

Aus der
Urologischen Klinik und Poliklinik
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Antivirulenz-Therapie: Identifizierung und Charakterisierung neuer
antimikrobieller Verbindungen zur Behandlung und Prophylaxe von
Harnwegsinfektionen**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Mathias Götz

aus

Würzburg

2025

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Erstes Gutachten: Priv. Doz. Dr. med. Giuseppe Magistro

Zweites Gutachten: Priv. Doz. Dr. Andreas Wieser

Drittes Gutachten: Prof. Dr. Markus Bader

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 10.03.2025

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Die Zukunft bakterieller Infektionen in Anbetracht erhöhter Antibiotikaresistenzen	1
1.2	Epidemiologie urogenitaler Infektionen	1
1.3	Definition unkomplizierter und komplizierter Harnwegsinfektionen	2
1.4	Symptomatik urogenitaler Infektionen	3
1.5	Therapie von Harnwegsinfektionen	4
1.5.1	Therapie von unkomplizierten Harnwegsinfektionen	4
1.5.2	Therapiemöglichkeiten bei rezidivierenden Harnwegsinfekten	5
1.6	Erregerspektrum	5
1.6.1	<i>Escherichia coli</i>	6
1.6.2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6
1.6.3	<i>Proteus mirabilis</i>	7
1.6.4	<i>Enterobacter cloacae</i>	7
1.6.5	<i>Serratia marcescens</i>	7
1.6.6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
1.6.7	<i>Acinetobacter baumannii</i>	8
1.6.8	<i>Citrobacter freundii</i>	8
1.6.9	<i>Morganella morganii</i>	8
1.7	Substanzauswahl	8
1.7.1	Die Geschichte pflanzlicher Stoffe zur Behandlung von Harnwegsinfektionen	8
1.7.2	Senföle	9
1.7.3	Rosmarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	9
1.7.4	Liebstöckel (<i>Levisticum officinale</i>)	10
1.7.5	Proanthocyanidine	10

1.7.6	D-Mannose	11
1.8	Pathogenitätsfaktoren	11
1.8.1	Virulenzfaktoren	11
1.8.1.1	Adhäsion	11
1.8.1.2	Motilität	12
1.8.1.3	<i>Quiescent intracellular reservoirs</i>	12
1.9	Anwendungsmöglichkeiten.....	12
1.9.1	Medizinische Anwendungsmöglichkeiten.....	12
1.9.2	Anwendungsmöglichkeiten außerhalb der Medizin.....	13
1.10	Ziel der Arbeit.....	13
2	Material und Methoden	15
2.1	Materialien.....	15
2.1.1	Bakterien.....	15
2.1.2	Phytotherapeutika	15
2.1.3	Medien/Chemikalien	16
2.1.4	Ausstattung.....	17
2.1.5	Software.....	18
2.2	Herstellung von Medien.....	19
2.2.1	Zehnfach LB-Medium.....	19
2.2.2	LB-Medium.....	19
2.2.3	PBS-Pufferlösung	19
2.2.4	Bactoagarplatten.....	19
2.3	Methoden	19
2.3.1	Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration.....	19
2.3.2	Wachstumskurven	21
2.3.3	Schwärmversuche	22
2.3.3.1	Herstellung der Schwärmagarplatten	22
2.3.3.2	Bestimmung der Bakterienmotilität auf Schwärmagarplatten	23

