1:10 in steriler PBS wurden jeweils 100 μ l Blut unter sterilen Bedingungen auf Columbia-Blutagarplatten ausgestrichen. Nach 24-stündigem Bebrüten bei 37 °C in einem Brutschrank unter mikroaerophilen Bedingungen wurden die gewachsenen Kolonien ausgezählt und die Gesamtkeimzahl berechnet.

Für die Bestimmung der Leukozytenzahl wurden 10 μ l Blut zur Lyse der Erythrozyten in einem Verhältnis von 1:10 mit Türk'scher Lösung (Fa. Merck, Darmstadt) versetzt. Die Auszählung der Leukozyten erfolgte in einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer.

2.8.3 Mittelohrabstriche

Nach dem Ausstreichen auf Columbia-Blutagarplatten und 24-stündigem Bebrüten bei 37°C in einem Brutschrank unter mikroaerophilen Bedingungen wurden die Platten auf ein Keimwachstum untersucht.

2.9 Histologie

Die histologische Untersuchung der Gehirnschnitte diente dem Nachweis der Meningitis und die Bestätigung der klinischen Befunde, sowie der Laborparameter und Kulturen. Anhand der Histologie der Cochlea konnte deren Beteiligung am Infektionsgeschehen beurteilt werden. Für die histologische Untersuchung wurde eine erfahrene Biologin zu Rate gezogen.

2.9.1 Gehirn

Die histologische Untersuchung des Gehirns erfolgte unter einem Lichtmikroskop. Beurteilt wurde die Entzündungsreaktion an den weichen Hirnhäuten und in den Ventrikeln. Die Gehirnschnitte wurden auf das Vorhandensein einer zellulären Immunantwort, sowie grampositiver Kokken im Subarachnoidalraum und im Hirngewebe untersucht. Auf eine quantitative Untersuchung wurde aufgrund der unterschiedlichen Zeitpunkte der Probenentnahme und somit unterschiedlichen Stadien der Meningitis zum Zeitpunkt der Probenentnahme verzichtet.

2.9.2 Cochlea

Über die histologische Untersuchung wurde die Beteiligung der Cochlea am Infektionsgeschehen bewertet. Es erfolgte eine qualitative Beurteilung der Strukturen des Innenohrs hinsichtlich einer Entzündungsreaktion unter dem Lichtmikroskop. Die perilymphatischen Räume wurden auf Okklusion durch Entzündungszellen und entzündliches Exsudat untersucht. Weiterhin wurden die Fremdkörperreaktion mit Gewebezubildung um das Implantat und Zeichen eines Insertionstraumas bei implantierten Tieren erfasst.

2.10 Statistik

Die statistische Analyse der Ergebnisse wurde mit dem Computerprogramm PASW Statistics 18 Version 18.0.2 durchgeführt. Daten unterschiedlicher Gruppen wurden mit nichtparametrischen, zweiseitigen Hypothesentest verglichen (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für verbundene Stichproben). Der Gruppenvergleich in den Hauptversuchen erfolgte durch Anwendung des exakten Tests nach Fisher. In den Abbildungen mit Box-Plots werden Minimum, Maximum und Median sowie die 25. und 75. Quantile dargestellt. Ein p -Wert kleiner gleich 0,05 wurde als signifikant betrachtet. In Tabellen sind Minimum, Maximum und Median sowie das 25 % und das 75 % Perzentil angegeben.

IV ERGEBNISSE

1 VERSUCH I: BESTIMMUNG DER BAKTERIELLEN PRÜFKONZENTRATION

1.1 Bestimmung der Prüfkonzentration von *Streptococcus pneumoniae*

Zur Bestimmung der Prüfkonzentration von *Streptococcus pneumoniae* wurden insgesamt 43 Tiere Bakterienkonzentrationen zwischen 1×10^9 und 1×10^4 CFU/ml exponiert. Nach der Inokulation der höchsten Erregerkonzentration von 1×10^9 CFU/ml trat bei allen diesen Tieren eine Erkrankung innerhalb des Versuchszeitraums auf. Konzentrationen von 1×10^8 und 1×10^7 CFU/ml führten bei der Hälfte der Tiere zu einer klinisch manifesten Meningitis, während bei einer Keimdosis von 1×10^6 CFU/ml 5 von 8 Tieren erkrankten (63 %). Bei einer Konzentration von 1×10^5 CFU/ml entwickelten 3 von 10 Tieren (30 %) eine Meningitis. Die geringste getestete Keimkonzentration führte bei keinem der inkulierten Tiere zu einer Erkrankung (**Tab. 11, Abb. 14**). Anhand der Ergebnisse wurde eine Konzentration von 1×10^5 CFU/ml als Prüfkonzentration für die Vergleichsstudie (**Versuch II**) gewählt.

Tab. 11: Übersicht Ergebnisse Versuch I

| Elektrodenotyp | Keimkonzentration (CFU/ml) | Anzahl inkulierter Tiere (n) | Tiere mit Meningitis | Tiere ohne Meningitis |
|-------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------|-----------------------|
| ohne Dexamethason | 1×10^9 | 3 | 3 | 0 |
| ohne Dexamethason | 1×10^8 | 10 | 5 | 5 |
| ohne Dexamethason | 1×10^7 | 8 | 4 | 4 |
| ohne Dexamethason | 1×10^6 | 8 | 5 | 3 |
| ohne Dexamethason | 1×10^5 | 10 | 3 | 7 |
| ohne Dexamethason | 1×10^4 | 4 | 0 | 4 |
| gesamt | | 43 | 20 | 23 |

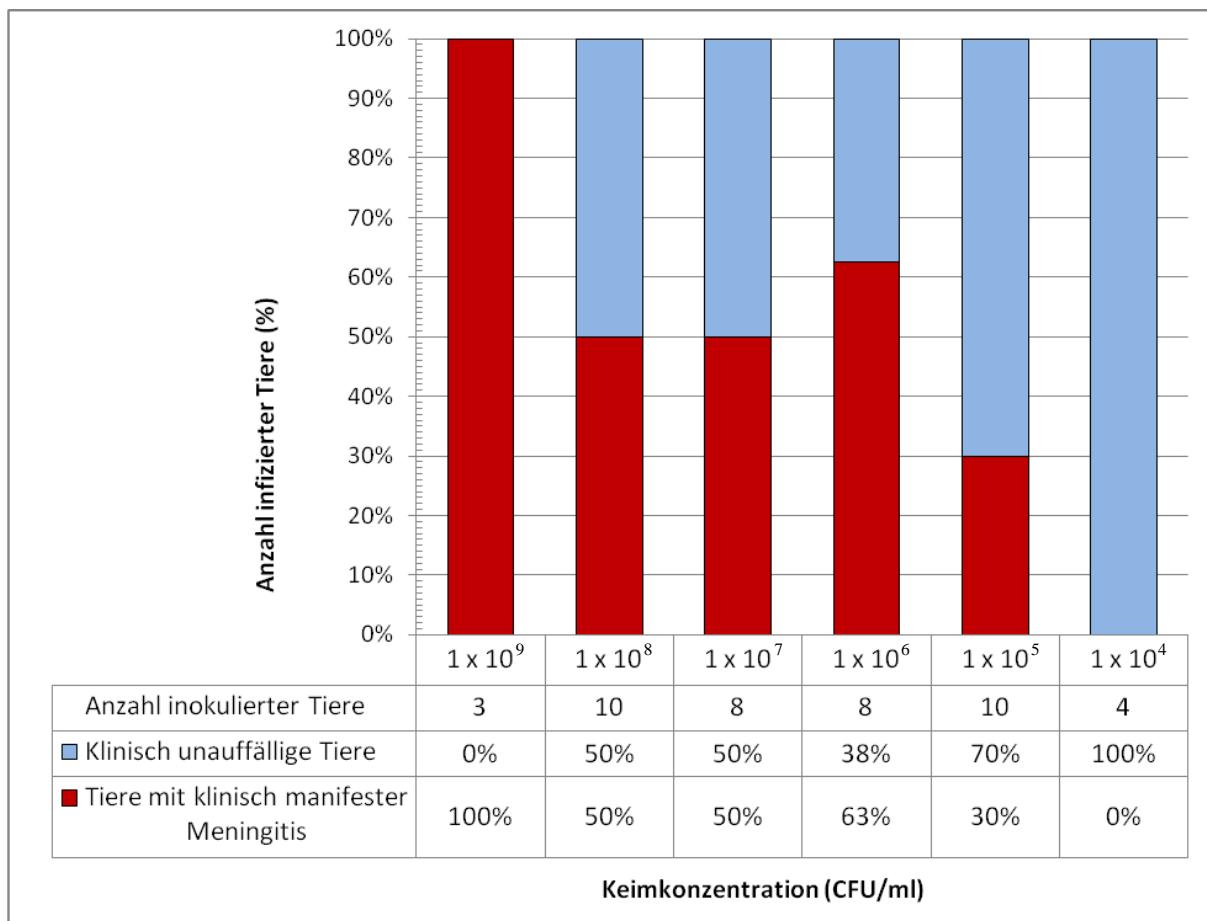


Abb. 14: Ergebnisse der Konzentrationsbestimmung

Bei einer Bakterienkonzentration von 1×10^9 CFU/ml entwickelten alle der inokulierten Tiere eine klinisch manifeste Meningitis. Konzentrationen von 1×10^8 und 1×10^7 CFU/ml führten bei jeweils der Hälfte der Tiere zu einer Meningitis. Bei einer Keimdosis von 1×10^6 CFU/ml erkrankten 5 von 8 Tieren (63 %), während bei einer Konzentration von 1×10^5 CFU/ml 3 von 10 Tieren (30 %) eine Meningitis entwickelten. Die geringste getestete Erregerkonzentration führte bei keinem der inokulierten Tiere zu einer Erkrankung. Anhand der Infektionsrate wurde eine Konzentration von 1×10^5 CFU/ml als Prüfkonzentration für die Vergleichsstudie gewählt.

1.2 Charakteristika der Pneumokokken-Meningitis im Meerschweinchenmodell

1.2.1 Klinisches Monitoring

Erkrankte Tiere entwickelten zwischen Tag 2 und Tag 5 nach der Inokulation eine Meningitis. Auffällig war das frühe Auftreten der Erkrankung bei Tieren, die der höchsten Keimkonzentration exponiert worden waren (Tab. 12). Bei Tieren, die Konzentrationen von 1×10^8 , 1×10^7 und 1×10^6 CFU/ml exponiert wurden, traten sowohl zu einem früheren Zeitpunkt nach der Exposition an Tag 2 oder Tag 3 Meningitiden auf, als auch später an Tag 4 und Tag 5. Niedrige Konzentrationen von 1×10^5 führten zu einem späteren Auftreten der Erkrankung (Tab. 12).

Tab. 12: Zeitpunkt der Euthanasie von Tieren aus Versuch I

| Keimkonzentration (CFU/ml) | Anzahl der Tiere und Zeitpunkt der Euthanasie | | | | |
|-------------------------------|--------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | Tag 1 | Tag 2 | Tag 3 | Tag 4 | Tag 5 |
| 1×10^9 | - | 3 | - | - | - |
| 1×10^8 | - | 1 | - | 1 | 3 |
| 1×10^7 | | 1 | 1 | - | 2 |
| 1×10^6 | - | 1 | 2 | 1 | 1 |
| 1×10^5 | - | - | 1 | 1 | 1 |
| 1×10^4 | - | - | - | - | - |

Die klinischen Symptome wurden über das in Abschnitt **III, 2.5.4.1. Klinische Überwachung der Versuchstiere** beschriebene Bewertungssystem (Tab. 5) erfasst. Als Nachweis einer klinisch manifesten Erkrankung wurde neben der Beurteilung der Laborparameter die Anzahl der vergebenen Punkte bewertet, die den Gesundheitszustand der Tiere widerspiegelt. Tiere mit klinisch manifester Meningitis zeigten zu Versuchsende hohe klinische Scores, die zudem zu Versuchsende signifikant höher ausfielen als bei Tieren ohne Meningitis (Tab. 13).

Tab. 13: Klinischer Score der Tiere aus Versuch I

| Gruppe | | Score am Tag 1 morgens | Score am Tag der Euthanasie |
|----------------------------------------------------------------|---------|---------------------------|--------------------------------|
| Tiere mit klinisch manifester Meningitis (n=20) | Minimum | 0 | 7 |
| | Maximum | 4 | 21 |
| | Median | 1,0 | 11,5* |
| Tiere ohne Meningitis (n=23) | Minimum | 0 | 0 |
| | Maximum | 3 | 3 |
| | Median | 0,0 | 0,0* |

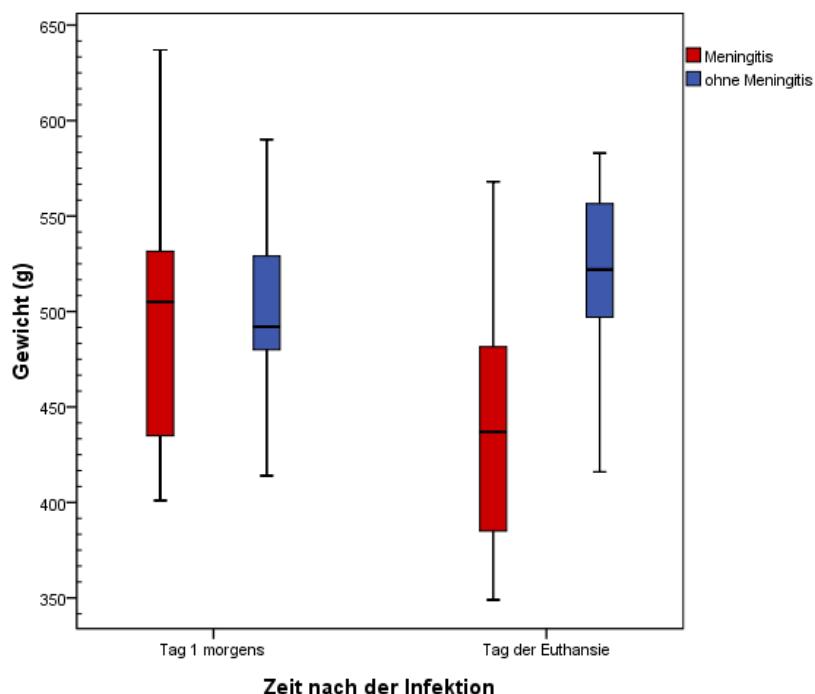
* $p < 0,001$ (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymptotische Signifikanz)

Alle Tiere zeigten unmittelbar nach der Inokulation einen kurzfristigen Gewichtsverlust. Während sich das Gewicht gesunder Tiere rasch wieder stabilisierte und diese das Anfangsgewicht hielten oder an Gewicht zunahmen, konnte bei erkrankten Tieren bis zum Zeitpunkt der Probenentnahme eine signifikante Reduktion des Gewichts beobachtet werden (Tab. 14, Abb. 15).

Tab. 14: Gewichtsverlauf der Tiere aus Versuch I

| Gruppe | | Gewicht am Tag 1 morgens (g) | Gewicht am Tag der Euthanasie (g) |
|--------------------------------------------------------|---------|------------------------------|-----------------------------------|
| Tiere mit klinisch manifester Meningitis (n=20) | Minimum | 401 | 349 |
| | Maximum | 637 | 568 |
| | Median | 505* | 437* |
| Tiere ohne Meningitis (n=23) | Minimum | 414 | 416 |
| | Maximum | 590 | 583 |
| | Median | 492 | 522 |

* $p < 0,001$ (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für verbundene Stichproben, zweiseitige asymptomatische Signifikanz)

**Abb. 15: Gewichtsverlauf der Tiere aus Versuch I**

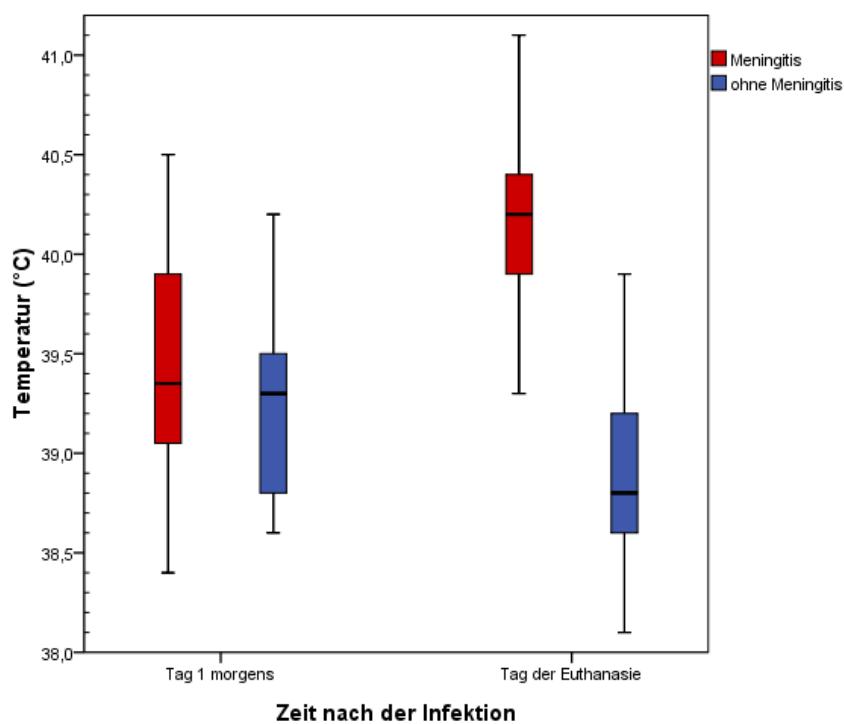
Tiere mit klinisch manifester Meningitis zeigten bis zum Versuchsende eine signifikante Reduktion des Gewichts, während sich das Gewicht gesunder Tiere nach einem kurzfristigen Gewichtsverlust unmittelbar nach der Inokulation rasch wieder stabilisierte und diese an Gewicht zunahmen.

Zudem zeigten die Tiere mit klinisch manifester Meningitis einen Anstieg der Körpertemperatur, der über einen längeren Zeitraum, in der Regel bis zum Versuchsende anhielt. Nicht erkrankte Tiere zeigten zum Teil ebenfalls kurzzeitig erhöhte Temperatur, die jedoch nicht länger als einen Tag beobachtet werden konnte. Die Körpertemperatur lag bei Tieren ohne Meningitis zu Versuchsende wieder im Normalbereich (**Tab. 15, Abb. 15**).

Tab. 15: Temperaturverlauf der Tiere aus Versuch I

| Gruppe | | Temperatur am Tag 1 morgens (°C) | Temperatur am Tag der Euthanasie (°C) |
|--------------------------------------------------------|---------|----------------------------------|---------------------------------------|
| Tiere mit klinisch manifester Meningitis (n=20) | Minimum | 38,4 | 39,3 |
| | Maximum | 40,5 | 41,1 |
| | Median | 39,4 | 40,2* |
| Tiere ohne Meningitis (n=23) | Minimum | 38,6 | 38,1 |
| | Maximum | 40,2 | 39,9 |
| | Median | 39,3 | 38,8* |

* $p < 0,001$ (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymptotische Signifikanz)

**Abb. 16: Temperaturverlauf der Tiere aus Versuch I**

Tiere mit klinisch manifester Meningitis zeigten einen Anstieg der Körpertemperatur, der bis zum Versuchsende anhielt. Nicht erkrankte Tiere zeigten zum Teil ebenfalls kurzzeitig erhöhte Temperatur, die jedoch nicht länger als einen Tag auftrat. Die Körpertemperatur lag bei Tieren ohne Meningitis zu Versuchsende wieder im Normalbereich.

Tiere mit Meningitis zeigten eine anhaltende Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens. Das Explorationsverhalten dieser Tiere war reduziert und ihre Reaktion auf visuelle und taktile Reize vermindert. Bei sieben Tieren konnte eine Kopfschiefhaltung beobachtet werden. Der Stellreflex war reduziert oder nicht mehr vorhanden. Zentralnervöse Symptome konnten lediglich bei Tieren, die mit hohen Keimkonzentrationen inkuliert worden waren, sowie bei fortgeschrittenen Krankheitsverläufen beobachtet werden. Bei fünf Tieren traten zentralnervö-

se Symptome mit Nystagmus, Opisthotonus und Ruderbewegungen der Vordergliedmaße auf. Tiere ohne Meningitis zeigten keine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens. Bei fünf Tieren ohne klinisch manifester Meningitis konnte eine leichte Kopfschiefhaltung und ein Ausfall des Preyerreflexes beobachtet werden.

1.2.2 Laborbefunde und Keimzahlbestimmung

1.2.2.1 Liquor

Zum Zeitpunkt der Euthanasie konnte bei Tieren mit Symptomen einer Meningitis eine Pleozytose festgestellt werden. Die Zellzahl im Liquor lag bei erkrankten Tieren zwischen 1.245 und 4.888 Zellen/ μ l (Tab. 16). Tiere ohne Meningitis zeigten keine erhöhten Zellzahlen im Liquor. Die Bestimmung der Keimzahl ergab Werte von über 100.000 CFU/ml bei allen Tieren mit klinisch manifester Meningitis. Bei Tieren ohne Meningitis konnte kein Keimwachstum in Liquorausstrichen nachgewiesen werden (Tab. 16).

Tab. 16: Liquorbefunde der Tiere aus Versuch I

| Gruppe | | Liquorzellzahl (Zellen/ μ l) | Keimzahl ($\times 10^4$ CFU/ml) |
|------------------------------------------------------------|----------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Tiere mit klinisch manifester Meningitis (n=11) | Minimum | 1254 | 1,10 |
| | 25 % Perzentil | 2547 | 1,24 |
| | Median | 3547* | 1,45** |
| | 75% Perzentil | 3819 | 3,55 |
| | Maximum | 4888 | 3,66 |
| Tiere ohne Meningitis (n=23) | Minimum | 0 | 0,0 |
| | 25 % Perzentil | 0 | 0,0 |
| | Median | 6* | 0,0** |
| | 75 % Perzentil | 15 | 0,0 |
| | Maximum | 20 | 0,0 |

* $p < 0,001$ und ** $p < 0,001$ (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymptotische Signifikanz)

1.2.2.2 Blut

Der Referenzbereich der Leukozyten beim Meerschweinchen wird in der Literatur mit 2 - 14 G/l angegeben (KRAFT und DÜRR 2005). Sowohl bei Tieren mit Meningitis als auch bei Tieren ohne Meningitis lag der Wert der Leukozyten im Blut im Referenzbereich. Die errechnete Gesamtkeimzahl lag bei Tieren mit Meningitis zwischen 3×10^2 und 11×10^2 CFU/ml. Auch bei Tieren ohne Meningitis konnten in vier Fällen Bakteriämien nachgewiesen werden (Tab. 17).

Tab. 17: Leukozytenzahl und Gesamtkeimzahl im Blut (Versuch I)

| Gruppe | | Leukozytenzahl (G/l) | Keimzahl ($\times 10^2$ CFU/ml) |
|----------------------------------------------------------------|----------------|-------------------------|-------------------------------------|
| Tiere mit klinisch manifester Meningitis (n=11) | Minimum | 1,25 | 3,00 |
| | 25 % Perzentil | 2,28 | 3,50 |
| | Median | 2,87* | 4,80** |
| | 75 % Perzentil | 7,62 | 8,00 |
| | Maximum | 8,26 | 11,00 |
| Tiere ohne Meningitis (n=23) | Minimum | 0,68 | 0,00 |
| | 25 % Perzentil | 1,68 | 0,00 |
| | Median | 2,61* | 0,00** |
| | 75 % Perzentil | 5,07 | 0,00 |
| | Maximum | 8,44 | 9,80 |

* $p = 0,455$ und ** $p < 0,001$ (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymptotische Signifikanz)

1.2.2.3 Mittelohrabstriche

Bei allen Tieren konnten in Ausstrichen von Mittelohrabstrichen die Erreger-typischen glatten, schleimig glänzenden Kolonien mit zentraler Eindellung und grünlichen Hämolysehof von *Streptococcus pneumoniae* nachgewiesen werden.

1.2.3 Histologische Untersuchungen

In **Versuch I** zur Bestimmung der Prüfkonzentration wurden insgesamt 20 Cochleae und Gehirne histologisch untersucht. Aus den Versuchsgruppen mit verschiedenen Keimkonzentrationen wurden die Proben von jeweils 2 Tieren mit klinisch manifester Meningitis und 2 Tieren ohne Meningitis ausgewertet.

Tab. 18: Übersicht histologische Auswertung Versuch I

| Bakterien-konzentration (CFU/ml) | Anzahl inokulierter Tiere (n) | Anzahl erkrankter Tiere pro Gruppe | Anzahl histologisch untersuchter Proben | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------|
| | | | Meningitis | ohne Meningitis |
| 1×10^9 | 3 | 3/3 | 2 | - |
| 1×10^8 | 10 | 5/10 | 2 | 2 |
| 1×10^7 | 8 | 4/8 | 2 | 2 |
| 1×10^6 | 8 | 5/8 | 2 | 2 |
| 1×10^5 | 10 | 3/10 | 2 | 2 |
| 1×10^4 | 4 | 0/4 | - | 2 |

1.2.3.1 Gehirn

Histopathologisch trat bei allen Tieren mit klinischen Symptomen als Korrelat der klinischen Erkrankung eine leptomeningiale Entzündungsreaktion auf (**Abb. 17A**). Das im Subarachnoidalraum beobachtete Infiltrat bestand hauptsächlich aus neutrophilen Granulozyten. Mit Fortschreiten der Erkrankung konnten Makrophagen, Lymphozyten, sowie zerfallene Granulozyten und Fibrin nachgewiesen werden (**Abb. 17B**). Auch in den Ventrikeln fanden sich bei erkrankten Tieren Ansammlungen von Entzündungszellen und Exsudat (**Abb. 19**). Bei Tieren ohne klinische Symptome lagen die Meningen der Hirnoberfläche als dünne Häutchen auf (**Abb. 18**). Bei diesen Tieren konnte kein entzündliches Infiltrat oder Zeichen einer Entzündungsreaktion an den Meningen oder in den Ventrikeln nachgewiesen werden. Über eine Gram-Färbung gelang es, Diplokokken im Subarachnoidalraum und in den Ventrikeln erkrankter Tiere sichtbar zu machen (**Abb. 20**). Diese fanden sich auch im Liquor erkrankter Tiere.

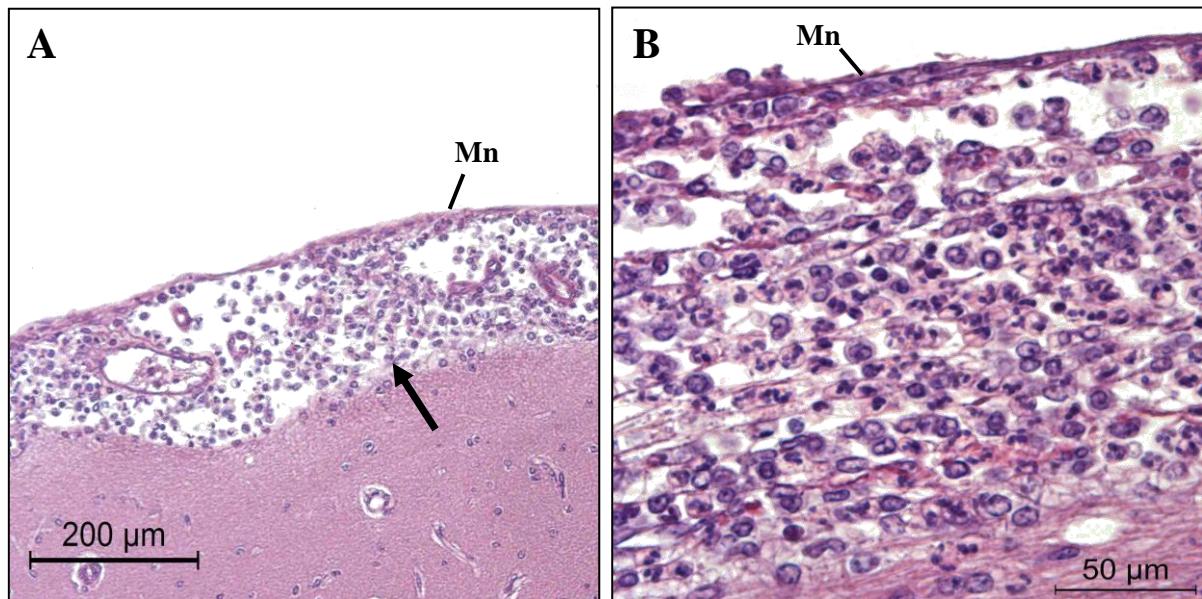


Abb. 17: Leptomeningeales Infiltrat bei einem Tier mit klinisch manifester Meningitis

(A und B) Cortex cerebrum mit Meningen (Mn) in horizontaler Schnittebene, Schnittdicke 3,5 µm, x100 (A) und x400 (B), Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE). Bei allen Tieren mit klinischen Symptomen fand sich ein leptomeningeales Infiltrat im Subarachnoidalraum (durchgehender Pfeil →) (A). Das leptomeningeale Infiltrat bestand vorwiegend aus neutrophilen Granulozyten, Makrophagen und Lymphozyten sowie fibrinösem Exsudat (B).

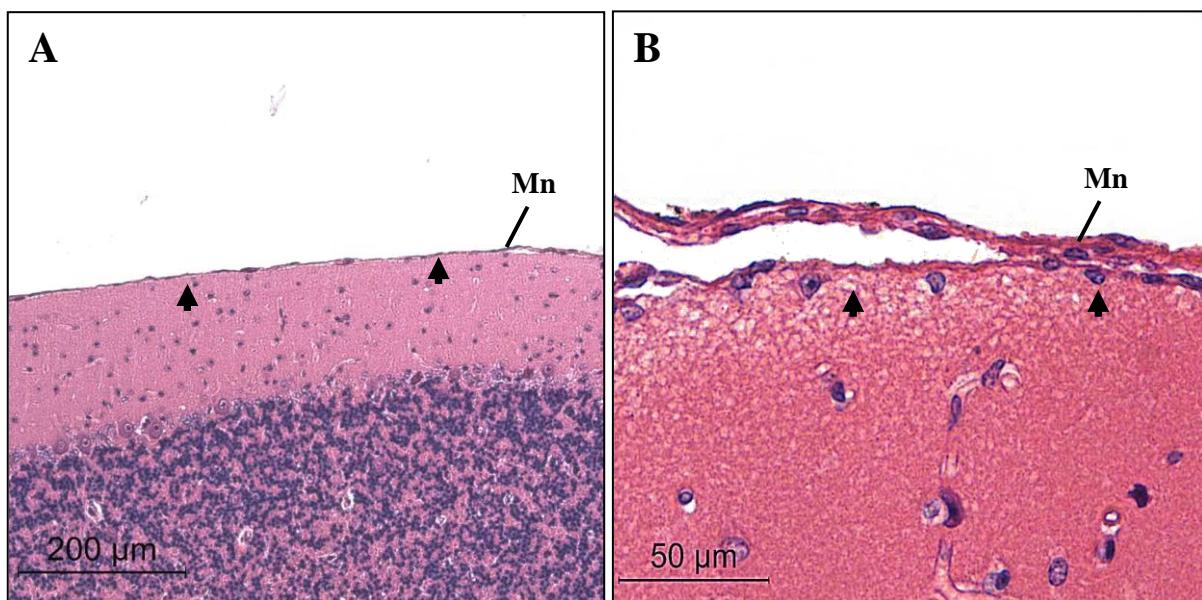


Abb. 18: Cortex und Meningen von Tieren ohne Meningitis

(A und B) Cortex cerebelli von Tieren ohne Meningitis in horizontaler Schnittebene, Schnittdicke 3,5 µm, x100 (A) und x400 (B), Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE). Bei Tieren ohne klinische Symptome fehlte das Infiltrat und die Meningen (Mn) lagen der Hirnoberfläche als dünne Häutchen auf (Pfeilspitze ►) (B).

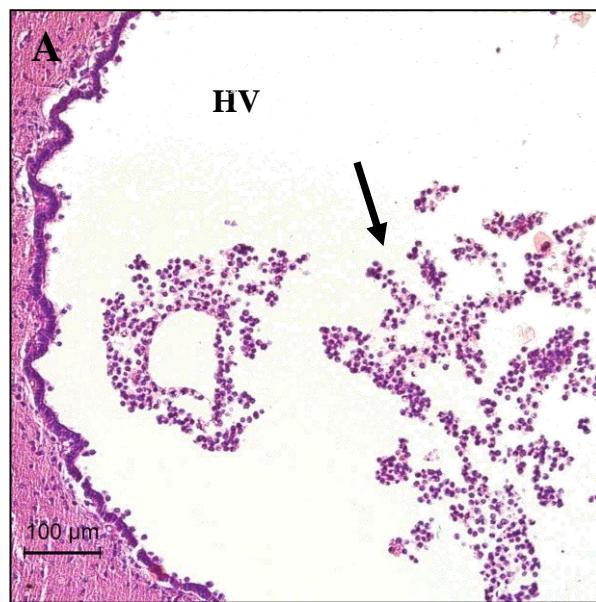


Abb. 19: Ventrikel eines Tieres mit klinisch manifester Meningitis

(A) IV. Hirnventrikel (HV) in horizontaler Schnittebene, Schnittdicke 3,5 μ m, x100, Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE). Auch in den Ventrikeln erkrankter Tiere konnten Ansammlungen von Entzündungszellen und Exsudat (durchgehender Pfeil \blackrightarrow) beobachtet werden.

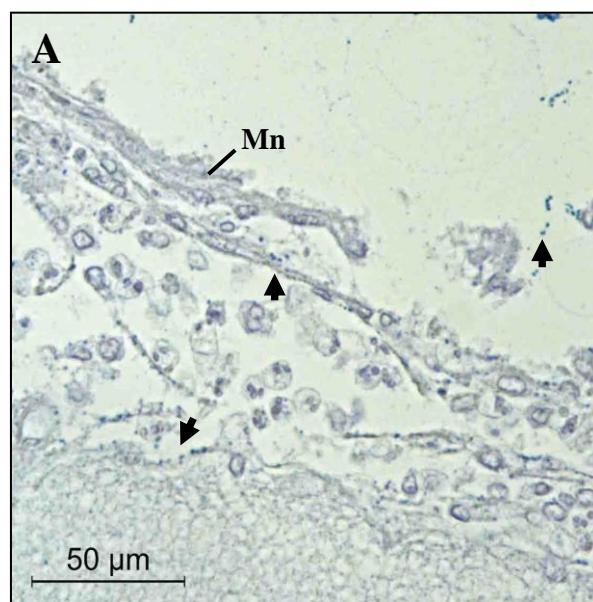


Abb. 20: Gram-positive Kokken im Subarachnoidalraum eines Tieres mit Meningitis

(A) Weiche Meningen (Mn) des Cortex cerebrum in horizontaler Schnittebene, Schnittdicke 3,5 μ m, x400, Gram-Färbung. Gram-positive Diplokokken (Pfeilspitze \blacktriangleright) im Subarachnoidalraum eines Tieres mit klinisch manifester Meningitis.

1.2.3.2 Cochlea

Um das Implantat konnte als Reaktion auf den Fremdkörper bei allen implantierten Tieren die Bildung einer Bindegewebshülle beobachtet werden (**Abb. 21**). In den meisten Fällen beschränkte sich die Okklusion durch das Bindegewebe auf die *Scala tympani* der basalen Windung. In einigen Fällen reichte die Bindegewebzubildung über die höheren Windungen bis zum *Apex* oder fand sich zusätzlich in der *Scala vestibuli*. Die *Scala media* war regelmäßig frei von Bindegewebe. Bei Tieren mit Meningitis konnte das Bindegewebe aufgrund der vorherrschenden Entzündungsreaktion zum Teil nicht deutlich von dieser abgegrenzt werden.

Bei allen Tieren, die klinische Symptome einer Meningitis zeigten, konnte ein entzündliches Infiltrat in den perilymphatischen Räumen der Cochlea nachgewiesen werden (**Abb. 23A**). Dieses bestand vorwiegend aus neutrophilen Granulozyten und wenigen Erythrozyten, sowie Fibrin (**Abb. 23B**). Die Entzündungsprodukte fanden sich bei leichter bis mäßiger Entzündung basal akzentuiert in der *Scala tympani* und in der *Scala vestibuli*, die *Scala media* war nicht betroffen (**Abb. 23A**). Ansammlungen von Entzündungszellen fanden sich gehäuft am Übergang zum *Ligamentum spirale*. Bei starkem Entzündungsgeschehen waren die Skalen über alle Windungen nahezu vollständig mit Entzündungszellen und Exsudat okkludiert. Das das Implantat umgebende Bindegewebe wurde von Granulozyten durchsetzt und befand sich bei starkem Entzündungsgeschehen teilweise in Auflösung. Die perilymphatischen Räume der Cochlea waren bei Tieren ohne Meningitis frei von Entzündungsprodukten (**Abb. 22**). Auch bei diesen Tieren konnten jedoch vereinzelt Granulozyten im Bindegewebe nachgewiesen werden, die im Zuge der Fremdkörperreaktion eingewandert sind. Es konnte kein Zusammenhang zwischen Keimkonzentration und Ausmaß der Entzündungsreaktion in der Cochlea beobachtet werden. Bei Tieren mit Meningitis, die mit hohen Bakterienkonzentrationen belastet worden waren, konnte in einigen Fällen nur eine sehr geringe Entzündungsreaktion in der Cochlea nachgewiesen werden. Die Cochlea bei Tieren mit Meningitis war jedoch nie vollständig frei wie es bei Tieren ohne Meningitis trotz der intratympanalen Inokulation des Erregers beobachtet werden konnte. Bei vier Tieren ohne Symptome einer Meningitis konnte eine Entzündungsreaktion in der Cochlea beobachtet werden, während die histologische Untersuchung des Gehirns in diesen Fällen ohne Befund blieb. Es handelte sich hierbei um jeweils zwei Tiere, die mit einer Konzentration von 1×10^8 und 1×10^6 CFU/ml inokuliert worden waren. Gram-positive Kokken konnten durch eine Gram-Färbung in der *Scala tympani*, sowie in der *Scala vestibuli* nachgewiesen werden (**Abb. 24**), in der *Scala media* fanden sich keine Bakterien. Als Zeichen einer *Otitis media* fanden sich Granulozyten und Eiter im Mittelohr.

Eine Untersuchung der Rund-Fenster-Membran implantierter und nicht-implantierter Tiere zeigte bei Tieren mit Meningitis eine Migration der Membran durch Entzündungszellen und Bakterien (Abb. 25).

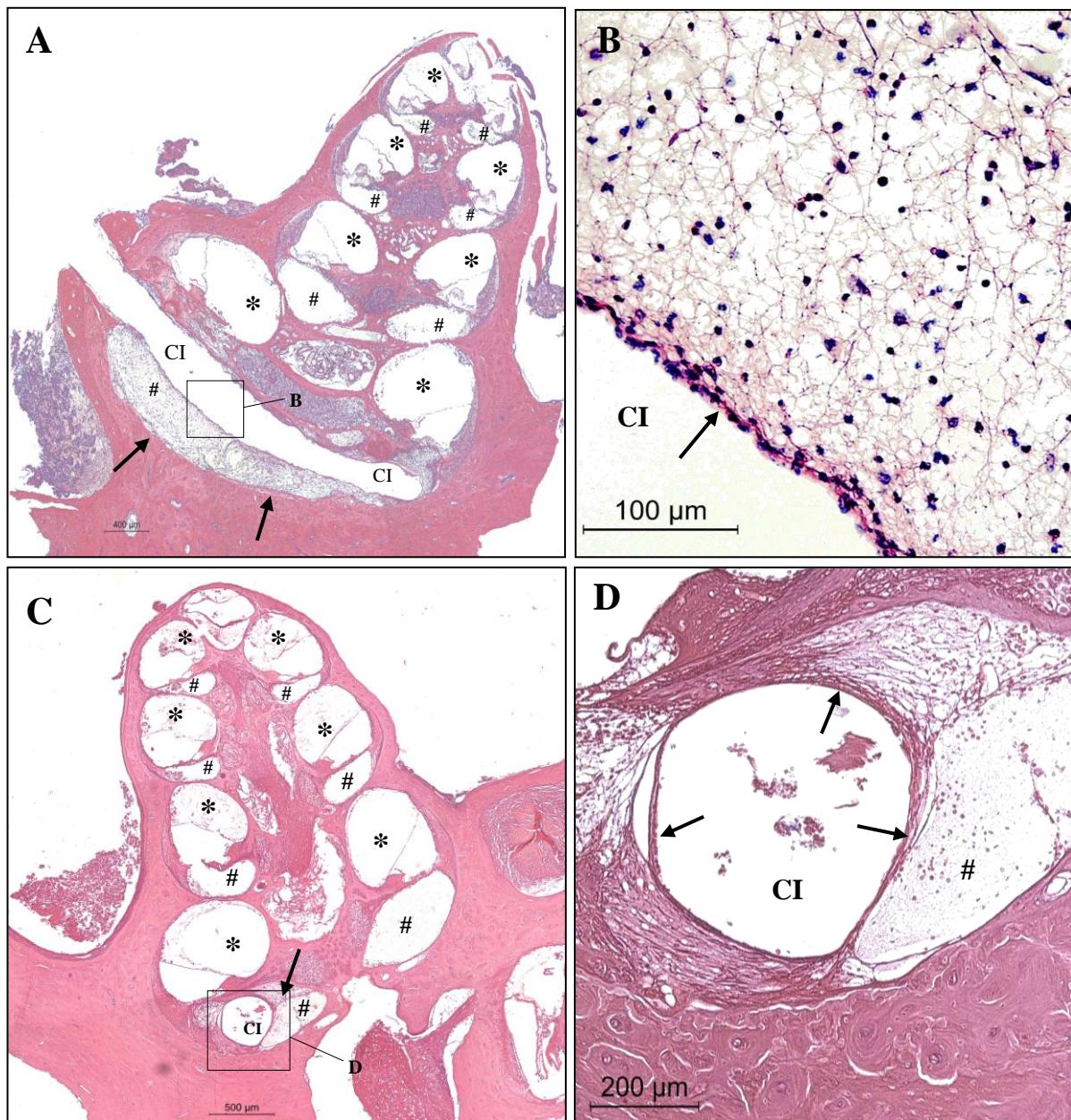


Abb. 21: Bindegewebiszubildungen in der Cochlea nach der Implantation

(A und C) Cochleae von Tieren mit Meningitis in der Übersicht und (B und D) Ausschnitte der Scala tympani der basalen Cochlea-Windung, Schnittebene sagittal durch den Modiolus, Schnittdicke 3,5 μ m, x50 (A und C), x200 (B) und x100 (D), Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE). Um das Implantat konnte bei allen implantierten Tieren die Bildung einer Bindegewebshülle beobachtet werden (A)-(D) (durchgehender Pfeil →). Scala tympani (#), Scala vestibuli (*), Cochlea-Implantat (CI).