2.3.4	Agglutinationsversuche	23
2.3.5	Datenauswertung	24
2.3.5.1	Auswertung der minimalen Hemmkonzentration	24
2.3.5.2	Auswertung der Schwärmversuche	24
2.3.5.3	Auswertung der Agglutinationsversuche	24
3	Ergebnisse	25
3.1	Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentrationen	25
3.1.1	Evaluation des Test-Protokolls	25
3.1.1.1	Intertestvariabilität	25
3.1.1.2	Dimethylsulfoxid-Effekte auf das Bakterienwachstum	27
3.1.2	Minimale Hemmkonzentrationen	27
3.1.2.1	<i>Escherichia coli</i>	27
3.1.2.2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	31
3.1.2.3	<i>Proteus mirabilis</i>	32
3.1.2.4	<i>Enterobacter cloacae</i>	33
3.1.2.5	<i>Serratia marcescens</i>	34
3.1.2.6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35
3.1.2.7	<i>Acinetobacter baumannii</i>	36
3.1.2.8	<i>Citrobacter freundii</i>	37
3.1.2.9	<i>Morganella morganii</i>	38
3.1.2.10	Zusammenfassung der MHK-Werte	38
3.2	Beurteilung des Bakterienwachstums unter Rosmarinextrakteinfluss im Zeitverlauf	39
3.3	Beurteilung der Bakterienmotilität unter Substanzeinfluss mit Hilfe von Schwärmversuchen	41
3.3.1	<i>Escherichia coli</i>	43
3.3.2	<i>Proteus mirabilis</i>	44
3.3.3	<i>Enterobacter cloacae</i>	45
3.3.4	<i>Serratia marcescens</i>	46

3.3.5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47
3.3.6	<i>Citrobacter freundii</i>	48
3.3.7	<i>Morganella morganii</i>	49
3.3.8	Zusammenfassung der signifikanten Konzentrationen zur Motilitäshemmung	50
3.4	Beurteilung der Agglutination unter Einfluss von Phytopharmaka	51
4	Diskussion	52
4.1	Stellenwert antibiotischer Therapien in der modernen Medizin	52
4.2	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	53
4.3	Kritische Diskussion der Methoden	53
4.3.1	Aspekte in der Forschung mit pflanzlichen Substanzen.....	53
4.3.2	<i>In-vitro</i> -Tests	54
4.3.2.1	Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration	54
4.3.2.2	Untersuchung der bakteriellen Wachstumsphasen	55
4.3.2.3	Beurteilung der Bakterienmotilität.....	55
4.3.2.4	Beurteilung der Adhäsionsfähigkeit.....	55
4.4	Diskussion der Ergebnisse.....	56
4.4.1	Phytotherapeutika	56
4.4.1.1	Senföle	56
4.4.1.2	<i>In-vivo</i> -Metabolismus der Isothiocyanate	58
4.4.1.3	Rosmarinöl	59
4.4.1.4	Liebstockel	60
4.4.1.5	Proanthocyanidine.....	60
4.4.1.6	Mannoside.....	61
5	Ausblick	63
	Literaturverzeichnis	65
	Abkürzungsverzeichnis	72
	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	73
	Danksagung	75

Affidavit76

1 Einleitung

1.1 Die Zukunft bakterieller Infektionen in Anbetracht erhöhter Antibiotikaresistenzen

“The time may come when penicillin can be bought by anyone in the shops. Then there is the danger that the ignorant man may easily underdose himself and by exposing his microbes to non-lethal quantities of the drug make them resistant.” (1)

- Alexander Fleming

Sir Alexander Fleming, Entdecker des Penicillins, warnte bereits im Jahre 1945 in seinem Nobelpreis-Vortrag vor antibiotischen Resistenzen. Eine post-antibiotische Ära in naher Zukunft ist mehr Realität als Fiktion (2). Schon jetzt wird prognostiziert, dass eine Zeit kommen wird, in der bakterielle Infektionen wieder die häufigste Todesursache des Menschen sein werden (3). Prognosen legen nahe, dass im Jahr 2050 bis zu 10 Millionen Menschen jährlich an bakteriellen Infektionen aufgrund multiresistenter Erreger sterben könnten (3). Dies wären mehr Todesfälle durch bakterielle Infektionen als durch Krebserkrankungen (3). Im Jahre 2019 waren weltweit 4,95 Millionen Todesfälle mit antibiotikaresistenten Bakterien assoziiert und 1,27 Millionen direkt zurechenbar (4). Das bedeutet, dass schon heute durch eine Infektion mit antibiotikaresistenten Bakterien mehr Menschen sterben als durch HIV und Malaria (4).