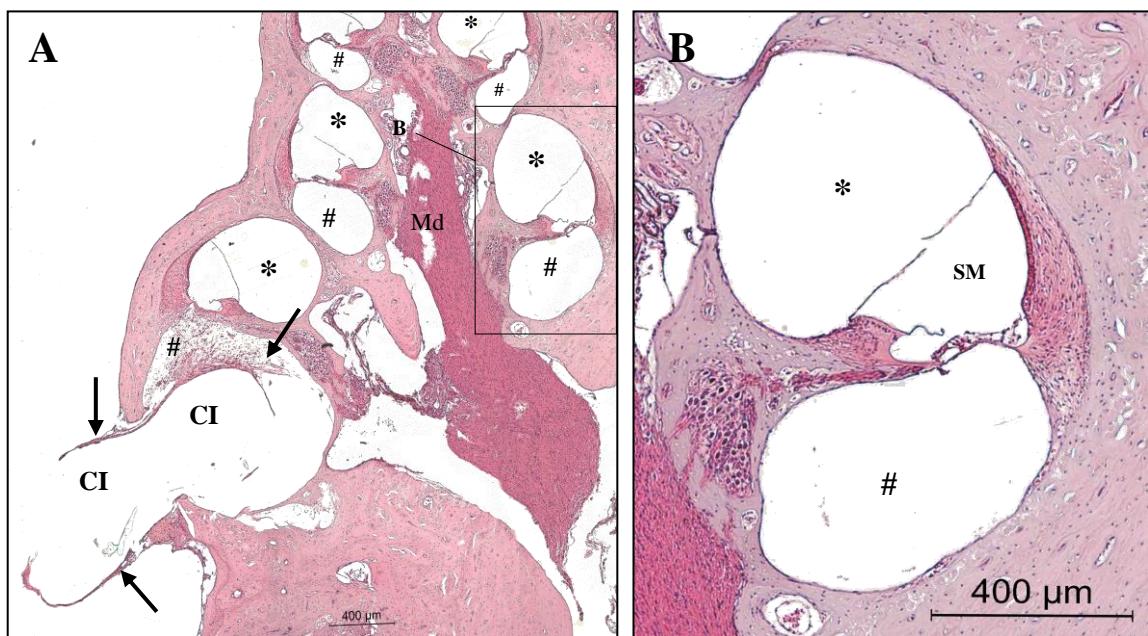


Abb. 22: Cochlea eines Tieres ohne Meningitis

(A) *Cochlea eines Tieres ohne Meningitis in der Übersicht und (B) Ausschnitt der mittleren und apikalen Windung, Schnittebene sagittal durch den Modiolus, Schnittdicke 3,5 μm , x50, Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE). Bei Tieren ohne Meningitis waren die perilymphatischen Räume der Cochlea frei von entzündlichem Infiltrat (A und B). Scala tympani (#), Scala vestibuli (*), Scala media (SM), Cochlea-Implantat (CI) und umgebendes Bindegewebe (durchgehender Pfeil →).*

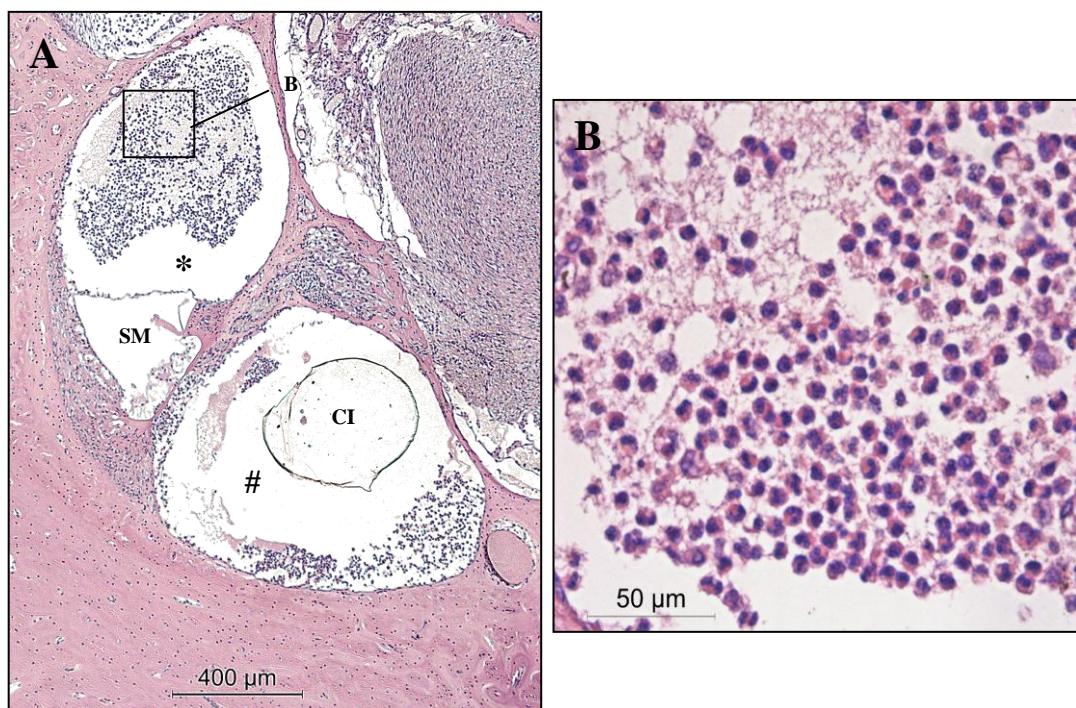


Abb. 23: Okklusion der perilymphatischen Räume der Cochlea

(A und B) *basale Windung der Cochlea eines Tieres mit klinisch manifester Meningitis, Schnittebene sagittal durch den Modiolus, Schnittdicke 3,5 μm , x100 (A) und x 400 (B), Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE). Bei Tieren mit Meningitis konnte ein entzündliches Infiltrat in den perilymphatischen Räumen der Cochlea beobachtet werden (A). Die Scala media (SM) war regelmäßig frei von Entzündungsprodukten. Das Infiltrat bestand vorwiegend aus neutrophilen Granulozyten, Makrophagen und Lymphozyten sowie fibrinösem Exsudat (B). Scala tympani (#), Scala vestibuli (*), Cochlea-Implantat (CI).*

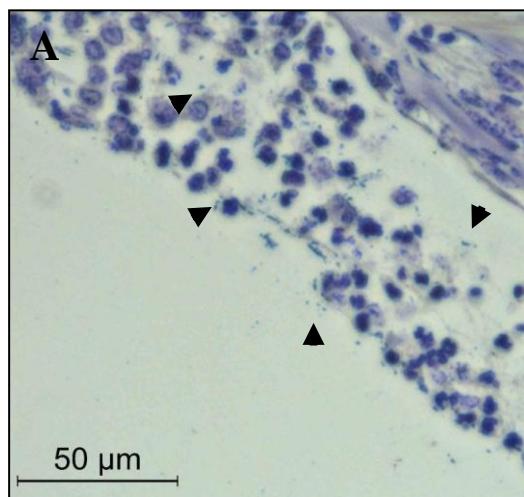


Abb. 24: Nachweis gram-positiver Kokken in den Perilymph-Räumen der Cochlea

(A) *Scala tympani* der basalen Windung der *Cochlea*, Schnittebene sagittal durch den *Modiolus*, Schnittdicke 3,5 μm , x400, Gram-Färbung. Bei Tieren mit *Meningitis* konnten in den perilymphatischen Räumen der *Cochlea* gram-positive Kokken (Pfeilspitze \blacktriangleright) nachgewiesen werden.

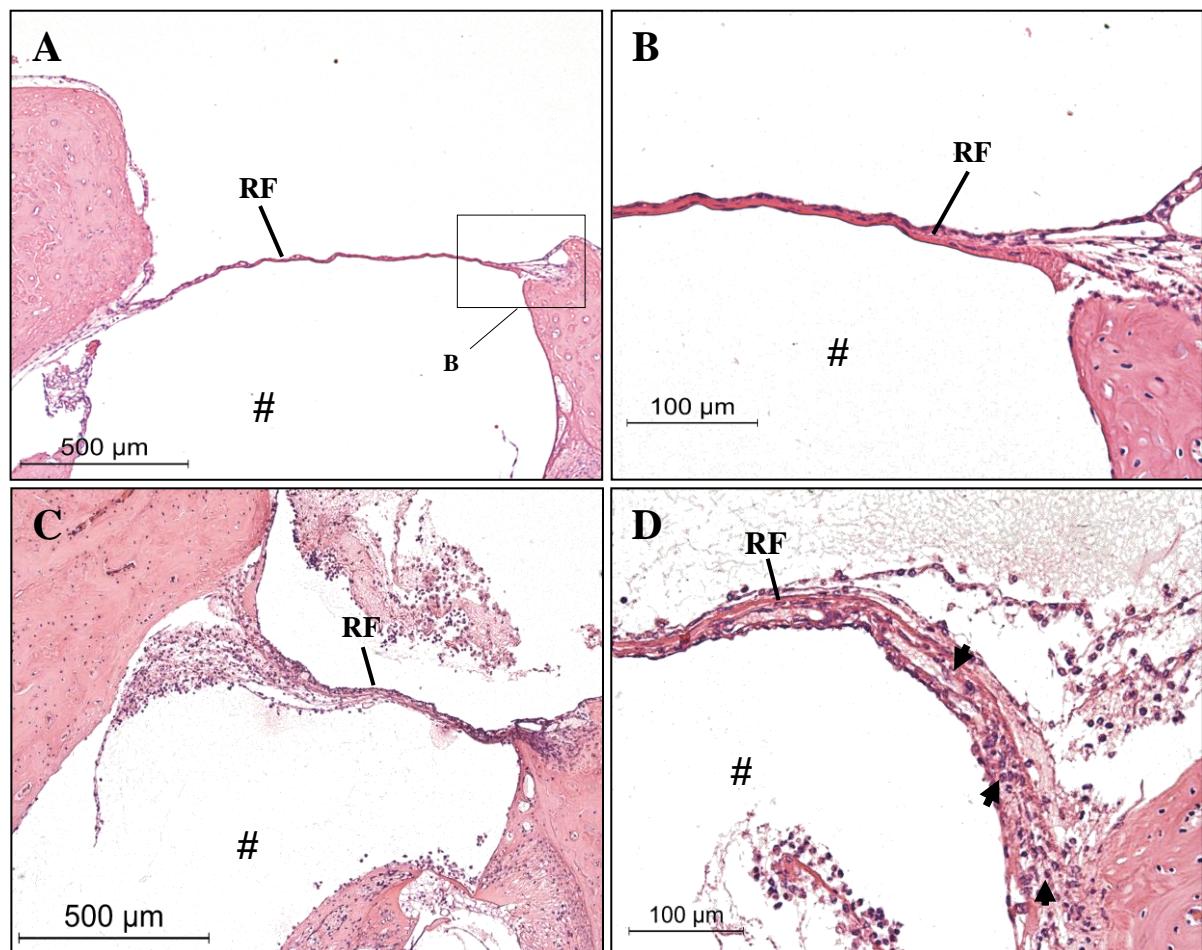


Abb. 25: Rund-Fenster-Membran von Tieren mit und ohne Meningitis

(A-D) *Scala tympani* (#) der basalen *Cochlea*-Windung mit Sicht auf die Membran des Runden Fensters (RF), Schnittebene sagittal zur *Modiolus*-Achse, Schnittdicke 3,5 μm , x50 (A und C) und x200 (B und D), Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE). Rund-Fenster-Membran (RF) eines Tieres ohne *Meningitis* (A und B) und Rund-Fenster-Membran (RF) eines Tieres mit klinisch manifester *Meningitis* (B und D). Die Membran wird von Entzündungszellen (Pfeilspitze \blacktriangleright) durchwandert (D).

2 VERSUCH II: VERGLEICHSSSTUDIE

2.1 Gruppenvergleich

Ziel der Vergleichsstudie war die Untersuchung Dexamethason-freier und Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate im Hinblick auf das postoperative Meningitis-Risiko. Die Gruppe von Tieren mit Dexamethason-freisetzenden Implantaten wurde einer Gruppe mit Dexamethason-freien Implantaten, sowie einer Gruppe von Tieren, die vor der Inokulation von *Streptococcus pneumoniae* kein Implantat erhielt, gegenübergestellt. **Tab. 19** zeigt die Ergebnisse der Vergleichsstudie.

Tab. 19: Anzahl erkrankter Tiere im Gruppenvergleich

| Versuchsgruppe | Anzahl inokulierter Tiere pro Gruppe | Meningitis | ohne Meningitis |
|---------------------------------|--------------------------------------|------------|-----------------|
| ohne Dexamethason (Gruppe I) | 15 | 3 | 12 |
| mit Dexamethason (Gruppe II) | 15 | 4 | 11 |
| ohne Implantat (Gruppe III) | 15 | 5 | 10 |

Im Vergleich der Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Meningitisrate nachgewiesen werden (Exakter Test nach Fisher, einseitige asymptotische Signifikanz: kein p -Wert $< 0,05$) (**Tab. 20**).

Tab. 20: Auswertung des Gruppenvergleichs mit Hilfe des exakten Test nach Fisher

| Gruppenvergleich | Exakter Test nach Fisher |
|----------------------|--------------------------|
| Gruppe I/Gruppe II | $p = 0,500$ |
| Gruppe I/Gruppe III | $p = 0,341$ |
| Gruppe II/Gruppe III | $p = 0,500$ |

2.2 Charakteristika der Pneumokokken-Meningitis im Meerschweinchenmodell

2.2.1 Klinische Überwachung der Versuchstiere

Nahezu alle erkrankten Tiere entwickelten die klinisch manifeste Meningitis gegen Versuchsende an Tag 4 oder Tag 5 (**Tab. 21**). Die Gruppen unterschieden sich nicht hinsichtlich des Zeitpunkts des Auftretens einer Meningitis.

Tab. 21: Zeitpunkt der Euthanasie von Tieren aus Versuch II

| Versuchsgruppe | Zeitpunkt der Euthanasie | | | | |
|---------------------------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | Tag 1 | Tag 2 | Tag 3 | Tag 4 | Tag 5 |
| ohne Dexamethason (Gruppe I) | - | 1 | - | - | 2 |
| mit Dexamethason (Gruppe II) | - | - | - | - | 4 |
| ohne Implantat (Gruppe III) | - | - | - | 1 | 4 |

Die klinischen Veränderungen wurden wie in **Versuch I** über das in Abschnitt **III, 2.5.4.1 Klinische Überwachung der Versuchstiere** beschriebene Bewertungssystem erfasst. Als Nachweis einer klinisch manifesten Erkrankung wurde neben der Beurteilung der Laborparameter die Anzahl der vergebenen Punkte verwendet, um den Gesundheitszustand der Tiere zu beurteilen. So zeigten Tiere mit klinischer Meningitis zu Versuchsende signifikant höhere Scores als Tiere ohne Meningitis (**Tab. 22**). Es konnte kein Unterschied hinsichtlich der Ausprägung der klinischen Symptome bei Vergleich von Tieren mit Meningitis verschiedener Gruppen festgestellt werden.

Tab. 22: Klinischer Score der Tiere aus Versuch II

| Gruppe | | Score am Tag 1 morgens | Score am Tag der Euthanasie |
|--------------------------------------------------------|---------|------------------------|-----------------------------|
| Tiere mit klinisch manifester Meningitis (n=12) | MW ± SD | 0,8 ± 1,1 | 10,2 ± 2,7 |
| | Minimum | 0 | 8 |
| | Maximum | 3 | 17 |
| | Median | 0,0 | 9,5* |
| Tiere ohne Meningitis (n=33) | MW ± SD | 0,5 ± 0,7 | 0,4 ± 0,8 |
| | Minimum | 0 | 0 |
| | Maximum | 2 | 3 |
| | Median | 0,0 | 0,0* |

*p < 0,001 (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymptotische Signifikanz)

Erkrankte Tiere zeigten wie in **Versuch I** zunächst eine Gewichtsreduktion. Bis zum Versuchsende konnte ein signifikanter Gewichtsverlust bei erkrankten Tieren festgestellt werden. Auch bei nicht erkrankten Tieren trat unmittelbar nach der Inokulation ein kurzfristiger Gewichtsverlust auf, das Gewicht dieser Tiere stabilisierte sich jedoch über den Versuchszeitraum und die Tiere nahmen an Gewicht zu (**Tab. 23, Abb. 26**).

Tab. 23: Gewichtsverlauf der Tiere aus Versuch II

| Erkrankung | | Gewicht am Tag 1 morgens (g) | Gewicht am Tag der Euthanasie (g) |
|--------------------------------------------------------|---------|------------------------------|-----------------------------------|
| Tiere mit klinisch manifester Meningitis (n=12) | Minimum | 232 | 182 |
| | Maximum | 628 | 565 |
| | Median | 455* | 404* |
| Tiere ohne Meningitis (n=33) | Minimum | 273 | 292 |
| | Maximum | 640 | 612 |
| | Median | 429 | 452 |

* $p = 0,04$ (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für verbundene Stichproben, zweiseitige asymptomatische Signifikanz)

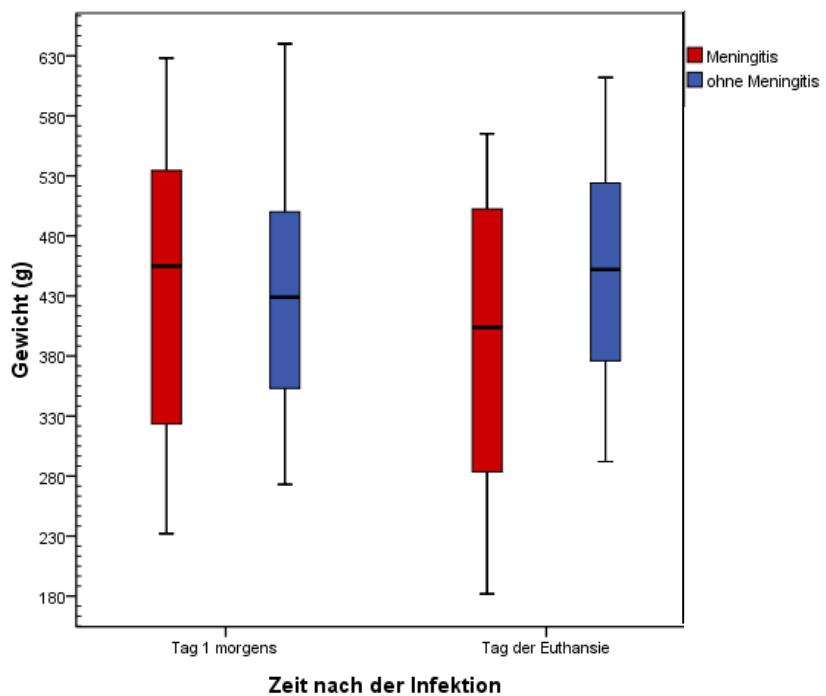


Abb. 26: Gewichtsverlauf der Tiere aus Versuch II

Wie in Versuch I konnte auch in Versuch II bei Tieren mit Meningitis bis zum Zeitpunkt der Euthanasie eine signifikante Reduktion des Gewichts beobachtet werden. Bei gesunden Tieren stabilisierte sich das Gewicht nach einem kurzfristigen Gewichtsverlust unmittelbar nach der Infektion wieder und sie nahmen bis zum Versuchsende an Gewicht zu.

Weiterhin trat bei erkrankten Tieren im Verlauf des Versuchs eine erhöhte Körpertemperatur auf, die bis zum Versuchsende anhielt. Nicht erkrankte Tiere zeigten zum Teil ebenfalls einen Anstieg der Körpertemperatur, der jedoch nicht länger als einen Tag anhielt. Die Temperatur lag bei diesen Tieren zu Versuchsende wieder im Normalbereich (**Abb. 27**). Das Auftreten zentralnervöse Symptome konnten in keiner der Gruppen beobachtet werden.

Tab. 24: Temperaturverlauf der Tiere aus Versuch II

| Gruppe | | Temperatur an Tag 1 morgens (°C) | Temperatur am Tag der Euthanasie (°C) |
|--------------------------------------------------------|---------|----------------------------------|---------------------------------------|
| Tiere mit klinisch manifester Meningitis (n=12) | Minimum | 38,6 | 39,7 |
| | Maximum | 40,0 | 41,0 |
| | Median | 39,4 | 40,3* |
| Tiere ohne Meningitis (n=33) | Minimum | 38,0 | 37,5 |
| | Maximum | 40,2 | 41,0 |
| | Median | 39,1 | 39,1* |

* $p < 0,001$ (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymmetrische Signifikanz)

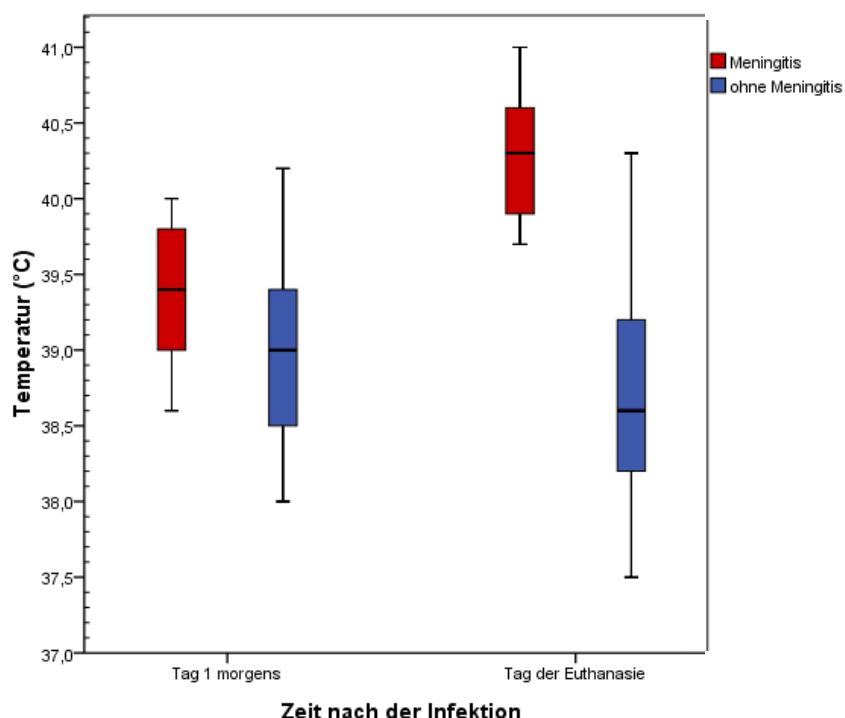


Abb. 27: Temperaturverlauf der Tiere aus Versuch II

Tiere mit Meningitis zeigten einen Anstieg der Körpertemperatur, der bis zum Versuchsende anhielt. Nicht erkrankte Tiere zeigten zum Teil ebenfalls kurzzeitig eine erhöhte Körpertemperatur, die jedoch nicht länger als einen Tag auftrat. Die Körpertemperatur lag bei Tieren ohne Meningitis zu Versuchsende wieder im Normalbereich.