Anhand dieser Daten erkennt man, dass antibiotische Resistenzen ein immer größeres Problem in der klinischen Versorgung von Patienten mit bakteriellen Infektionen darstellen. Aufgrund eines Mangels an alternativen Behandlungsmethoden muss gehäuft Gebrauch von Reserveantibiotika gemacht werden. Diese haben ein größeres Nebenwirkungsspektrum und damit eine schlechtere Verträglichkeit. Erschwerend kommt hinzu, dass es immer schwieriger wird, neue Antibiotika zu entwickeln (3).

1.2 Epidemiologie urogenitaler Infektionen

Harnwegsinfektionen gehören zu den häufigsten Infektionen des Menschen. Anfang der 2000er Jahre wurde geschätzt, dass die weltweite Inzidenz bei 150 Millionen Erkrankungen jährlich lag (5).

In den USA sind unkomplizierte Harnwegsinfektionen der Grund für 0,7% aller ambulanten Vorstellungen (6). Zusätzlich gibt es in den Vereinigten Staaten jährlich 1

bis 1,5 Millionen nosokomiale Harnwegsinfektionen (7). Von diesen sind 80% katheterassoziiert, die wiederum für 40% aller nosokomialen Infektionen verantwortlich sind (8). In Deutschland geht man von jährlich 155.000 nosokomialen Harnwegsinfektionen aus (9).

Vor allem Frauen sind häufiger von Harnwegsinfektionen betroffen. Man geht davon aus, dass die Hälfte aller Frauen mindestens eine Episode einer Harnwegsinfektion in ihrem Leben durchmachen wird (10). Die Inzidenz unter Frauen älter als 18 Jahre wird auf 12.6% geschätzt (11). Unter Männern lag diese lediglich bei 3% (11).

Dazu kommt eine hohe Dunkelziffer, da der Großteil der unkomplizierten Harnwegsinfektionen im ambulanten Setting behandelt wird. Zu beachten ist zusätzlich die nicht ausreichende Datenlage, da oftmals ein selbstlimitierender Verlauf vorliegt oder eine selbständige Therapie durchgeführt wird.

Alleine in den USA betragen die durch Harnwegsinfektionen verursachten Kosten ca. 3,5 Milliarden Dollar pro Jahr (12). Aufgrund der progredienten Resistenzentwicklung werden diese Kosten in Zukunft weiter ansteigen, da die Therapien urogenitaler Infektionen komplexer werden.

Nach durchgemachter Harnwegsinfektion ist die Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs erhöht. Innerhalb von 6 Monaten bekommen ca. ein Viertel der Patienten mindestens eine weitere Harnwegsinfektion (13, 14). Dies verdeutlicht den Handlungsbedarf zur Prävention von rezidivierenden Harnwegsinfektionen.

1.3 Definition unkomplizierter und komplizierter Harnwegsinfektionen

Harnwegsinfektionen werden als unkompliziert kategorisiert, wenn keine funktionellen oder anatomischen Anomalien, keine Nierenfunktionsstörungen und keine relevanten Begleiterkrankungen vorliegen, die eine Harnwegsinfektion beziehungsweise gravierende Komplikationen begünstigen (15). In der untenstehenden Tabelle werden Beispiele für Faktoren gegeben, die auf eine komplizierte Harnwegsinfektion hinweisen.

Tabelle 1: Hinweise auf komplizierende Faktoren von Harnwegsinfektionen (15)