2.2.2 Laborbefunde und Keimzahlbestimmung

2.2.2.1 Liquor

Zum Zeitpunkt der Euthanasie war die Liquorzellzahl (Leukozytenzahl) bei Tieren mit Symptomen einer Meningitis gegenüber klinisch gesunden Tieren stark erhöht und lag bei Tieren mit Meningitis zwischen 1.013 und 3.600 Zellen/ μ l. Tiere ohne Meningitis zeigten keine erhöhten Zellzahlen im Liquor. Die Bestimmung der Keimzahl ergab Werte zwischen $1,25 \times 10^4$ und $6,50 \times 10^4$ CFU/ml bei Tieren mit klinischer Meningitis. Bei Tieren ohne Meningitis konnte kein Keimwachstum in Liquorausstrichen nachgewiesen werden (**Tab. 25**).

Tab. 25: Liquorbefunde der Tiere aus Versuch II

| Gruppe | | Liquorzellzahl (Zellen/ μ l) | Keimzahl ($\times 10^4$ CFU/ml) |
|------------------------------------------------------------|----------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Tiere mit klinisch manifester Meningitis (n=12) | Minimum | 1.013 | 1,25 |
| | 25 % Perzentil | 1584 | 1,34 |
| | Median | 2.388* | 2,36** |
| | 75 % Perzentil | 3142 | 3,28 |
| | Maximum | 3.600 | 6,50 |
| Tiere ohne Meningitis (n=33) | Minimum | 0 | 0,00 |
| | 25 % Perzentil | 0 | 0,00 |
| | Median | 0* | 0,00** |
| | 75 % Perzentil | 6 | 0,00 |
| | Maximum | 50 | 0,00 |

* $p < 0,001$ und ** $p < 0,001$ (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymptotische Signifikanz)

2.2.2.2 Blut

Die Leukozytenzahl lag wie auch in den Vorversuchen sowohl bei Tieren mit Meningitis als auch bei Tieren ohne Meningitis jeweils im Referenzbereich. In allen drei Gruppen konnte in den Ausstrichen auf Blutagarplatten ein Keimwachstum sowohl bei Tieren mit klinisch manifester Meningitis als auch bei Tieren ohne Meningitis nachgewiesen werden. Ein Unterschied zwischen den Gruppen konnte nicht beobachtet werden.

Tab. 26: Leukozytenzahl und Gesamtkeimzahl im Blut (Versuch II)

| Gruppe | | Leukozytenzahl (G/l) | Keimzahl ($\times 10^2$ CFU/ml) |
|--------------------------------------------------------|----------------|-------------------------|-------------------------------------|
| Tiere mit klinisch manifester Meningitis (n=12) | Minimum | 2,48 | 3,20 |
| | 25 % Perzentil | 3,50 | 3,63 |
| | Median | 3,78* | 4,90** |
| | 75 % Perzentil | 6,30 | 7,20 |
| | Maximum | 9,40 | 9,40 |
| Tiere ohne Meningitis (n=33) | Minimum | 1,80 | 0,00 |
| | 25 % Perzentil | 3,26 | 0,00 |
| | Median | 4,25* | 0,00** |
| | 75 % Perzentil | 5,92 | 2,25 |
| | Maximum | 8,25 | 7,50 |

* $p = 0,97$ und ** $p < 0,001$ (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymptomatische Signifikanz)

2.2.2.3 Mittelohrabstriche

Bei allen Tieren konnten in den Ausstrichen der Mittelohrabstriche die für den Erreger typischen glatten, schleimig glänzenden Kolonien mit zentraler Eindellung und grünlichen Hämolysenhof nachgewiesen werden.

2.2.3 Histologische Untersuchungen

Aus der Versuchsserie von Versuch II wurden insgesamt 18 Cochleae und Gehirne histologisch untersucht. Aus den drei Versuchsgruppen wurden die Proben von jeweils 3 Tieren mit klinischer Meningitis und 3 Tieren ohne Meningitis ausgewertet (**Tab. 27**).

Tab. 27: Übersicht histologische Auswertung (Versuch II)

| Implantattyp | Anzahl erkrankter Tiere pro Gruppe | Anzahl histologisch untersuchter Proben | |
|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------|
| | | Meningitis | ohne Meningitis |
| ohne Dexamethason (Gruppe I) | 3/15 | 3 | 3 |
| mit Dexamethason (Gruppe II) | 4/15 | 3 | 3 |
| ohne Implantat (Gruppe III) | 5/15 | 3 | 3 |

2.2.3.1 Gehirn

Die histologischen Befunde glichen denen von Tieren aus **Versuch I**. Als Zeichen der Meningitis konnte bei erkrankten Tieren eine leptomeningiale Entzündungsreaktion nachgewiesen werden. Wiederum konnten vorwiegend neutrophile Granulozyten, Makrophagen, sowie ein fibrinöses Exsudat im Subarachnoidalraum und in den Ventrikeln beobachtet werden. Bei Tieren ohne klinische Symptome waren die Meningen und der Subarachnoidalraum frei von Entzündungszellen und die Meningen lagen der Hirnoberfläche als dünne Häutchen auf. Über eine Gram-Färbung konnten gram-positive Kokken im Subarachnoidalraum und in den Ventrikeln erkrankter Tiere sichtbar gemacht werden.

2.2.3.2 Cochlea

Sowohl bei Dexamethason-freien, als auch bei Dexamethason-freisetzenden Implantaten bildete sich als Reaktion auf den Fremdkörper bei allen implantierten Tieren eine Bindegewebshülle um das Implantat. In den meisten Fällen beschränkte sich die Okklusion durch das Bindegewebe auf die *Scala tympani* der basalen Windung. In einigen Fällen reichte die Bindegewebszubildung über die höheren Windungen bis zum *Apex* oder fand sich zusätzlich in der *Scala vestibuli*. Die *Scala media* war bei allen Tieren frei von Bindegewebe. Bei Tieren ohne Implantat fehlten die Bindegewebszubildungen.

Das histologische Bild ähnelte wiederum dem aus **Versuch I**. Bei Tieren mit Meningitis konnten akzentuiert in der *Scala tympani* und in der *Scala vestibuli* Entzündungszellen und fibrinöses Exsudat beobachtet werden, während die *Scala media* nicht beteiligt war (**Abb. 27A**). Die zelluläre Immunantwort war durch das Auftreten von Granulozyten und Makrophagen gekennzeichnet. Bei Tieren ohne Meningitis lag in den meisten Fällen keine Entzündung in der Cochlea vor (**Abb. 28**). Bei zwei Tieren aus der Gruppe ohne Implantat, die zum Zeitpunkt der Probenentnahme keine klinischen Symptome zeigten, konnte ein Entzündungsgeschehen in der Cochlea nachgewiesen werden. Die histologische Untersuchung des Gehirns der betreffenden Tiere lieferte jedoch keine Hinweise auf eine Meningitis.

Eine Untersuchung der Rund-Fenster-Membran implantierter und nicht-implantierter Tiere zeigte bei Tieren mit Meningitis wie auch bei Tieren aus den Vorversuchen eine Migration durch Entzündungszellen und Bakterien.

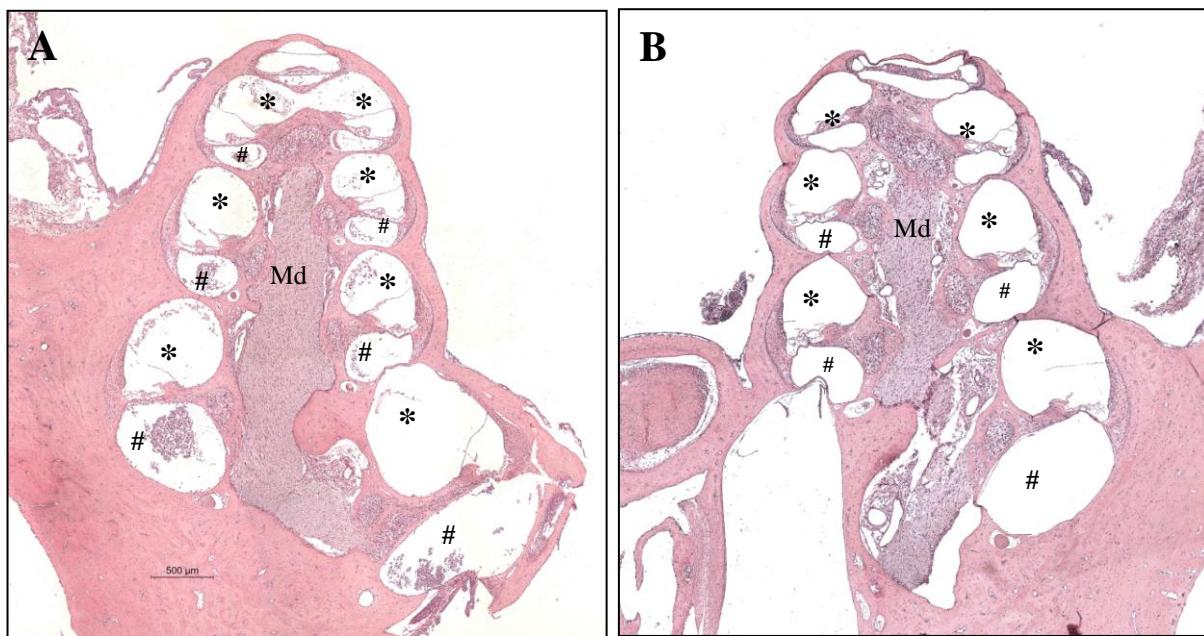


Abb. 28: Cochleae von Tieren ohne Implantat

(A und B) *Cochleae von Tieren ohne Implantat, Schnittebene sagittal durch den Modiolus (Md), Schnittdicke 3,5 μ m, Vergrößerung x50, Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE). Cochlea eines nicht-implantierten Tieres mit klinisch manifester Meningitis (A), Cochlea eines nicht-implantierten Tieres ohne Meningitis (B). Scala tympani (#), Scala vestibuli (*)*

V DISKUSSION

1 TIERMODELL DER PNEUMOKOKKEN-MENINGITIS

Ein Tiermodell der Pneumokokken-Meningitis nach Cochlea-Implantation ist für die Ratte bereits etabliert worden (WEI et al. 2006c). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit erfolgte die Etablierung für das Meerschweinchen. Das Meerschweinchen wurde als Versuchstier gewählt, da diese Tierart bereits für *in vivo*-Studien zu Wirksamkeit und Abgabeeigenschaften Dexamethason-freisetzender Implantate verwendet wurde (KIEFER et al. 2008). In der Innenohrforschung wird das Meerschweinchen häufig als Versuchstier eingesetzt, da die knöcherne Kapsel der Cochlea dünn ist und die Cochlea frei exponiert im Mittelohr liegt (VON BÉKÉSY 1960). Eine Cochlea-Implantation lässt sich unter diesen Gegebenheiten sicher und reproduzierbar durchzuführen. Das Innenohr ist zudem im Gegensatz zu Ratte und Gerbil bei der Geburt bereits voll entwickelt (SAHA und SLEPECKY 2000). WINTER et al. konnten in einer Studie die Pathogenität von *Streptococcus pneumoniae* D39 für das Meerschweinchen zeigen (WINTER et al. 1997). Aus diesem Grund schien dieser Stamm für die im Rahmen dieser Studie durchgeführten Versuche geeignet.

Nachweis der Pneumokokken-Meningitis im Tiermodell

In verschiedenen Tiermodellen zur Pneumokokken-Meningitis erfolgt die Beurteilung des Gesundheitszustands der Tiere über ein Punktesystem (BRANDT 2010, WEI et al. 2006c). Angelehnt an diese Arbeiten erfolgte im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Entwicklung eines Punktesystems für das Meerschweinchen (**Tab. 5**). Über das Punktesystem wurden zum einen allgemeine Krankheitszeichen, die eine Einschätzung des Gesundheitszustands der Tiere ermöglichen, zum anderen Symptome der Otitis media und der Meningitis erfasst. Durch die Dokumentation der klinischen Symptome und deren Bepunktung konnte eine Erkrankung der Tiere im Versuchszeitraum sicher erfasst werden. Bei allen Tieren mit Meningitis wurden hohe klinische Scores nachgewiesen, die zudem zu Versuchsende signifikant höher ausfielen als bei Tieren ohne Meningitis. Der klinische Score allein ließ somit bereits die vorläufige Diagnose einer Meningitis zu. Tiere mit Meningitis zeigten aufgrund der reduzierten Futter- und Wasseraufnahme einen deutlichen Gewichtsverlust bis zum Zeitpunkt der Probenentnahme. Auch bei Tieren ohne Meningitis trat unmittelbar nach der Inokulation ein kurzzeitiger Gewichtsverlust auf, der jedoch durch den operativen Eingriff erklärt werden kann. Diese Tiere glichen den Gewichtsverlust über den Versuchszeitraum hinweg aus und nahmen in den meisten Fällen an Gewicht zu, sodass sie im Durchschnitt zu Versuchsende nicht leichter wa-

ren als zu Versuchsbeginn. Tiere mit Meningitis entwickelten zudem Fieber, das bis zum Versuchsende anhielt. Auch bei einigen Tieren ohne Meningitis kam es zu einem Anstieg der Körpertemperatur, der jedoch in der Regel nicht länger als einen Tag anhielt. Dies kann als Zeichen der Auseinandersetzung des Immunsystems mit dem Erreger gesehen werden. Tiere mit Meningitis zeigten weiterhin eine anhaltende Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens, reduziertes Explorationsverhalten und verminderte Reaktionen auf taktile oder visuelle Reize. Bei einigen Tieren konnte eine Kopfschiefhaltung beobachtet werden. Mit Fortschreiten der Erkrankung war der Stellreflex reduziert oder ausgefallen. Opisthotonus und weitere zentralnervöse Symptome konnten nicht bei allen Tieren beobachtet werden. Auch beim Menschen wird die klassische Symptom-Trias mit Fieber, Nackensteifigkeit und Bewusstseinstrübung jedoch bei weniger als 50 % der Patienten mit bakterieller Meningitis beobachtet und nur etwa 33 % der Patienten entwickeln weitere neurologische Symptome (HOFFMAN und WEBER 2009). Durch die intratympanale Infektion wurde bei den Versuchstieren eine Otitis media induziert. Im Vergleich zu Tieren mit Meningitis zeigten Tiere ohne Meningitis jedoch maximal eine geringgradige Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens. Selten konnten eine leichte Kopfschiefhaltung oder ein einseitiger Verlust des Peyerreflexes (Muskelreflex der Ohrmuschel bei plötzlichen Geräuschen) beobachtet werden. Bei Tieren ohne Meningitis konnte zu Versuchsende maximal ein leicht erhöhter klinischer Score errechnet werden.

Um die Belastung der Versuchstiere zu reduzieren, wurden Abbruchkriterien definiert, die eine Euthanasie der Tiere vor dem Versuchsende erlaubten. Ein Abbruch erfolgte vor Versuchsende, wenn nach Anwendung des Punktesystems ein bestimmter Grenzwert erreicht wurde (Score 10 von 21) und/oder klinische Symptome auftraten, die mit einem Weiterleben der Tiere nicht vereinbar waren. Tiere, die im Versuchszeitraum eine Meningitis entwickelten, befanden sich zum Zeitpunkt der Probenentnahme in unterschiedlichen Krankheitsstadien. Die Stärke der klinischen Symptome war demnach eher abhängig vom Stadium der Erkrankung zum Zeitpunkt der Euthanasie als von der inkulierten Keimzahl. Dies zeigten unter anderem die Scores erkrankter Tiere, die sich in ihrer Höhe zum Teil deutlich unterschieden. Es kann außerdem von einem gewissen Lerneffekt des Untersuchers ausgegangen werden, sodass eine sich manifestierende Erkrankung im Verlauf der Studie zunehmend früher erkannt wurde. Beeinflusst wurden die Scores zu Versuchsende vermutlich auch durch den zeitlichen Abstand zwischen den Kontrollen von 12 Stunden. Eine engmaschigere Überwachung der Tiere würde eine bessere Kontrolle des Krankheitsverlaufs und ein konkreteres Einschätzen des Krankheitsstadiums ermöglichen, insbesondere bei Modellen zur Untersuchung unterschiedlicher bakterieller Keimkonzentrationen.

Erkrankte Tiere entwickelten eine Meningitis zwischen Tag 2 und Tag 5 nach der Infektion. Wie auch in anderen Tiermodellen konnten Variationen hinsichtlich des Zeitpunktes des Auftretens einer Meningitis auch nach der Inokulation identischer Erregerkonzentration festgestellt werden (WEI et al. 2008, WEI et al. 2006b), generell führten höhere Bakterienkonzentrationen jedoch zu einem früheren Auftreten der Meningitis nach der Infektion. Dies zeigt sich besonders deutlich bei Vergleich der niedrigsten verwendeten Konzentration gegenüber der höchsten.

Die Diagnose einer Meningitis, sowie deren Ätiologie erfolgt neben der Bewertung der klinischen Symptome über die Liquordiagnostik. Liquor ist eine klare Flüssigkeit mit einem Zellgehalt von weniger als 5 Zellen/ μ l (RUPPRECHT und PFISTER 2004). Im Falle einer Meningitis kommt es aufgrund einer zellulären Immunantwort zu einem Anstieg der Leukozytenzahl in der Cerebrospinalflüssigkeit. Für eine bakterielle Meningitis sprechen hohe Zellzahlen von über 1.000 Zellen/ μ l. Die Diagnose der bakteriellen Meningitis wird weiterhin durch den Erreger nachweis im Liquor gesichert. Dieser kann mikroskopisch über eine Gram-Färbung (oder Methylenblau-Färbung) und/oder bakteriologisch mittels Kultur erfolgen. Bei 70 bis 90 % der Patienten mit Meningitis kann die Diagnose über diese beiden Methoden gesichert werden (RUPPRECHT und PFISTER 2004). Eine Meningitis konnte so auch im hier verwendeten Meerschweinchenmodell über die Untersuchung der Cerebrospinalflüssigkeit nachgewiesen werden. Bei allen Tieren mit klinischen Symptomen war die Anzahl der Leukozyten im Liquor deutlich erhöht. In Ausstrichen der entsprechenden Liquorproben konnten bei allen erkrankten Tieren zudem eine hohe bakterielle Last des Erregers *Streptococcus pneumoniae* nachgewiesen werden. Die Diagnose der Meningitis wurde durch die histologische Untersuchung der Hirnhäute (Meningen) bestätigt. An den Meningen konnte bei allen erkrankten Tieren ein entzündliches Infiltrat in unterschiedlichem Ausmaß beobachtet werden. Dieses bestand vorwiegend aus neutrophilen Granulozyten und einem Exsudat aus Protein und Fibrin, das sich auch in den Ventrikeln fand. Über eine Gram-Färbung konnten gram-positive Kokken im Subarachnoidalraum sichtbar gemacht werden. Bei Tieren ohne Meningitis fanden sich keine Anzeichen einer Entzündung an den Meningen und in den Ventrikeln. Die Befunde zeigen, dass die histologische Untersuchung eine geeignete Methode darstellt, um eine Meningitis sicher zu diagnostizieren.

2 INFEKTIONSWEG

Der Weg der Bakterien ins ZNS

Der Infektionsweg, über den Pneumokokken bei einer Meningitis das Gehirn und die Meningen erreichen, ist bisher noch nicht vollständig geklärt. Einen direkten Infektionsweg bei Komplikationen einer Otitis media oder Sinusitis stellt die otogene oder auch tympanogene Ausbreitung von Bakterien aus dem Mittelohr über das Innenohr in den Subarachnoidalraum dar. Dieser Infektionsweg konnte durch klinische Untersuchungen und auch tierexperimentell gezeigt werden (MARRA und BRIGHAM 2001). Ein Cochlea-Implantat gilt zudem als möglicher Risikofaktor für otogen aufsteigende Infektionen (CLARK 2003). Das Einführen des Elektrodenträgers in die Cochlea erfolgt über einen Zugang über das Mittelohr und erfordert je nach anatomischen Gegebenheiten die Eröffnung des Innenohrs durch eine Inzision der Rund-Fenster-Membran oder über eine Cochleostomie. Damit werden die natürlichen Barrieren zwischen Mittel- und Innenohr durchbrochen und es besteht vor allem in der Einheilphase nach der Implantation eine mehr oder weniger offene Verbindung vom Mittelohr zum Innenohr. Aus diesem Grund wurde der otogene Infektionsweg im Rahmen dieser Studie an implantierten und nicht-implantierten Tieren untersucht. Neben dem direkten otogenen Aufsteigen der Bakterien, kann ein hämatogener Infektionsweg nicht ausgeschlossen werden. Bei gesunden wie auch bei Tieren mit klinisch manifester Meningitis konnten im Rahmen dieser Studie Bakterientiter zwischen 10^2 bis 10^3 CFU/ml in Blutausstrichen nachgewiesen werden. In Studien zur Pathogenese der bakteriellen Meningitis wird eine primäre Bakterämie insbesondere bei Fehlen otogener Befunde und Ausschluss von Verletzungen im Schädel- und Kopfbereich als ein Hauptinfektionsweg angesehen. Tierexperimentelle Studien belegen jedoch, dass zur Auslösung einer Meningitis nach einer primären Bakterämie eine gewisse (hohe) Bakterienlast im Blut erreicht werden muss (PETERSDORF et al. 1962, TUOMANEN 1996). Bei einer akuten Otitis media, Sinusitis oder Pneumonie, ist außerdem die hämatogene Ausbreitung der Bakterien nach Manifestation am jeweiligen Ort zu diskutieren (sekundäre Bakterämie) (ØSTERGAARD et al. 2005). Sowohl in tierexperimentellen (SCHELD et al. 1979) als auch in klinischen Studien (FELDMAN 1976) konnte nachgewiesen werden, dass eine Bakterämie zudem als Folge einer starken Vermehrung des Erregers in der Cerebrospinalflüssigkeit auftreten kann. Aufgrund der niedrigen Bakterientiter und des Infektionswegs über das Mittelohr, wird in der vorliegenden Studie von einem überwiegend otogenen Ursprung der Meningitis ausgegangen, ein hämatogener Infektionsweg oder eine Kombination beider Infektionsrouten wird aber nicht ausgeschlossen. Im Rahmen dieser Studie konnten weitere Befunde beobachtet werden, die auf ein otogen aufsteigendes Infektionsgeschehen

hinweisen. Die beobachtete basal akzentuierte Labyrinthitis spricht für eine vom Mittelohr ins Innenohr aufsteigende Infektion, zumal die Applikation des Erregers über das Mittelohr erfolgte. Diese Theorie wird durch Befunde in implantierten und nichtimplantierten Tieren gestützt, in deren Cochlea bereits ein entzündliches Infiltrat in der *Scala tympani* und in der *Scala vestibuli* nachgewiesen werden konnte, während die Meningen und Ventrikel noch frei von Entzündung waren. Eine hämatogene Verbreitung der Bakterien würde eher eine generalisierte Entzündung in der Cochlea mit gleichmäßiger Verteilung des Infiltrats über alle Windungsabschnitte erwarten lassen. Es sollte sich daher kein Unterschied zwischen *Scala tympani* und *Scala vestibuli* in der Stärke der Entzündung zeigen. Zudem sollte die *Scala media* gleichfalls betroffen sein, die der *Stria vascularis* und dem *Ligamentum spirale* benachbart liegt. Bei einer hämatogenen Infektion kann zudem eine zeitgleiche Beteiligung von ZNS und Cochlea erwartet werden. Auch bei Tieren ohne Implantat deuten Befunde auf einen otogenen Infektionsweg hin. Bei zwei Tieren ohne Cochlea-Implantat konnte eine basal in der *Scala tympani* akzentuierte Labyrinthitis nachgewiesen werden, während an den Meningen dieser Tiere keine Anzeichen einer Meningitis beobachtet werden konnten. Generell kann jedoch eine hämatogene Ausbreitung der Erreger auch bei Tieren ohne Implantat nicht vollkommen ausgeschlossen werden.

Der Weg der Bakterien von der Cochlea ins ZNS

Ein möglicher Ausbreitungsweg der Bakterien aus der Cochlea ins ZNS führt über den *Ductus perilymphaticus* (*Aquaeductus cochlearis*), der von der *Scala tympani* der basalen Windung in den Subarachnoidalraum der Schädelgrube mündet. Der *Aquaeductus cochleae* ist beim Menschen in über der Hälfte der Fälle mit einem lockeren Fibrozytennetz ausgefüllt (GOPEN et al. 1997, MERCHANT und GOPEN 1996). Dieses scheint für Flüssigkeiten und kleinere feste Bestandteile, wie beispielsweise Erythrozyten durchgängig zu sein (BACHOR et al. 1999) und ist es somit sicherlich auch für die noch kleineren Bakterien. Studien zeigen, dass der *Aquaeductus cochleae* beim Meerschweinchen durch arachnoidales Gewebe ausgefüllt ist, das sich in die Membran des Runden Fensters fortsetzt und von der *Scala tympani* durch eine Schicht aus Zellen, die eine Art Membran bilden, abgegrenzt wird. Die Existenz einer solchen morphologischen Barriere zwischen Liquor- und Perilymph-Raum konnte bei anderen Labortieren bisher nicht nachgewiesen werden (BERGMANN et al. 1979). Aufgrund dieser Ähnlichkeit zu den anatomischen Verhältnissen des menschlichen Innenohrs, stellt das Meerschweinchen ein geeignetes Tiermodell für die durchgeführte Infektionsstudie, wie auch generell für Studien zu otogenen Infektionen, dar. Ein weiterer denkbarer Ausbreitungsweg der Bakterien verläuft entlang des *Nervus cochlearis*, der von den Haarzellen über das Gang-

lion spirale zum *Nucleus cochlearis* des Stammhirns zieht.

3 BESTIMMUNG DER BAKTERIELLEN PRÜFKONZENTRATION

Ziel der Vorversuche war die Bestimmung einer bakteriellen Prüfkonzentration, bei der ein niedriger Prozentsatz der Tiere eine Meningitis entwickelt. Da zu Versuchsbeginn von einem erhöhten Infektionsrisiko durch Dexamethason-freisetzende Implantate ausgegangen wurde, sollte der Anteil erkrankter Tiere nach Anwendung der Prüfkonzentration zwischen 20 und 45 % liegen. Diese niedrige Infektionsrate ermöglicht es in der folgenden Vergleichsstudie ein möglicherweise erhöhtes Infektionsrisiko Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate zu erfassen.

Zur Evaluation der Prüfkonzentration wurden verschiedene Bakterienkonzentrationen von *Streptococcus pneumoniae* untersucht. In bisher für das Meerschweinchen etablierten Meningitis-Modellen wurden lediglich Bakterienkonzentrationen zur intrathekalen bzw. intracisternalen Applikation von *Streptococcus pneumoniae* bestimmt (FORCE et al. 2008, NAIRN et al. 1995, WINTER et al. 1997), sodass diese für die vorliegende Studie nicht verwendet werden konnten. Aus diesem Grund wurden verschiedene Bakterienkonzentrationen zwischen 1×10^9 und 1×10^4 CFU/ml untersucht. Da über die *Tuba auditiva* auch beim Meerschweinchen eine offene Verbindung zum Nasen-Rachen-Raum besteht, erfolgte die Applikation der Keimsuspension auf ein resorbierbares Gelschwämmchen, um ein Abfließen derselben über die *Tuba auditiva* zu verhindern. Diese Methode wurde auch in anderen Infektionsstudien angewandt (WEI et al. 2006c, 2007). Die positiven Kulturen der Mittelohrabstriche zeigen, dass ein Abfließen der Keimsuspension über die *Tuba auditiva* verhindert werden konnte. Nach der Inokulation mit der höchsten Erregerkonzentration von 1×10^9 CFU/ml trat bei allen exponierten Tieren eine Erkrankung innerhalb des Versuchszeitraums auf. Da das Ziel in der Bestimmung einer Prüfkonzentration mit einer Infektionsrate von 20 bis 45 % lag, wurden diese hohe Keimkonzentration sowie die niedrige Keimkonzentration von 1×10^4 CFU/ml nicht über höhere Tierzahlen untersucht. Konzentrationen von 1×10^8 und 1×10^7 CFU/ml führten bei der Hälfte der Tiere zu einer Meningitis, während bei einer Keimdosis von 1×10^6 CFU/ml 5 von 8 Tieren erkrankten (63 %). Diese Art Plateau kann durch die biologische Variabilität der Versuchstiere erklärt werden, die bei der Auswertung der Ergebnisse eines Tiermodells generell berücksichtigt werden muss. Bei einer Konzentration von 1×10^5 CFU/ml entwickelten 3 von 10 Tieren (30 %) eine Meningitis (**Tab. 11**). Die geringste Keimkonzentration führte bei keinem der inkulierten Tiere zu einer Erkrankung. WEI et al. konnten ähnliche Schlussfolgerungen aus ihrem Modell zur Konzentrationsbestimmung bei der Ratte zie-

hen und nachweisen, dass niedrigere Bakterienkonzentrationen zu einer geringeren Infektionsraten im Versuchszeitraum führten (WEI et al. 2006b).

Anhand der Ergebnisse wurde eine Konzentration von 1×10^5 CFU/ml bei einem Inokulum von 10 µl als Prüfkonzentration gewählt. Diese Konzentration liegt in einem Bereich, der eine höhere Infektionsrate erfassen lässt. Niedrigere Infektionsraten können in begrenztem Umfang ebenfalls nachgewiesen werden. Zudem lag diese Konzentration unter dem beobachteten Plateau, wodurch auch mögliche Unterschiede innerhalb der Gruppen sichtbar werden.

4 VERGLEICHSSSTUDIE

Vergleich Dexamethason-freisetzender Implantate gegenüber Dexamethason-freien Implantaten

In der Vergleichsstudie erfolgte die Untersuchung Dexamethason-freier sowie Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate hinsichtlich des postoperativen Meningitis-Risikos nach Inokulation mit einem klinisch relevanten Stamm des Meningitis-Erregers *Streptococcus pneumoniae*. Aufgrund möglicher Nebenwirkungen des Dexamethasons wurde zunächst von einem erhöhten postoperativen Meningitis-Risiko von Dexamethason-freisetzenden Cochlea-Implantaten gegenüber Dexamethason-freien Implantaten ausgegangen. Insbesondere zwei Nebenwirkungen der Glucocorticoide können bei Dexamethason-freisetzenden Implantaten einen Einfluss auf das Meningitis-Risiko haben: 1. Hemmung der Zellproliferation: Das durch das Implantat abgegebene Dexamethason könnte die Einheilzeit und zumindest anfänglich die Ausbildung des Bindegewebssiegels an der Insertionsstelle beeinflussen. 2. Immunsuppression: Die Unterdrückung des Immunsystems könnte das postoperative Infektionsrisiko zum einen unmittelbar nach der Operation zum anderen aufgrund der kontinuierlichen Dexamethason-Abgabe durch das Implantat auch zu späteren Zeitpunkten nach der Implantation erhöhen.

Allgemeines Infektionsrisiko nach Cochlea-Implantation

Ein Faktor, der die Infektionsrate nach Cochlea-Implantation unabhängig von einer pharmakologischen Behandlung beeinflusst, ist die Einheilzeit. Trotz der zusätzlichen Abdeckung der Insertionsstelle nach Insertion des Elektrodenträgers kann zunächst nicht von einer vollständigen Dichtigkeit unmittelbar nach der Implantation ausgegangen werden. Verschiedene Tiermodelle (CLARK und SHEPHERD 1984, FRANZ et al. 1984) und Studien an postmortal untersuchten, humanen Felsenbeinen (NADOL und EDDINGTON 2004) zeigten sowohl nach Insertion des Elektrodenträgers über das Runde Fenster, als auch nach einer Cochleostomie die Bildung einer Bindegewebshülle um das Implantat im Rahmen des Einheilprozesses. Die-

se setzt sich sowohl in das Innere der Cochlea als auch ins Mittelohr fort. Insbesondere die Dichtigkeit, aber auch die Stärke dieser Bindegewebsschicht scheinen das Risiko otogen aufsteigender Infektionen zu beeinflussen (BLUESTONE 2003, CLARK 2003, DAHM et al. 1994, PURSER 1991). FRANZ et al. konnten in einer Studie an Katzen nach Rund-Fenster Insertion eines Implantats eine vollständige Dichtigkeit der Bindegewebshülle nach 2-wöchiger Einheilphase mit einer Meerrettich-Peroxidase-Farbreaktion feststellen (FRANZ et al. 1984). Auch in den Studien an humanen Felsenbeinen fand sich histologisch ein durchgehendes Bindegewebssiegel an der Insertionsstelle (NADOL und EDDINGTON 2004). Diese Resultate lassen die Bildung einer dichten Bindegewebsschicht um das Implantat nach einem Zeitraum von fünf Wochen annehmen. Die Ergebnisse tierexperimenteller Infektionsstudien lassen jedoch den Rückschluss zu, dass auch ein makroskopisch und mikroskopisch dichtes Bindegewebssiegel nicht in allen Fällen das Eindringen von Bakterien aus dem Mittelohr in das Innenohr verhindern kann (WEI et al. 2006b, 2006c, 2007). Zu einem anderen Schluss kamen BRENNAN et al., die in einer Studie an Katzen nach Induktion einer Otitis media die Dichtigkeit des Bindegewebssiegels für Staphylokokken sechs Wochen nach der Implantation nachwiesen (BRENNAN und CLARK 1985). Die Aussagekraft der letzten Studie muss allerdings kritisch beurteilt werden, da lediglich ein implantiertes Tier untersucht wurde. Diskutiert wird zudem der Nutzen der zusätzlichen Abdeckung der Insertionsstelle um den Elektrodenträger, die in der klinischen Praxis routinemäßig nach der Insertion erfolgt. Ein zusätzliches Umlegen des Implantats an der Insertionsstelle mit Bindegewebe oder Faszie scheint jedoch dazu beizutragen, aus dem Mittelohr aufsteigende Infektionen zu begrenzen (CLARK 2003, JACKLER et al. 1986). Um die bei der Cochlea-Implantation angewandten Techniken zu simulieren, wurde das Implantat in der vorliegenden Studie nach der Insertion ebenfalls mit einem Stück Faszie umlegt.

Infektionsrisiko durch Dexamethason-freisetzende Cochlea-Implantate

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit erfolgte die Untersuchung Dexamethason-freisetzender Implantate. In vorausgegangenen Studien konnte *in vitro* in einem Kapillarmodell eine kontinuierliche Abgabe von Dexamethason durch das Implantat in pharmakologisch wirksamen Dosen über einen Zeitraum von über 90 Tagen gezeigt werden. Die Abgabemenge *in vivo* lag zu Versuchsbeginn bei 4,7 µg/ml und sank innerhalb der ersten 24 h rasch ab (0,5 µg/ml) (KIEFER et al. 2008). Als mögliche Nebenwirkung wurde neben den immunsuppressiven Eigenschaften des abgegebenen Dexamethasons ein antiproliferativer Effekt diskutiert. In Untersuchungen zur Quantifizierung der Okklusion der perilymphatischen Räume durch Bindegewebe von Dexamethason-freisetzenden (2 % w/w Dexamethason) und Dexamethason-

freien Silikonstiften zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Implantation, konnte kein Unterschied hinsichtlich des Gewebewachstums werden (Braun et al., 2010). Möglicherweise war die Dosis des abgegebenen Dexamethasons jedoch zu gering, um einen solchen Effekt hervorzurufen. Untersuchungen zu höher dosierten Implantaten (10 % w/w Dexamethason) liegen bislang jedoch nicht vor.

Anhand der histologischen Untersuchung konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Bildung von Bindegewebe sowohl bei Dexamethason-freisetzenden, als auch bei Dexamethason-freien Implantaten beobachtet werden. Bei Tieren mit klinisch manifester Meningitis ließen die histologischen Befunde aufgrund der Infektion keine gesicherten Rückschlüsse auf das Ausmaß der Bindegewebsreaktion zu, da dieses aufgrund der vorherrschenden Entzündungsreaktion teilweise bereits nekrotisierte und es sich zudem nicht deutlich von dem entzündlichen Infiltrat und dem Exsudat abgrenzen ließ. Eine Beurteilung des Ausmaßes des Bindegewebswachstums erfolgte im Rahmen dieser Studie nicht. Die Ergebnisse der Vergleichsstudie lassen den Rückschluss zu, dass der Einheilprozess bei beiden Implantattypen so weit fortgeschritten ist, dass ein erhöhtes Meningitis-Risiko durch Dexamethason-freisetzende Cochlea-Implantate nicht zu erwarten ist. Ferner scheint eine möglicherweise vorliegende Immunsuppression zu diesem Zeitpunkt keinen Einfluss auf die postoperative Infektionsrate zu haben. Das über das Implantat abgegebene Dexamethason erreicht zwar ausreichend hohe Wirkspiegel in der Cochlea, um eine otoprotektive Wirkung zu vermitteln (KIEFER et al. 2008), mit 4-5 µm/ml ist die Abgabemenge von Dexamethason durch das Implantat jedoch sehr gering. Die Dosis mag zu anderen Zeitpunkten der postoperativen Phase jedoch ausreichend sein, um eine Effekt zu zeigen. So kann sich ein möglicher Dexamethason-Effekt in der frühen Einheilphase ausprägen, über die weitere Einheilphase aber wieder ausgeglichen werden. Die höhere Abgabemenge durch das Implantat zu Beginn und das anschließende rasche Absinken könnte diesen Vorgang beeinflussen. Ebenso wenig sind die Folgen einer langfristigen, kontinuierlichen Abgabe von Dexamethason bekannt. Im Rahmen dieser Studie wurde jedoch lediglich ein Zeitpunkt nach der Inokulation untersucht, um zwischen den Gruppen zunächst nur einen Parameter (Implantattyp) zu variieren.

Einfluss eines Cochlea-Implantats auf das Infektionsrisiko

Nach einer Einheilzeit von fünf Wochen konnte in dieser Studie weder bei Dexamethason-freisetzenden noch bei Dexamethason-freien Implantaten ein erhöhtes Infektionsrisiko gegenüber Tieren ohne Implantat festgestellt werden. In Patientenstudien wird ein erhöhtes Meningitis-Risiko von Cochlea-Implantat-Empfängern gegenüber der Normalbevölkerung diskutiert

(BIERNATH et al. 2006, REEFHUIS et al. 2003). Die Frage, ob ein Cochlea-Implantat allein das Risiko einer Meningitis erhöht, konnte bisher jedoch noch nicht hinreichend beantwortet werden. Ein Grund hierfür mag sein, dass es über bisherigen Patientenstudien lediglich gelang, die Inzidenz der Meningitis unter Cochlea-Implantat-Empfängern und in der Normalbevölkerung zu erfassen. Die wahre Inzidenz der Meningitis unter Hörbehinderten scheint jedoch nicht bekannt. Geeigneter für die Einschätzung des Meningitis-Risikos wäre ein Vergleich gegenüber Hörbehinderten ohne Cochlea-Implantat, da so der Einfluss individueller Risikofaktoren dieses Patientenkollektivs auf die Meningitisrate unabhängig von einem Cochlea-Implantat beurteilt werden könnte. Im Rahmen verschiedener Studien zur Pathogenese der Meningitis konnten einige solcher Risikofaktoren identifiziert werden, die unabhängig von einem Cochlea-Implantat das Auftreten einer Meningitis begünstigen. Dazu zählen zunächst Malformationen des Innen- oder Mittelohrs, insbesondere mit offenem Zugang zum Liquorraum (TEBRUEGGE und CURTIS 2008). Diese prädisponierenden Faktoren konnten auch bei Cochlea-Implantat-Empfängern mit Meningitis identifiziert werden (REEFHUIS et al. 2003). Bei einigen Cochlea-Implantat-Empfängern wurden Meningitiden und Otitis media in der Vorgeschichte beschrieben (REEFHUIS et al. 2003). Infektionskrankheiten wie diese stellen häufig die Ursache für einen Hörverlust oder Taubheit (YEOH 1997) dieser Patienten dar. Wie klinische Studien zeigen, müssen generell Rezidive in Betracht gezogen werden (DURAND et al. 1993), auch nach Cochlea-Implantationen. Als weitere Risikofaktoren konnten Frakturen im Bereich der Schädelbasis, ventrikulo-peritoneale Shunts (Cerebralshunts), und Immunsuppression bei Cochlea-Implantat-Empfängern mit Meningitiden identifiziert werden (BIERNATH et al. 2006, REEFHUIS et al. 2003, RUBIN 2010). Zudem wird ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten einiger Meningitisfälle und einem speziellen zweiteiligen Implantattyp mit so genanntem „Positioner“ eines Herstellers diskutiert (REEFHUIS et al. 2003, SUMMERFIELD et al. 2005). Der Positioner wird über die Cochleostomie zu dem Elektrodenträger in die Cochlea eingeführt, um das Implantat an einer Position nahe des Modiolus zu positionieren. ARNOLD et al. beschreiben zum einen die Bildung nekrotischen Gewebes an Strukturen des Modiolus durch den Druck des Implantats, zum anderen einen offenen Spalt im Bindegewebe zwischen Implantat und Positioner als zusätzliche Risikofaktoren dieses Implantattyps für aufsteigende Infektionen (ARNOLD et al. 2002).

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden gesunde Versuchstiere verwendet, die zu Versuchsbeginn keine prädisponierenden Faktoren für eine Meningitis aufwiesen. Dadurch gelang es, den Einfluss eines Cochlea-Implantats auf die Meningitisrate unabhängig von anderen Risikofaktoren zu beurteilen. Tiere mit Implantat zeigten keine erhöhte Meningitisrate als

Tiere ohne Implantat. Bei der Interpretation dieser Befunde muss berücksichtigt werden, dass Bakterien in der Lage sind eine intakte Rund-Fenster-Membran zu passieren und eine Labyrinthitis auszulösen. In verschiedenen Tiermodellen konnte die Passage von *Streptococcus pneumoniae* über eine intakte Rund-Fenster-Membran ins Innenohr nachgewiesen werden (SCHACHERN et al. 1992, WEI et al. 2006c). Die Verstärkung der Rund-Fenster-Membran mit einem Gelatineschwämmchen reduzierte dabei die Inzidenz der beobachteten Labyrinthiden bzw. Meningitiden. Auch im Rahmen der vorliegenden Studie zeigten Untersuchungen der Rund-Fenster-Membran implantierter und nicht-implantierter Tiere eine Penetration derselben durch Bakterien und Entzündungszellen. Unabhängig von einem Cochlea-Implantat kann eine Infektion also über die Rund-Fenster-Membran ins Innenohr aufsteigen. Zudem kann eine hämatogene Erregerausbreitung nach intratympanaler Infektion auch bei Tieren ohne Implantat nicht vollkommen ausgeschlossen werden. Es kann ferner davon ausgegangen werden, dass sowohl bei Dexamethason-freien, als auch bei Dexamethason-freisetzenden Cochlea-Implantaten der Einheilprozess fünf Wochen postoperativ so weit fortgeschritten ist, dass aufsteigende Infektionen effektiv verhindert werden können und somit kein erhöhtes Infektionsrisiko gegenüber Tieren ohne Implantat besteht.

WEI et al. fanden in einer Studie von 2007 andere Ergebnisse (WEI et al. 2007). Sie zeigten, dass das Vorhandensein eines Cochlea-Implantats die zur Auslösung einer Meningitis notwendige Infektionsdosis erniedrigt. Nach einer vierwöchigen Einheilphase konnte bei allen der insgesamt 18 implantierten Tiere unabhängig vom Infektionsweg das Auftreten einer Meningitis beobachtet werden. In einer Gruppe von Tieren, die zuvor lediglich einer Cochleostomie unterzogen worden waren, führten identische subinfektiöse Keimdosen nicht zum Auftreten einer Meningitis. Anhand der geringeren Infektionsdosis für alle untersuchten Infektionswege wurde von den Autoren angenommen, dass ein Cochlea-Implantat per se das Risiko einer Meningitis begünstigen kann. Der genaue Mechanismus scheint dabei jedoch nicht bekannt zu sein. Möglich wäre, dass das Vorhandensein eines Fremdkörpers die lokale Immunantwort im Innenohr beeinflusst. ZIMMERLI et al. wiesen nach, dass die apoptotische Aktivität von Leukozyten nach der Implantation eines Polyethylenschlauchs im subkutanen Gewebe von Tieren anstieg und ihre Fähigkeit zur Phagozytose von Bakterien abnahm. So führten nach künstlicher Infektion von Tieren mit Implantat niedrigere Erregerkonzentrationen zur Auslösung einer Infektion im betreffenden Gebiet (ZIMMERLI et al. 1982). Als weitere Infektionsquelle muss das Implantat bei bakterieller Kontamination vor bzw. während der Implantation in Betracht gezogen werden. Hinweise auf eine bakterielle Kontamination konnten anhand der histologischen Untersuchungen im Rahmen der vorliegenden Studie jedoch nicht

gefunden werden. Für Streptokokken konnte zudem in verschiedenen Studien die Bildung eines bakteriellen Biofilms nachgewiesen werden (ALLEGRUCCI et al. 2006, MOSCOSO et al. 2009). Biofilmbildung scheint jedoch eher eine Rolle bei chronischen und persistierenden Infektionen der Cochlea zu spielen, während es sich bei postoperativen Meningitiden um ein akutes Infektionsgeschehen handelt (ANTONELLI et al. 2004).

Neben immunologischen Aspekten müssen die physikalischen Gegebenheiten an der Insertionsstelle betrachtet werden. So kann das Vorhandensein eines Fremdkörpers die Bildung eines durchgehenden Bindegewebssiegels um das Implantat beeinträchtigen. Eigenbewegungen des Implantats könnten weiterhin zu einem Reißen des Bindegewebes führen (ARNOLD et al. 2002). Hinweise auf ein solches Geschehen konnten im Rahmen dieser und auch anderer Studien jedoch nicht beobachtet werden. In der vorliegenden Studie wurde ein Silikonstift implantiert, der jedoch keine Stimulationselektroden enthielt. Dies könnte die Oberflächeneigenschaften gegenüber einem Cochlea-Implantat mit Stimulationselektroden wie es beim Menschen eingesetzt wird, verändern.

Grenzen und Möglichkeiten des Tiermodells

In der Literatur werden verschiedene Tiermodelle zur Untersuchung der Pathogenese und Pathophysiologie der bakteriellen Meningitis sowie deren Therapie beschrieben. Das hier verwendete Tiermodell wurde entwickelt, um speziell das postoperative Meningitis-Risiko nach Cochlea-Implantation zu beurteilen. Weitere Tiermodelle für diese Fragestellung konnten in den letzten Jahren an der Ratte etabliert werden (WEI et al. 2006c, 2007). In einem Modell zur Konzentrationsbestimmung untersuchten WEI et al. zunächst den Einfluss einer Cochleostomie auf das postoperative Meningitis-Risiko nach vierwöchiger Einheilzeit (WEI et al. 2006c). Dabei wurden die Tiere über drei Infektionswege verschiedenen Erregerkonzentrationen exponiert. Dieser Versuchsaufbau führte zu einer Reduktion der Tierzahlen in den einzelnen Gruppen, sodass eine Versuchsgruppe letztendlich 3 Tiere umfasste. Die Ergebnisse dieser Studie müssen also hinsichtlich ihrer Aussagekraft mit dem Kontext der biologischen Variabilität unter den Versuchstieren diskutiert werden. Im Vergleich dazu führte in der vorliegenden Studie eine Beschränkung der zu untersuchenden Zielgrößen zu einer deutlichen Erhöhung der Tierzahlen in den Versuchsgruppen, was die Aussagekraft der Studie erhöhte. So sind zwar nur Aussagen über den hier gewählten Infektionsweg über das Mittelohr möglich, diese sind aber dafür außerordentlich belastbar. Ein weiterer Vorteil der vorliegenden Studie liegt im Versuchsaufbau. Dieser wurde für die Vorversuche zur Konzentrationsbestimmung entwickelt und für die Vergleichsstudie ohne Änderungen beibehalten. In der Ver-

gleichsstudie wurde lediglich der Implantattyp variiert. Dadurch konnte der Einfluss der einzelnen Implantattypen auf die Infektionsrate unabhängig von anderen Einflussgrößen beurteilt werden. Anhand der Ergebnisse der Vergleichsstudie für Dexamethason-freie Implantate konnten weiterhin die Ergebnisse aus den Vorversuchen bestätigt werden. Aufgrund der Beschränkung auf einen Infektionsweg konnte gegenüber der von WEI et al. im Jahr 2007 an Ratten durchgeführten Vergleichsstudie wiederum insgesamt höhere Tierzahlen in den zu vergleichenden Gruppen erreicht werden (WEI et al. 2007). Dies erhöht letztendlich die statistische Aussagekraft der Ergebnisse der vorliegenden Studie.

Im Rahmen der vorliegenden Orientierungsstudie konnte kein erhöhtes postoperatives Meningitis-Risiko für Dexamethason-freisetzende Cochlea-Implantate nachgewiesen werden. Vor der erfolgsversprechenden Anwendung am Menschen sollten die Ergebnisse durch eine Kontrollstudie mit größeren Fallzahlen bestätigt werden, um auch ein eventuell gering erhöhtes Infektionsrisiko ausschließen zu können. Es soll weiterhin nicht ausgeschlossen werden, dass über die Untersuchung anderer Parameter ein erhöhtes Meningitis-Risiko für Dexamethason-freisetzende Implantate gezeigt werden könnte. Durch die Beschränkung auf einen Infektionsweg konnten im Rahmen dieser Studie hohe, aussagekräftige Tierzahlen pro Gruppe erreicht werden, zugleich eröffnete dieser Versuchsaufbau neue Fragestellungen, die in weiteren Studien untersucht werden könnten.

5 AUSBLICK

Das hier etablierte Tiermodell bietet eine solide Grundlage für die Untersuchung der Pathogenese und Pathophysiologie der Pneumokokken-Meningitis nach Cochlea-Implantation. Es ermöglicht außerdem, die Pathogenese der bakteriellen Meningitis bei Cochlea-Implantat-Empfängern besser zu verstehen und bietet somit eine Grundlage für die Entwicklung neuer Konzepte zur Prävention postoperativer Infektionen für diese spezielle Gruppe von Patienten.

Ein Cochlea-Implantat wird als Risikofaktor für otogen aufsteigende Infektionen diskutiert. Aus diesem Grund erfolgte in dieser Studie eine Beurteilung des postoperativen Infektionsrisikos nach intratympanaler Infektion. Im Rahmen weiterer Studien kann das bestehende Modell über eine Untersuchung des hämatogenen Infektionswegs erweitert und der Einfluss eines Cochlea-Implantats beurteilt werden. Anhand der Ergebnisse der Vergleichsstudie kann davon ausgegangen werden, dass sowohl bei Dexamethason-freisetzenden als auch bei Dexamethason-freien Implantaten die Einheilung so weit fortgeschritten ist, dass zum Zeitpunkt der Inokulation von *Streptococcus pneumoniae* kein erhöhtes Infektionsrisiko nachgewiesen werden konnte. Durch eine Variation des Infektionszeitpunktes nach der Implantation kann in weiteren Untersuchungen eine Beurteilung der frühen Einheilphase als Risikofaktor für otogen aufsteigende Infektionen sowohl nach Implantation Dexamethason-freier als auch Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate erfolgen. Eine Verlängerung des Zeitraums zwischen Implantation und Inokulation erlaubt die Evaluierung möglicher Langzeiteffekte Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate. Histologische Untersuchungen zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Implantation bieten die Möglichkeit den Prozess der Einheilung unter dem Einfluss Dexamethason-freisetzender Implantate nach der Implantation systematischer zu untersuchen und Aussagen über die Bildung von Bindegewebe und dessen Qualität zu treffen. Das Tiermodell der Pneumokokken-Meningitis kann weiterhin genutzt werden, um andere, neu entwickelte Implantattypen in einer präklinischen Phase im Hinblick auf ihr Infektionsrisiko zu untersuchen.

VI ZUSAMMENFASSUNG

Katharina Niedermeier

Etablierung eines Meningitis-Modells für das Meerschweinchen und Untersuchung Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate

Eingereicht im April 2011

97 Seiten, 28 Abbildungen, 27 Tabellen, 133 Literaturangaben, Anhang (10 Tabellen)

Schlüsselwörter: Cochlea-Implantat, Cochlea Implantat, Pneumokokken-Meningitis, *Streptococcus pneumoniae*, Tiermodell

Die postoperative Meningitis stellt auch heute noch eine gefürchtete Komplikation nach Cochlea-Implantation dar. Trotz der Bemühungen von Herstellern und Gesundheitseinrichtungen, das postoperative Infektionsrisiko zu minimieren, treten jedes Jahr Fälle von Meningitiden auf (COHEN und HIRSCH 2010). Die Frage, ob ein Cochlea-Implantat als prädisponierender Faktor das Risiko einer Meningitis erhöht, konnte bisher noch nicht hinreichend beantwortet werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Meningitis-Modells für das Meerschweinchen nach Cochlea-Implantation etabliert. Das Meerschweinchen wurde als Versuchstier gewählt, da diese Tierart bereits für *in vivo*-Studien zur Wirksamkeit Dexamethason-freisetzender Implantate hinsichtlich des Hörerhalts nach Implantation bei vorhandenem Restgehör (KIEFER et al. 2008) verwendet wurde. Ziel der vorliegenden Studie war die Beurteilung nicht medikamentenfreisetzender sowie Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate im Hinblick auf ihr Risikoprofil, in diesem Fall das postoperative Meningitis-Risiko. In einer ersten Versuchsreihe erfolgte eine intratympanale Infektion zuvor mit Dexamethason-freien Implantaten implantierter Tiere mit unterschiedlichen Bakterienkonzentrationen des Meningitis-Erregers *Streptococcus pneumoniae* (**Versuch I**). Anhand der Infektionsrate wurde eine bakterielle Prüfkonzentration bestimmt, die in einer anschließenden Vergleichsstudie (**Versuch II**) zur Beurteilung des postoperativen Meningitis-Risikos nach Implantation verschiedener Implantattypen (mit und ohne Dexamethason) verwendet wurde. Ob ein Implantat als prädisponierender Faktor das Risiko einer postoperativen Meningitis erhöht, wurde über eine Inokulation nicht-implantierter Tiere untersucht.

Die Diagnose einer Meningitis wurde über die Erfassung klinischer Symptome mittels eines Punktesystems und die Untersuchung der Liquorproben hinsichtlich einer erhöhten Leukozytenzahl sowie über den Erreger nachweis gestellt. *Streptococcus pneumoniae* als Ursache der Meningitis konnte weiterhin über Blutkulturen und Ausstriche von Mittelohrabstrichen nachgewiesen werden. Anhand einer stichprobenartigen Serotypisierung konnte der inkulzierte Erregerstamm als Ursache der Erkrankung und der pathologischen Veränderungen bestätigt werden. Die histologische Untersuchung des Gehirns diente der Bestätigung der klinischen Befunde und sicherte die Diagnose der Meningitis. Über die Histologie wurde zudem die Beteiligung der Cochlea am Infektionsgeschehen erfasst.

In der ersten Versuchsreihe (**Versuch I**) gelang die Bestimmung einer bakteriellen Prüfkonzentration, bei der im Meerschweinchenmodell 30 % der implantierten Tiere eine Meningitis entwickelten. Diese Konzentration erlaubte die Untersuchung Dexamethason-freisetzender Cochlea-Implantate, deren Risikoprofil hinsichtlich des Auftretens postoperativer Meningitiden aufgrund der immunsuppressiven und proliferationshemmenden Wirkung des Dexamethasons zunächst als höher gegenüber Dexamethason-freien Implantaten eingestuft wurde. In der Vergleichsstudie (**Versuch II**) konnte nach intratympanaler Inokulation der mit unterschiedlichen Implantattypen implantierten Tiere kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der postoperativen Meningitisrate festgestellt werden. Der Vergleich dieser beiden Gruppen gegenüber einer Tiergruppe, der vor der Erregerexposition kein Implantat eingesetzt worden war, zeigte ebenfalls keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich des Auftretens einer Meningitis. Es konnte somit kein erhöhtes Meningitis-Risiko sowohl Dexamethason-freisetzender Implantate als auch Dexamethason-freier Implantate gegenüber Tieren ohne Implantat nach intratympanaler Inokulation von *Streptococcus pneumoniae* beobachtet werden.

Im Rahmen der vorliegenden Studie konnte kein erhöhtes postoperatives Infektionsrisiko für Dexamethason-freisetzende Cochlea-Implantate nachgewiesen werden. Dexamethason-freisetzende Cochlea-Implantate bieten die Möglichkeit der gezielten Medikamentenapplikation ins Innenohr unter Vermeidung systemischer Nebenwirkung. Aufgrund ihrer bereits in Tiermodellen nachgewiesenen Wirksamkeit stellen sie einen vielversprechenden Ansatz zur Prävention des postoperativen Hörverlusts nach Versorgung mittels elektrisch-akustischer Stimulation dar.

VII SUMMARY

Katharina Niedermeier

Establishment of an animal meningitis model in the guinea pig and evaluation of dexamethasone-releasing cochlear implants

Submitted in April 2011

97 pages, 28 figures, 27 tables, 133 references, appendix (10 tables)

Key words: Cochlear Implant, pneumococcal meningitis, *Streptococcus pneumoniae*, animal model

Meningitis following cochlear implantation continues to be a concern. Despite the efforts of health organizations and manufacturers to prevent post-operative infections new cases of meningitis occur each year (COHEN und HIRSCH 2010). The question whether a cochlear implant *per se* increases the risk of meningitis remains to be elucidated.

In a first set of experiments a guinea pig meningitis model for middle ear inoculation of *Streptococcus pneumoniae* after implantation of a silicone rod without dexamethasone was established. For this purpose bacterial concentrations between 1×10^9 CFU/ml and 1×10^4 CFU/ml were evaluated to determine a threshold level at which 20 to 45 % of the animals develop meningitis. In a second set of experiments rods with and without dexamethasone were compared with respect to meningitis risk following infection of animals with the previously determined germ concentration. This was based on the assumption that due to their anti-proliferative and immunosuppressive properties glucocorticoids may enhance the risk for infections by delaying recovering of the implantation side and weakening the immune defense post surgery. To investigate whether an implant itself increases the risk of pneumococcal meningitis, a third set of experiments including implanted and non-implanted animals was performed under the same conditions. Guinea pigs were chosen for the establishment of this animal model because they have been proven to be appropriate in previous studies regarding the efficacy of dexamethasone-eluting implants for preservation of residual hearing and release properties of said implants.

Meningitis was confirmed by clinical outcome in animals as well as pleocytosis and presence of bacteria in CSF. Samples from blood and from the middle ear were collected for culture in order to detect the presence of bacteria. Serotyping of *Streptococcus pneumoniae* isolated

from cultures was performed randomly to ensure that the strain causing the pathology matched the inoculated strain. By histological examination of brain clinical findings and results of cultures were confirmed. Histological examinations of implanted cochleae revealed the involvement of the cochlea in pathogenesis of meningitis.

In the first set of experiments a threshold level was determined at which 30 % of the animals develop meningitis. The low infection rate allows the detection of a possible higher meningitis risk in dexamethasone-loaded silicone rods, which are considered to lead to an increased risk of meningitis because of the anti-inflammatory and anti-proliferative effects of dexamethasone compared to unloaded rods. The results of the comparison study do not demonstrate a significant difference between the groups and thus no enhanced meningitis risk for dexamethasone-loaded silicone rods compared to unloaded rods. The infection of unimplanted animals revealed no enhanced risk for animals with cochlear implant.

VIII LITERATURVERZEICHNIS

Aktories, K

Repetitorium allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie
Elsevier Urban & Fischer, München, 2. überarb. Aufl., 2009

Allegrucci, M; Hu, F Z; Shen, K; Hayes, J; Ehrlich, G D; Post, J C; Sauer, K
Phenotypic characterization of *Streptococcus pneumoniae* biofilm development
J Bacteriol, 2006, 188(7), 2325–2335

Antonelli, P J; Lee, J C; Burne, R A

Bacterial biofilms may contribute to persistent cochlear implant infection
Otol Neurotol, 2004, 25(6), 953–957

Arnold, W; Bredberg, G; Gstöttner, W; Helms, J; Hildmann, H; Kiratzidis, T; Müller, J; Ramsden, R T; Roland, P; Walterspiel, J N

Meningitis following cochlear implantation: pathomechanisms, clinical symptoms, conservative and surgical treatments

ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec, 2002, 64(6), 382–389

Arnold, W; Senn, P; Hennig, M; Michaelis, C; Deingruber, K; Scheler, R; Steinhoff, H-J; Riphagen, F; Lamm, K

Novel slow- and fast-type drug release round-window microimplants for local drug application to the cochlea: an experimental study in guinea pigs

Audiol Neurotol, 2005, 10(1), 53–63

Auphan, N; DiDonato, J A; Rosette, C; Helmburg, A; Karin, M

Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF- κ B activity through induction of I κ B synthesis

Science, 1995, 270(5234), 286–290

Bachmann, G; Su, J; Zumegen, C; Wittekindt, C; Michel, O

Permeability of the round window membrane for prednisolone-21-hydrogen succinate. Prednisolone content of the perilymph after local administration vs. systemic injection
HNO, 2001, 49(7), 538–542

Bachor, E; Byahatti, S; Karmody, C S

New aspects in the histopathology of the cochlear aqueduct in children
Am J Otol, 1999, 20(5), 612–620

Barnes, P J

Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms
Clin Sci, 1998, 94(6), 557–572

Barnes, P J

Corticosteroid effects on cell signalling
Eur Respir J, 2006, 27(2), 413–426

Békésy, G von

Experiments in Hearing

McGraw-Hill Book Company, Inc., New York/Toronto/London, 1960

Bentley, S D; Aanensen, D M; Mavroidi, A; Saunders, D; Rabinowitsch, E; Collins, M; Donohoe, K; Harris, D; Murphy, L; Quail, M A; Samuel, G; Skovsted, I C; Kaltoft, M S; Barrell, B; Reeves, P R; Parkhill, J; Spratt, B G

Genetic analysis of the capsular biosynthetic locus from all 90 pneumococcal serotypes
PLoS Genet, 2006, 2(3), e31

Bergmann, K; Haupt, H; Scheibe, F; Rogge, I

Der Verschluß des Aqueductus cochleae für Perilymphuntersuchungen am Meerschweinchen

Eur Arch Otorhinolaryngol, 1979, 224(3), 257–265

Berry, A M; Lock, R A; Hansman, D; Paton, J C

Contribution of autolysin to virulence of *Streptococcus pneumoniae*

Infect Immun, 1989, 57(8), 2324–2330

Biernath, K R; Reefhuis, J; Whitney, C G; Mann, E A; Costa, P; Eichwald, J; Boyle, C

Bacterial Meningitis Among Children With Cochlear Implants Beyond 24 Months After Implantation

Pediatrics, 2006(117), 284–289

Bird, P A; Begg, E J; Zhang, M; Keast, A T; Murray, D P; Balkany, T J

Intratympanic versus intravenous delivery of methylprednisolone to cochlear perilymph
Otol Neurotol, 2007, 28(8), 1124–1130

Bluestone, C D

Prevention of meningitis: cochlear implants and inner ear abnormalities

Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2003, 129(3), 279–281

Boenninghaus, H-G; Lenarz, T

Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 13. Auflage, 2007

Bowers, E F; Jeffries, L R

Optochin in the identification of str. pneumoniae

J Clin Pathol, 1955, 8(1), 58–60

Brandt, C T

Experimental studies of pneumococcal meningitis

Dan Med Bull, 2010, 57(1), B4119

Braun, S, Liu, Y, Tillein, J, Gstoettner W, Lohner, A, Kiefer, J, Astolfi, L, Martini, A

Intra-cochlear application of dexamethasone does not influence fibrosis after cochlear implantation in guinea pigs

11th International Conference on Cochlear Implants and Other Auditory Implantable Technologies, Stockholm, 30.06.-03.07.2010, P575

Brennan, W J; Clark, G M

An animal model of acute otitis media and the histopathological assessment of a cochlear implant in the cat

J Laryngol Otol, 1985, 99(9), 851–856

Canalis, E

Effect of glucocorticoids on type I collagen synthesis, alkaline phosphatase activity, and deoxyribonucleic acid content in cultured rat calvariae

Endocrinology, 1983, 112(3), 931–939

Canlon, B; Meltser, I; Johansson, P; Tahera, Y

Glucocorticoid receptors modulate auditory sensitivity to acoustic trauma

Hear Res, 2007, 226(1-2), 61–69

Clark, G M; Shepherd, R K

Cochlear Implant Round Window Sealing Procedures in the Cat: An Investigation of Autograft and Heterograft Materials

Acta Otolaryngol, 1984, 98(s410), 5–15

Clark, G M

Cochlear Implants: Fundamentals and Applications

Springer Verlag, New York, 2003

Cohen, N L; Hirsch, B E

Current Status of Bacterial Meningitis After Cochlear Implantation

Otol Neurotol, 2010

Cooper, G

Anatomy of the Guinea Pig

Harvard University Press, 1975

Dahm, M C; Clark, G M; Franz, B K-H; Shepherd, R K; Burton, M J; Robins-browne, R

Cochlear Implantation in Children: Labyrinthitis following Pneumococcal Otitis Media in Unimplanted and Implanted Cat Cochleas

Acta Otolaryngol, 1994, 114(4), 620–625

Dallos, P

The active cochlea

J Neurosci, 1992, 12(12), 4575–4585

Di Rosa, M; Radomski, M; Carnuccio, R; Moncada, S

Glucocorticoids inhibit the induction of nitric oxide synthase in macrophages

Biochem Biophys Res Commun, 1990, 172(3), 1246–1252

Dietrich, J W; Canalis, E M; Maina, D M; Raisz, L G

Effects of glucocorticoids on fetal rat bone collagen synthesis in vitro

Endocrinology, 1979, 104(3), 715–721

Durand, M L; Calderwood, S B; Weber, D J; Miller, S I; Southwick, F S; Caviness, V S;

Swartz, M N

Acute bacterial meningitis in adults. A review of 493 episodes

N Engl J Med, 1993, 328(1), 21–28

Eshraghi, A A; Adil, E; He, J; Graves, R; Balkany, T J; van de Water, T R
Local dexamethasone therapy conserves hearing in an animal model of electrode insertion trauma-induced hearing loss
Otol Neurotol, 2007, 28(6), 842–849

Eshraghi, A A; van de Water, T R
Cochlear implantation trauma and noise-induced hearing loss: Apoptosis and therapeutic strategies
Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol, 2006, 288(4), 473–481

Farahmand Ghavi, F; Mirzadeh, H; Imani, M; Jolly, C; Farhadi, M
Corticosteroid-releasing cochlear implant: a novel hybrid of biomaterial and drug delivery system
J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater, 2010, 94(2), 388–398

Feldman, W E
Concentrations of bacteria in cerebrospinal fluid of patients with bacterial meningitis
J Pediatr, 1976, 88(4 Pt 1), 549–552

Felix, H
Anatomical differences in the peripheral auditory system of mammals and man. A mini review
Adv Otorhinolaryngol, 2002, 591–10

Force, E; Taberner, F; Cabellos, C; Ribes, S; Domenech, A; Tubau, F; Viladrich, P F; Gu diol, F
Experimental study of meropenem in the therapy of cephalosporin-susceptible and -resistant pneumococcal meningitis
Eur J Clin Microbiol, 2008, 27(8), 685–690

Forth, W; Henschler, D; Rummel, W; Förstermann U, S K
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie
Urban & Fischer, München, 8., völlig überarb. Aufl., [Nachdr.], 2002

Franz, B; Clark, G M; Bloom, D M
Permeability of the Implanted Round Window Membrane in the Cat: An Investigation Using Horseradish Peroxidase
Acta Otolaryngol, 1984, 98(s410), 17–23

Garnham, C; Reetz, G; Jolly, C; Miller, J; Salt, A; Beal, F
Drug delivery to the cochlea after implantation: consideration of the risk factors
Cochlear Implants Int, 2005, 6 Suppl 112–14

Gärtner, R; Haen, E
Endokrinpharmakologie: Pharmakotherapie mit Hormonen
In: Forth, W.; Henschler, D.; Rummel, W.; Förstermann U, S. K.: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 8., völlig überarb. Aufl., [Nachdr.], Urban & Fischer, München, 2002, 671–737

Gopen, Q; Rosowski, J J; Merchant, S N
Anatomy of the normal human cochlear aqueduct with functional implications
Hear Res, 1997, 107(1-2), 9–22

- Gosink, K K; Mann, E R; Guglielmo, C; Tuomanen, E I; Masure, H R*
Role of novel choline binding proteins in virulence of *Streptococcus pneumoniae*
Infect Immun, 2000, 68(10), 5690–5695
- Gstoettner, W K; van de Heyning, P; O'Connor, A F; Morera, C; Sainz, M; Vermeire, K; McDonald, S; Cavallé, L; Helbig, S; Valdecasas, J G; Anderson, I; Adunka, O F*
Electric acoustic stimulation of the auditory system: results of a multi-centre investigation
Acta Otolaryngol, 2008, 128(9), 968–975
- Hahn, H; Klein, P; Vogt, K; Hahn-Falke-Kaufmann-Ullmann*
Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie
Springer Verlag, Heidelberg, 5., vollst. aktualisierte Aufl., 2005
- Hees, H; Sinowitz, F*
Histologie
Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, 2., völlig neu bearbeitete Auflage, 1992
- Heffner, R; Heffner, H; Masterton, B*
Behavioral measurements of absolute and frequency-difference thresholds in guinea pig
J Acoust Soc Am, 1971, 49(6), 1888–1895
- Himeno, C; Komeda, M; Izumikawa, M; Takemura, K; Yagi, M; Weiping, Y; Doi, T; Kuriyama, H; Miller, J M; Yamashita, T*
Intra-cochlear administration of dexamethasone attenuates aminoglycoside ototoxicity in the guinea pig
Hear Res, 2002, 167(1-2), 61–70
- Hochmair, I; Nopp, P; Jolly, C; Schmidt, M; Schösser, H; Garnham, C; Anderson, I*
MED-EL Cochlear implants: state of the art and a glimpse into the future
Trends Amplif, 2006, 10(4), 201–219
- Hochmair-Desoyer, I; Hochmair, E; Burian, K*
Implantierbares Acht-Kanal-Stimulationssystem für Innerohrtaubte
Biomedizinische Technik / Biomedical Engineering, 1978, 23(s1),
- Hoffman, O; Weber, R J*
Pathophysiology and treatment of bacterial meningitis
Ther Adv Neurol Disord, 2009, 2(6), 1–7
- Ilberg, C von; Kiefer, J; Tillein, J; Pfenningdorff, T; Hartmann, R; Stürzebecher, E; Klinke, R*
Electric-acoustic stimulation of the auditory system. New technology for severe hearing loss
ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec, 1999, 61(6), 334–340
- Jackler, R K; O'Donoghue, G M; Schindler, R A*
Cochlear implantation: strategies to protect the implanted cochlea from middle ear infection
Ann Otol Rhinol Laryngol, 1986, 95(1 Pt 1), 66–70
- James, D P; Eastwood, H; Richardson, R T; O'Leary, S J*
Effects of round window dexamethasone on residual hearing in a Guinea pig model of cochlear implantation
Audiol Neurotol, 2008a, 13(2), 86–96

- James, D P; Eastwood, H; Richardson, R T; O'Leary, S J*
Effects of round window dexamethasone on residual hearing in a Guinea pig model of cochlear implantation
Audiol Neurotol, 2008b, 13(2), 86–96
- Jolly, C; Garnham, C; Mirzadeh, H; Truy, E; Martini, A; Kiefer, J; Braun, S*
Electrode features for hearing preservation and drug delivery strategies
Adv Otorhinolaryngol, 2010, 6728–42
- Juhn, S K*
Barrier systems in the inner ear
Acta Otolaryngol Suppl, 1988, 45879–83
- Kiefer, J; Gstötzner, W; Baumgartner, W; Pok, S M; Tillein, J; Ye, Q; Ilberg, C von*
Conservation of low-frequency hearing in cochlear implantation
Acta Otolaryngol, 2004, 124(3), 272–280
- Kiefer J, Liu Y, Fauser C, Jolly C, Schneider H, Steinhof J, Ebenhoch H, Müller J, Lohner A, Hauber K, Arnold W*
Elution of dexamethasone from a cochlear implant: Release profiles and efficacy evaluation
45th Inner Ear Biol Workshop, Ferrara, September 2008
- Kim, H H; Addison, J; Suh, E; Trune, D R; Richter, C-P*
Otoprotective effects of dexamethasone in the management of pneumococcal meningitis: an animal study
Laryngoscope, 2007, 117(7), 1209–1215
- Klinke, R; Silbernagl, S*
Lehrbuch der Physiologie
Thieme Verlag, Stuttgart, 4. korrigierte Auflage, 2003
- Klinke, R; Silbernagl, S; Pape, H; Bauer, C*
Physiologie
Thieme Verlag, Stuttgart, 5., komplett überarb. Aufl., 2005
- Koedel, U; Scheld, W M; Pfister, H-W*
Pathogenesis and pathophysiology of pneumococcal meningitis
Lancet Infect Dis, 2002, 2(12), 721–736
- Kraft, W; Dürr, U M*
Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin
Schattauer Verlag, Stuttgart, 6., komplett aktualisierte und erw. Aufl., 2005
- Laszig, R; Aschendorff, A; Schipper, J; Klenzner, T*
Current developments in cochlear implantation
HNO, 2004, 52(4), 357–362
- Lefebvre, P P; Malgrange, B; Lallemend, F; Staeker, H; Moonen, G; van de Water, T R*
Mechanisms of cell death in the injured auditory system: otoprotective strategies
Audiol Neurotol, 2002, 7(3), 165–170

Lehnhardt, E; Dillier, N; Laszig, R
Praxis der Audiometrie
Thieme Verlag, Stuttgart, 8. Auflage, 2000

Lomber, S G; Meredith, M A; Kral, A
Cross-modal plasticity in specific auditory cortices underlies visual compensations in the deaf
Nat Neurosci, 2010, 13(11), 1421–1427

Lukert, B; Mador, A; Raisz, L G; Kream, B E
The role of DNA synthesis in the responses of fetal rat calvariae to cortisol
J Bone Miner Res, 1991, 6(5), 453–460

Marra, A; Brigham, D
Streptococcus pneumoniae causes experimental meningitis following intranasal and otitis media infections via a nonhematogenous route
Infect Immun, 2001, 69(12), 7318–7325

Merchant, S N; Gopen, Q
A human temporal bone study of acute bacterial meningogenic labyrinthitis
Am J Otol, 1996, 17(3), 375–385

Messer, G; Rupec, R A
Nuklearfaktor-kappa-B (NF-κB) Teil 1: Funktion und Regulation
Der Hautarzt, 2001, 52(7), 677–685

Moscoso, M; García, E; López, R
Pneumococcal biofilms
Int Microbiol, 2009, 12(2), 77–85

Mynatt, R; Hale, S A; Gill, R M; Plontke, S K; Salt, A N
Demonstration of a longitudinal concentration gradient along scala tympani by sequential sampling of perilymph from the cochlear apex
J Assoc Res Otolaryngol, 2006, 7(2), 182–193

Nadol, J B; Shiao, J Y; Burgess, B J; Ketten, D R; Eddington, D K; Gantz, B J; Kos, I; Mntonand, P; Coker, N J; Roland, J T; Shallop, J K
Histopathology of cochlear implants in humans
Ann Otol Rhinol Laryngol, 2001, 110(9), 883–891

Nadol, J B; Eddington, D K
Histologic evaluation of the tissue seal and biologic response around cochlear implant electrodes in the human
Otol Neurotol, 2004, 25(3), 257–262

Nairn, K; Shepherd, G L; Edwards, J R
Efficacy of meropenem in experimental meningitis
J Antimicrob Chemother, 1995, 36 Suppl A73–84

Østergaard, C; Konradsen, H B; Samuelsson, S
Clinical presentation and prognostic factors of Streptococcus pneumoniae meningitis according to the focus of infection
BMC Infect Dis, 2005, 593

Park, H in; Pritchard, D G; Cartee, R; Brando, A; Brandileone, M C C; Nahm, M H
Discovery of a new capsular serotype (6C) within serogroup 6 of *Streptococcus pneumoniae*
J Clin Microbiol, 2007, 45(4), 1225–1233

Petersdorf, R G; Swarner, D R; Garcia, M
Studies on the pathogenesis of meningitis II. Development of meningitis during pneumococcal bacteraemia
J Clin Invest, 1962, 41320–327

Plontke, S K; Biegner, T; Kammerer, B; Delabar, U; Salt, A N
Dexamethasone concentration gradients along scala tympani after application to the round window membrane
Otol Neurotol, 2008a, 29(3), 401–406

Plontke, S K; Löwenheim, H; Mertens, J; Engel, C; Meisner, C; Weidner, A; Zimmermann, R; Preyer, S; Koitschev, A; Zenner, H-P
Randomized, double blind, placebo controlled trial on the safety and efficacy of continuous intratympanic dexamethasone delivered via a round window catheter for severe to profound sudden idiopathic sensorineural hearing loss after failure of systemic therapy
Laryngoscope, 2009, 119(2), 359–369

Plontke, S K; Mikulec, A A; Salt, A N
Rapid clearance of methylprednisolone after intratympanic application in humans. Comment on: Bird PA, Begg EJ, Zhang M, et al. Intratympanic versus intravenous delivery of methylprednisolone to cochlear perilymph. *Otol Neurotol* 2007;28:1124–30
Otol Neurotol, 2008b, 29(5), 732–3; author reply 733

Plontke, S K; Salt, A N
Simulation of application strategies for local drug delivery to the inner ear
ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec, 2006, 68(6), 386–392

Preyer, S
Hörfunktion an "seidenem" Faden
HNO, 1994(42), 322–324

Purser, S; Shepherd R K; Clark G M
Evaluation of a sealing device for the intracochlear electrode entry point
Journal of the Otolaryngological Society of Australia, 1991(6), 472–480

Rarey, K E; Curtis, L M
Receptors for glucocorticoids in the human inner ear
Otolaryngol Head Neck Surg, 1996, 115(1), 38–41

Rarey, K E; Luttge, W G
Presence of type I and type II/IB receptors for adrenocorticosteroid hormones in the inner ear
Hear Res, 1989, 41(2-3), 217–221

Ray, A; Prefontaine, K E
Physical association and functional antagonism between the p65 subunit of transcription factor NF-kappa B and the glucocorticoid receptor
Proc Am Thorac Soc, 1994, 91(2), 752–756

Rebscher, S J; Hetherington, A; Bonham, B; Wardrop, P; Whinney, D; Leake, P A
Considerations for design of future cochlear implant electrode arrays: electrode array stiffness, size, and depth of insertion
J Rehabil Res Dev, 2008, 45(5), 731–747

Reefhuis, J; Honein, M A; Whitney, C G; Chamany, S; Mann, E A; Biernath, K R; Broder, K; Avashia, S; Victor, M; Costa, P; Devine, O; Graham, A; Boyle, C
Risk of Bacterial Meningitis in Children with Cochlear Implants
N Engl J Med, 2003, 349(5), 435–445

Rhys Evans, P H; Comis, S D; Osborne, M P; Pickles, J O; Jeffries, D J
Cross-links between stereocilia in the human organ of Corti
J Laryngol Otol, 1985, 99(1), 11–19

Richardson, R T; Wise, A K; Andrew, J K; O'Leary, S J
Novel drug delivery systems for inner ear protection and regeneration after hearing loss
Expert Opin Drug Deliv, 2008, 5(10), 1059–1076

Richardson, R T; Wise, A K; Thompson, B C; Flynn, B O; Atkinson, P J; Fretwell, N J; Fallon, J B; Wallace, G G; Shepherd, R K; Clark, G M; O'Leary, S J
Polypyrrole-coated electrodes for the delivery of charge and neurotrophins to cochlear neurons
Biomaterials, 2009, 30(13), 2614–2624

Richter, B; Aschendorff, A; Nagursky, H; Schipper, J; Laszig, R; Klenzner, T
Methods for evaluation of perimodiolar CI electrode arrays in human temporal bones
Laryngorhinootologie, 2005, 84(1), 42–50

Rossjohn, J; Gilbert, R J; Crane, D; Morgan, P J; Mitchell, T J; Rowe, A J; Andrew, P W; Paton, J C; Tweten, R K; Parker, M W
The molecular mechanism of pneumolysin, a virulence factor from *Streptococcus pneumoniae*
J Mol Biol, 1998, 284(2), 449–461

Rubin, L G
Prevention and Treatment of Meningitis and Acute Otitis Media in Children with Cochlear Implants
Otol Neurotol, 2010, 31(8),

Rupprecht, T A; Pfister, H W
Aktuelle klinische Aspekte der bakteriellen Meningitis
Intensivmedizin und Notfallmedizin, 2004-11-01, 41(8), 565–572

Saha, S; Slepecky, N B
Age-related changes in microtubules in the guinea pig organ of Corti. Tubulin isoform shifts with increasing age suggest changes in micromechanical properties of the sensory epithelium
Cell Tissue Res, 2000, 300(1), 29–46

Schachern, P A; Paparella, M M; Hybertson, R; Sano, S; Duvall, A J
Bacterial tympanogenic labyrinthitis, meningitis, and sensorineural damage
Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 1992, 118(1), 53–57

Scheinman, R I; Gualberto, A; Jewell, C M; Cidlowski, J A; Baldwin, A S
Characterization of mechanisms involved in transrepression of NF- κ B by activated glu-

cocorticoid receptors
Mol Cell Biol, 1995, 15(2), 943–953

Scheld, W M; Park, T S; Dacey, R G; Winn, H R; Jane, J A; Sande, M A
Clearance of bacteria from cerebrospinal fluid to blood in experimental meningitis
Infect Immun, 1979, 24(1), 102–105

Schmidt, B M; Christ, M; Falkenstein, E; Wehling, M
Nongenomic steroid actions: completing the puzzle. Aldosterone as an example
Exp Clin Endocrinol Diabetes, 1998, 106(6), 441–445

Schmidt, R F
Physiologie des Menschen
Springer Verlag, Heidelberg, 30., neu bearb. und aktualisierte Aufl., 2007

Shaddock, L C; Wright, C G; Hamernik, R P
A morphometric study of microvascular pathology following experimental rupture of Reissner's membrane
Hear Res, 1985, 20(2), 119–129

Speckmann, E; Hescheler, J
Physiologie
Elsevier Verlag, Urban & Fischer, München, 5. Aufl., 2008

Stark, T; Liu, Y; Fauser, C; Niedermeier, K; Steinhoff, HJ; Braun, S; Jolly, C.; Arnold, W; Lohner, A; Kiefer, J
Untersuchung Dexamethason-beladener Cochlea-Implant-Elektroden im Hinblick auf das postoperative Hörvermögen und das mögliche Infektionsrisiko
81. Jahresversammlung der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Hals-Chirurgie, Wiesbaden, 12.–16.05.2010, Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2010; Doc10hnod442, veröffentlicht: 22. April 2010

Stellato, C
Post-transcriptional and nongenomic effects of glucocorticoids
Proc Am Thorac Soc, 2004, 1(3), 255–263

Summerfield, A Q; Cirstea, S E; Roberts, K L; Barton, G R; Graham, J M; O'Donoghue, G M
Incidence of meningitis and of death from all causes among users of cochlear implants in the United Kingdom
J Public Health (Oxf), 2005, 27(1), 55–61

Takemura, K; Komeda, M; Yagi, M; Himeno, C; Izumikawa, M; Doi, T; Kuriyama, H; Miller, J M; Yamashita, T
Direct inner ear infusion of dexamethasone attenuates noise-induced trauma in guinea pig
Hear Res, 2004, 196(1-2), 58–68

Tebruegge, M; Curtis, N
Epidemiology, etiology, pathogenesis, and diagnosis of recurrent bacterial meningitis
Clin Microbiol Rev, 2008, 21(3), 519–537

Trune, D R
Ion Homeostasis and Inner Ear Disease

In: Hamid, M.; Sismanis, A.: *Medical Otology and Neurotology: A Clinical Guide to Auditory and Vestibular Disorders*, Thieme Medical Publishers, New York, 2006, 21–31

Trune, D R; Wobig, R J; Kempton, J B; Hefeneider, S H

Steroid treatment in young MRL. MpJ-Fas(lpr) autoimmune mice prevents cochlear dysfunction

Hear Res, 1999, 137(1-2), 167–173

Tu, A H; Fulgham, R L; McCrory, M A; Briles, D E; Szalai, A J

Pneumococcal surface protein A inhibits complement activation by *Streptococcus pneumoniae*

Infect Immun, 1999, 67(9), 4720–4724

Tuomanen, E

Entry of pathogens into the central nervous system

FEMS Microbiol Rev, 1996, 18(4), 289–299

U. S. Food and Drug Administration (2002)

Public health web notification: risk of bacterial meningitis in children with cochlear implants online: www.fda.gov/cdrh/safety/cochlear.html. Zuletzt geprüft am: 09.02.2010

Ulfhig, N

Kurzlehrbuch Histologie

Thieme Verlag, Stuttgart, 2005

Wardrop, P; Whinney, D; Rebscher, S J; Luxford, W; Leake, P

A temporal bone study of insertion trauma and intracochlear position of cochlear implant electrodes. II: Comparison of Spiral Clarion and HiFocus II electrodes

Hear Res, 2005a, 203(1-2), 68–79

Wardrop, P; Whinney, D; Rebscher, S J; Roland, J T; Luxford, W; Leake, P A

A temporal bone study of insertion trauma and intracochlear position of cochlear implant electrodes. I: Comparison of Nucleus banded and Nucleus Contour electrodes

Hear Res, 2005b, 203(1-2), 54–67

Wei, B P C; Mubiru, S; O'Leary, S

Steroids for idiopathic sudden sensorineural hearing loss

Cochrane Database Syst Rev, 2006a(1), CD003998

Wei, B P C; Robins-Browne, R M; Shepherd, R K; Clark, G M; O'Leary, S J

Can we prevent cochlear implant recipients from developing pneumococcal meningitis?

Clin Infect Dis, 2008, 46(1), e1-7

Wei, B P C; Shepherd, R K; Robins-Browne, R M; Clark, G M; O'Leary, S J

Pneumococcal meningitis threshold model: A potential tool to assess infectious risk of new or existing inner ear surgical interventions

Otol Neurotol, 2006b, 27(8), 1152–1161

Wei, B P C; Shepherd, R K; Robins-Browne, R M; Clark, G M; O'Leary, S J

Pneumococcal meningitis: development of a new animal model

Otol Neurotol, 2006c, 27(6), 844–854

Wei, B P C; Shepherd, R K; Robins-Browne, R M; Clark, G M; O'Leary, S J
Threshold shift: effects of cochlear implantation on the risk of pneumococcal meningitis
Otolaryngol Head Neck Surg, 2007, 136(4), 589–596

Weinstein, R S; Jilka, R L; Parfitt, A M; Manolagas, S C
Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanisms of their deleterious effects on bone
J Clin Invest, 1998, 102(2), 274–282

Winter, A J; Comis, S D; Osborne, M P; Tarlow, M J; Stephen, J; Andrew, P W; Hill, J; Mitchell, T J
A Role for Pneumolysin but Not Neuraminidase in the Hearing Loss and Cochlear Damage Induced by Experimental Pneumococcal Meningitis in Guinea Pigs
Infect Immun, 1997, 65(11), 4411–4418

World Health Organization (2010)
Deafness and hearing impairment
online: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs300/en/>
Zuletzt geprüft am: 10.02.2011

Ye, Q; Tillein, J; Hartmann, R; Gstoettner, W; Kiefer, J
Application of a corticosteroid (Triamcinolon) protects inner ear function after surgical intervention
Ear Hear, 2007, 28(3), 361–369

Yeoh, L H
Causes of hearing disorders
In: Brown, W. G.: Scott-Browns Otolaryngology, 6th edn, Butterworth-Heinemann, Oxford, 1997, 1–20

Zimmerli, W; Waldvogel, F A; Vaudaux, P; Nydegger, U E
Pathogenesis of Foreign Body Infection: Description and Characteristics of an Animal Model
J Infect Dis, 1982, 146(4), 487–497

IX ANHANG TABELLEN**Tabelle A 1: Reagenzien und Chemikalien**

| Reagenz | Hersteller/Vertrieb | Bestell-Nr. |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------|
| Anilinblau-Orange nach Halmi-Koncezny | WALDECK GmbH & Co Division Chroma, D-48161 Münster | 2C-083 |
| Aqua destillata | Apotheke des Klinikums rechts der Isar der TU München | |
| EDTA-Citronensäure-PBS-Lösung: Titriplex 1000,0 g und Citronensäure-Monohydrat 218,75 g zu 10000 g Phosphatpufferlösung (Natriumchlorid 0,15 m (87,0 g), di- Natriumhydrogenphosphat Dihydrat 0,0028 m (4,37 g)); Lösung eingestellt mit Natronlauge 15 % auf pH 7,2 (ca. 1600 g) | Apotheke des Klinikums rechts der Isar der TU München | |
| Eosinlösung 10 % wässrig: Eosin gelblich 55,0 g in 550,0 g destilliertem Wasser | Apotheke des Klinikums rechts der Isar der TU München | |
| Ethanol \geq 99.8 % | Carl Roth GmbH & Co. KG, D-76185 Karlsruhe | 9065.1 |
| Formalin 37 % | Carl Roth GmbH & Co. KG, D-76185 Karlsruhe | 4979.1 |
| Gram-Färbe-Kitt | Carl Roth GmbH+ Co. KG, D-76185 Karlsruhe | HPO2.1 |
| Hämalaun-Lösung sauer nach Mayer | Carl Roth GmbH+ Co. KG, D-76185 Karlsruhe | CN03.1 |
| Isopropanol \geq 99.8 %: 2- Propanol, Iso- Propanol, Dimethylcarbil, 2- Hydroxypropan | Carl Roth GmbH+ Co. KG, D-76185 Karlsruhe | 6752.1 |
| Kernechtrubin-Eisessig | WALDECK GmbH & Co Division Chroma, D-48161 Münster | 2C-104 |
| Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) pH 7,4 | Apotheke des Klinikums rechts der Isar der TU München | |
| Wolframphosphorsäure 5 %-ig | Apotheke des Klinikums rechts der Isar der TU München | |

| | | |
|--------------------------------|----------------------------------------------|--------|
| Xylol ≥ 99.8 %, Dimethylbenzol | Carl Roth GmbH+ Co. KG, D-76185 Karlsruhe | 4436.1 |
|--------------------------------|----------------------------------------------|--------|

Tabelle A 2: Material Histologie

| Name | Hersteller/Vertrieb | Bestell-Nr. |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Bügelklinge 39 x 19,3 x 0,30 mm | MARTOR KG, D-42653 Solingen | ARGENTAX Nr. 44 |
| Deckgläser 24 x 60 mm | Thermo Scientific, Gerhard Menzel GmbH, D-38116 Braunschweig | 5161060 |
| Einbettkassetten Makro 41 x 27,5 x 12 mm, Standard 40,5 x 30 x 6 mm | Carl Roth GmbH+ Co. KG, D-76185 Karlsruhe | Makro: EE16.1 Standard: H579.1 |
| Einschlusmittel Eukitt® | O. Kindler GmbH, D-79110 Freiburg | 03989 |
| Färbegestell mit Drahtbügel | Carl Roth GmbH+ Co. KG, D-76185 Karlsruhe | Färbegestell: H552.1 Drahtbügel: H553.1 |
| Glaskasten | Carl Roth GmbH+ Co. KG, D-76185 Karlsruhe | H554.1 |
| Konisches Röhrchen, 50 ml, 30 x 115 mm | Falcon®, Becton Dickinson Labware Europe, F-38800 Le Pont De Claix | 9314606 |
| Microtom Klinge S 35 | Produkte für Medizin AG, D-50996 Köln | 07091662P |
| Objektträger Superfrost® Plus 25 x 75 x 1,0 mm | Thermo Scientific, Gerhard Menzel GmbH, D-38116 Braunschweig | J1800AMNZ |
| Objektträger- Kästen 76 x 26 mm | neoLab Migge Laborbedarf- Vertrieb GmbH, D-69123 Heidelberg | 2-2438 |
| Paraffin 100 % Roti®-Plast | Carl Roth GmbH+ Co. KG, D-76185 Karlsruhe | 6642.5 |
| Paraffin mit DMSO Roti®-Plast | Carl Roth GmbH+ Co. KG, D-76185 Karlsruhe | 6643.2 |
| Pinsel Größe 4, Feinhaarmischung | Vereinigte Pinselfabriken Leonhardy & Co. KG, D-90419 Nürnberg | 402826400055 6 |

| | | |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------|----------|
| Pinzette SS Dumoxel 13,5 cm | Fine Science Tools, D-69121 Heidelberg | 11245-30 |
| Tafel für Objektträger (20 Stück) | Engelbrecht Medizin- und Labor-technik GmbH, D-34295 Edermünde | 19256d |

Tabelle A 3: Labor

| Name | Hersteller/Vertrieb | Bestell-Nr. |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|------------------------------------------------|
| Pipette eppendorf Reference® (variabel) 100 - 1000 µl (blauer Knopf) | Eppendorf AG, D-22339 Hamburg | 4910 000.069 |
| Reaktionsgefäß 3810X 1,5 ml | Eppendorf AG, D-22339 Hamburg | 0030 125.150 |
| Pipetten eppendorf Reference® (variabel) 0,5 - 10 µl (grauer Knopf) | Eppendorf AG, D-22339 Hamburg | 4910 000.018 |
| Pipettenspitzen ep T.I.P.S® blau (50 - 1000 µl, 71 mm) gelb (2 - 100 µl, 53 mm) | Eppendorf AG, D-22339 Hamburg | Blau: 0030 073.100 Gelb: 0030 073.061 |

Tabelle A 4: Material Mikrobiologie

| Name | Hersteller/Vertrieb | Bestell-Nr. |
|----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-------------|
| Anaerobier Gaserzeuger Kit: Anaerobic Sysetm BR00038B | Oxoid Ltd, UK–Basigstoke, Hants, RG24 8PW | BR00038B |
| Columbia-Agar mit 5 % Schafblut | Becton Dickinson GmbH, D-69126 Heidelberg | 254005 |
| Einweg-Drigalski-Spatel | neoLab Migge Laborbedarf-Vertrieb GmbH, D-69123 Heidelberg | 3-1737 |
| Einweg-Impfösen 10 µl Nunc® | VWR International GmbH, D-64295 Darmstadt | 710-2509 |

Tabelle A 5: Medizinisches Verbrauchsmaterial

| Name | Hersteller/Vertrieb | Bestell-Nr. |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| Alkoholische Hautantiseptik Kodan® | Schülke & Mayr, D-22840 Norderstedt | 70140 |
| Chirurgisches Nahtmaterial Vicryl® resorbierbar, 4-0 geflochten | Ethicon/ Johnson & Johnson Medical GmbH, D-22851 Norderstedt | V304H |
| Einmalkanülen: Gelb 20 G 1 ½“ Schwarz 21 G 1 ¼“ Blau 23 G 1“ Braun 26 G ½“ Grau 27 G ½“ | Becton Dickinson GmbH, D- 82152 Planegg | Gelb:301300 Schwarz:3009 00 Blau:300700 Braun:304300 Grau:300635 |
| Einmalspritzen: 2 ml, 5 ml und 10 ml | Becton Dickinson GmbH, D- 82152 Planegg | 2 ml: 82152 5 ml: 82152 10 ml: 82152 |
| Gelatineschwamm Gelfoam® absorbable gelatin compressed sponge, USP | Pfizer AG | 09-0353-01 |
| Handschuhe aus Latex Sempercare® | Semperit Technische Produkte GmbH., A-1031 Wien | 3779403 |
| Lanzett-Stielstupfer | Lohmann & Rauscher International GmbH & Co.KG, D-56579 Rengsdorf | 14917 |
| Li-Heparin-Monovette mit Monovetten Kanüle, 2,7 ml | Fa. Sarstedt | 05.1553 |
| Lochtuch Raucodrape®, 2-lagig, 50 x 60 cm, 6 cm Loch | Lohmann & Rauscher International GmbH & Co.KG, D-56579 Rengsdorf | 33041 |
| Mullkompressen | Lohmann & Rauscher International GmbH & Co.KG, D-56579 Rengsdorf | 13697 |
| Operationshandschuhe sempermed® supreme | Semperit Technische Produkte GmbH., A-1031 Wien | 822751601 |
| Paperspitzen Cell Pack Top Color \geq 25 mm Gr. 40 | Roeko, D-89122 Langenau | 344840 |
| Povidon Jod 7,5 % Lösung Braunol® zur Anwendung auf der Haut | B. Braun Melsungen AG, D-34209 Melsungen | 3864154 |

| | | |
|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|---------|
| Präpariertupfer Setpack® Gr. 2 klein | Lohmann & Rauscher International GmbH & Co.KG, D-56579 Rengsdorf | 12783 |
| Sekusept® Plus, Instrumentendesinfektion | Ecolab GmbH, D-40554 Düsseldorf | 4677797 |
| Thermometer Domotherm® Digital TH 1 | UEBE Medical GmbH, D-97877 Wertheim | 0793087 |
| Tuberkulinspritzen (1 ml) | B. Braun Melsungen AG, D-34209 Melsungen | 370-155 |
| Tupfer aus Verbandsmull | Fa. Lohmann & Rauscher International GmbH & Co. KG, D-56579 Rengsdorf | 14962 |

Tabelle A 6: Operationsbesteck

| Name | Hersteller/Vertrieb | Bestell-Nr. |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Anatomische Pinzette | Aesculap AG, D-78532 Tuttlingen | BD023R |
| Arterienklemme | Fine Science Tools, D- 69121 Heidelberg | 13002-10 |
| Chirurgische Pinzette | Aesculap AG, D-78532 Tuttlingen | BD527R |
| Chirurgische Schere gerade, spitz/spitz | Aesculap AG, D-78532 Tuttlingen | BC341R |
| Diamantrosenbohrkopf 0,7 mm 2,7 mm | Aesculap AG, D-78532 Tuttlingen | 0,7 mm: GD 028 R 2,7 mm: GD 22 |
| Handbohrer | KARL STORZ GmbH und Co. KG, D-78532 Tuttlingen | 250410 A |
| Heizkissen HK 35, 40 x 30 cm | Beurer GmbH, D-89077 Ulm | HK 35 |
| Metzenbaum Schere | Fine Science Tools, D-69121 Heidelberg | 14016-14 |
| Nadelhalter nach Hegar-Olsen | Aesculap AG, D-78532 Tuttlingen | BM124R |
| Raspatorium nach Partsch | Aesculap AG, D-78532 Tuttlingen | DO642R |

| | | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Rongeur nach Beyer | Fine Science Tools, D-69121 Heidelberg | 16002-18 |
| Rongeur nach Caspar | Aesculap AG, D-78532 Tuttlingen | FF502R |
| Schermaschine Aesculap GT 405 Akkurata | Aesculap AG, D-78532 Tuttlingen | GT405 |
| Skalpellklingen "Surgical blade Stainless" No. 11 und No. 15 Feather safety (Einweg) | Produkte für die Medizin AG, D-50996 Köln | No.11: 02.001.30.011 No.15: 02.001.30.015 |
| Sonde: gerade 0,25 mm, gebogen 0,15 mm | Fine Science Tools, D-69121 Heidelberg | Gerade: 10140-01 Gebogen: 10140-02 |
| Tuchklemme | Aesculap AG, D-78532 Tuttlingen | BF437R |
| Wundspreizer nach Alm | Fine Science Tools, D-69121 Heidelberg | 17008-07 |

Tabelle A 7: Software und Geräte

| Name | Hersteller/Vertrieb | Bestell-Nr. |
|----------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------|
| Einbettssystem TES 99 | MEDITE GmbH, D -31303 Burgdorf | TES 99 |
| Kamera Leica DFC 425C | Leica Mikrosysteme Vertriebs GmbH, D-35578 Wetzler | |
| Kühlplatte COP 30 | MEDITE GmbH, D- 31303 Burgdorf | COP 30 |
| Mikroskop Leica DMI 6000B | Leica Mikrosysteme Vertriebs GmbH, D-35578 Wetzler | |
| Mikrotom HM 355 S | Fisher <i>Scientific</i> GmbH, D-58239 Schwerte | HM 355S |
| Paraffin- Streckbad TAB 35 | MEDITE GmbH, D-31303 Burgdorf | TAB 35 |
| Wärmeschrank | Salvis AG, CH-4665 Oftringen | KVTS 11 |
| Lichtquelle Highlight 2100 | Olympus Europa Holding GmbH, D- 20097 Hamburg | Highlight 2100 |

| | | |
|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|------|
| Operations-Mikroskop: Leica Wild M 715 mit Kaltlichtquelle Intralux® mr 2 | Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, D-35578 Wetzlar | M715 |
|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|------|

Tabelle A 8: Medikamente und Narkosemittel

| Wirkstoff | Name, Hersteller/Vetrieb |
|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Articainhydrochlorid/ Epinephrinhydrochlorid | Ultracain® 1 %-Suprarenin® 50 ml, 10 mg/ml Articainhydrochlorid/0,006 mg/ml Epinephrinhydrochlorid Injektionslösung, Sanofi Aventis Deutschland GmbH, D-65926 Frankfurt am Main |
| Atipamezol | Antisedan® 5 mg/ml Injektionslösung, Pfizer GmbH, D-10785 Berlin |
| Carbomer | Thilo-Tears® Gel 3 mg/g Augengel, Alcon Pharma GmbH, D- 79108 Freiburg |
| Enrofloxacin | Baytril® 2,5 % ad us. vet. Injektionslösung und Baytril® 2,5 % ad us. vet. orale Lösung, Bayer Healthcare AG, D-51368 Leverkusen |
| Fetanyl | Fentanyl® Janssen, 0,5 mg/10 ml Injektionslösung, Janssen Cilag GmbH, D-41470 Neuss |
| Flumazenil | Anexate® 0,5, 0,5 mg/5ml Injektionslösung, Hoffmann-La Roche AG, 79639 Grenzach-Wyhlen |
| Medetomidin | Domitor® 1 mg/ml Injektionslösung, Janssen Cilag GmbH, D-41470 Neuss |
| Meloxicam | Metacam® 1,5 mg/ml Suspension zum Eingeben und Metacam® 5 mg/ml Injektionslösung, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, D-55218 Ingelheim am Rhein |
| Metamizol- Natrium | Novaminsulfon-ratiopharm® 500 mg/ml Tropfen, ratiopharm GmbH, D-89070 Ulm |
| Midazolam | Midazolam ratiopharm® 15 mg/3 ml Injektionslösung, ratiopharm GmbH, D-89070 Ulm |
| Naloxon | Naloselect®, 0,4 mg/ml Injektionslösung, Pharmaselect GmbH, D-68526 Ladenburg |
| Natriumchlorid | Isotone Natriumchloridlösung 0,9 %, B. Braun Melsungen AG, D-34209 Melsungen |

Tabelle A 9: Übersichtstabelle Versuch I

Tabelle A 10: Übersichtstabelle Versuch II

X VORVERÖFFENTLICHUNGEN

Aus Gründen der Aktualität wurden Inhalte dieser Arbeit bereits in folgenden Vorträgen und Postern veröffentlicht:

Vorträge:

Niedermeier, K; Fauser, C; Stark, T; Braun, S; Koedel, U; Hammerschmidt, S
Etablierung eines Meningitis-Modells für das Meerschweinchen nach Cochlea Implantation
81. Jahresversammlung der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Kopf- und Hals-Chirurgie e.V., Bonn, 12.05.-16.05.2010, Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2010; Doc10hnod390, veröffentlicht: 22. April 2010

Stark, T; Liu, Y; Fauser, C; Niedermeier, K; Steinhoff, HJ; Braun, S; Jolly, C.; Arnold, W; Lohner, A; Kiefer, J

Untersuchung Dexamethason-beladener Cochlea-Implant-Elektroden im Hinblick auf das postoperative Hörvermögen und das mögliche Infektionsrisiko
81. Jahresversammlung der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Hals-Chirurgie, Wiesbaden, 12.-16.05.2010, Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2010; Doc10hnod442, veröffentlicht: 22. April 2010

Poster:

Niedermeier, K; Stark, T; Braun, S; Straubinger, R; Kiefer, J; Koedel, U; Hammerschmidt, S; Fauser C

Evaluation of the potential meningitis risk of dexamethasone eluting cochlear implants: A new animal model

47th Inner Ear Biology Workshop, Prag, 29.08.-01.09.2010, P16

Stark, T; Niedermeier, K; Lohner, A; Braun, S; Liu, Y; Kiefer, J; Steinhoff, J; Jolly, C; Straubinger, R; Fauser C

Study on Elution of Dexamethasone from the Electrode Array and evaluation of potential risks

11th International Conference on Cochlear Implants and Other Auditory Implantable Technologies, Stockholm, 30.06.-03.07.2010, P425

XI DANKSAGUNG

Sehr herzlich möchte ich mich zunächst bei Herrn Dr. med. Claudius Fauser für die Überlassung des Themas sowie die Betreuung während der ersten Versuchsphase bedanken.

Bei Herrn Prof. Dr. med. Henning Bier, Direktor der Hals-Nasen-Ohrenklinik und Poliklinik der Technischen Universität München, möchte ich mich für die Möglichkeit bedanken, die Arbeiten an seinem Institut durchführen zu können.

Weiterhin danke ich Frau MTA Andrea Lohner für die ihre Hilfsbereitschaft und die freundliche Unterstützung im Labor. Ebenso danke ich allen Kollegen und Mitdoktoranden der Hals-Nasen-Ohrenklinik für die Zusammenarbeit und die schöne gemeinsame Zeit.

Ganz besonders möchte ich mich bei Herrn Dr. med. Thomas Stark bedanken, der mir als Doktorvater und Betreuer dieser Arbeit trotz des manchmal stressigen Klinikalltags jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand. Weiterhin danke ich ihm für sein Vertrauen und die Förderung meiner persönlichen Stärken und Ziele. Ganz besonders schätze ich auch unser freundschaftliches Verhältnis über die Arbeit hinaus.

Besonders danke ich auch Frau Anne Jakob, auf deren Hilfe ich auch in schwierigen Zeiten immer zählen konnte. Ich freue mich auf unsere weitere Zusammenarbeit.

Herrn Prof. Dr. med. vet. R. Straubinger danke ich für die Übernahme der Arbeit an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität. Ich möchte ihm für Selbstverständlichkeit danken, mit der er für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und die guten Arbeitsbedingungen an seinem Institut sorgte. Besonders bedanke ich mich auch für seine Geduld, die Bereitschaft, wissenschaftliche Fragen zu diskutieren und seine Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Frau Dr. biol. Susanne Braun von MED-EL, Innsbruck, die uns immer in allen Belangen mit ihrem Wissen und ihrer Einsatzbereitschaft unterstützt. Während der Ausarbeitung und Fertigstellung der Arbeit stand sie mir stets mit zahlreichen kritischen und hilfreichen Anregungen zur Seite.

Bei Herr PD Dr. Uwe Koedel bedanke ich mich herzlich für die freundliche und geduldige Beratung und die Einführung in das Arbeiten mit Infektionsmodellen. Herrn Prof. Dr. Sven Hammerschmidt danke ich für die Bereitstellung der Pneumokokken.

Bei meinen Eltern und meinen Freunden bedanke ich mich für die psychische Unterstützung und ihre unermüdliche Geduld während der Versuche und der Erstellung dieser Arbeit.