Art des komplizierenden Faktors	
Anatomische Veränderungen	Funktionelle Veränderungen
<p>Angeborene anatomische Veränderungen, z.B.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ureterabgangsstenosen • Obstruktive Harnröhrenklappen • Phimose <p>Erworbene anatomische Veränderungen, z.B.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nierensteine, Harnleitersteine • Harnleiterstrikturen • Harnblasentumore • Prostatavergrößerungen • Schwangerschaft 	<p>Funktionelle Veränderungen, z.B.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Niereninsuffizienz • Harntransportstörungen • Entleerungsstörungen der Harnblase <p>Angeborene oder erworbene Störungen der Immunität, z.B.</p> <ul style="list-style-type: none"> • HIV • Leberinsuffizienz • Entgleister, schlecht eingestellter Diabetes mellitus <p>Intraoperative, postoperative Situationen mit anatomischen Veränderungen oder Einbringen von Fremdkörpern, z.B.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nephrostomie • Harnleiterschienen • Harnblasenkatheter

Bei Männern werden Harnwegsinfektionen immer als kompliziert eingestuft.

Des Weiteren unterscheidet man zwischen einer unteren Harnwegsinfektion (Urozystitis und Urethritis), die sich auf Harnblase und Harnröhre begrenzt, und einer oberen Harnwegsinfektion (Pyelonephritis), bei der auch eine Entzündung des Nierenbeckens vorliegt (15).

Eine rezidivierende Harnwegsinfektion liegt vor, sobald ≥ 2 symptomatische Episoden innerhalb von 6 Monaten oder ≥ 3 symptomatische Episoden innerhalb von 12 Monaten durchgemacht werden (15).

1.4 Symptomatik urogenitaler Infektionen

Klassische Symptome einer unkomplizierten Zystitis sind Algurie (Schmerzen beim Wasserlassen), Dysurie (schmerzhafte und erschwerte Blasenentleerung), Pollakisurie (häufiges Wasserlassen) und auch Hämaturie. Bei einer oberen

Harnwegsinfektion können zusätzlich noch Symptome wie druckdolente Nierenlager und Fieber hinzukommen.

Der (bei Frauen mindestens zweimalige) Nachweis einer signifikanten Anzahl von Bakterien im Urin ($\geq 10^5$ KBE/mL) ohne gleichzeitig vorhandene Harnwegsinfektionsspezifische Symptome wird als asymptomatische Bakteriurie bezeichnet (15). In diesem Fall wird von einer Kolonisation, nicht jedoch von einer Infektion ausgegangen (15).

1.5 Therapie von Harnwegsinfektionen

In den folgenden Absätzen beziehe ich mich, sofern nicht anders angegeben, auf die Interdisziplinäre S3 Leitlinie zur Epidemiologie, Diagnostik, Therapie, Prävention und Management unkomplizierter, bakterieller, ambulant erworbener Harnwegsinfektionen bei erwachsenen Patienten der Deutschen Gesellschaft für Urologie e.V. (15).

1.5.1 Therapie von unkomplizierten Harnwegsinfektionen

Aufgrund von Spontanheilungsraten zwischen 30% bis 50% besteht nicht immer eine Indikation zur antibiotischen Therapie (15). Eine medikamentöse Therapie bei unkomplizierten Harnwegsinfektionen wird vor allem durchgeführt, um ein schnelleres Abklingen der Symptome herbeizuführen. Hierfür ist eine rein symptomatische Therapie mit einem Analgetikum eine Alternative zur gängigen antibiotischen Therapie und sollte dem Patienten angeboten werden (15). Gleichzeitig sollte darauf hingewiesen werden, dass eine primär analgetische Therapie mit einer höheren Symptomlast assoziiert ist (15). Es konnte festgestellt werden, dass nach einer Woche analgetischer Therapie mit Ibuprofen 70% der Patienten symptomfrei waren (16). Dahingegen sind nach einer Woche unter antibiotischer Therapie mit Fosfomycin 80% symptomlos (16). Mittlerweile gibt es erste Studien, die nahelegen, dass bestimmte pflanzliche Therapeutika gegenüber einer antibiotischen Therapie nicht minderwertig sind. So wurde beispielsweise festgestellt, dass Canephron[®], bestehend aus den Inhaltsstoffen Rosmarin, Tausendgüldenkraut und Liebstöckel, bei der Therapie einer unkomplizierten Harnwegsinfektion gleichwertig mit einer antibiotischen Therapie mit Fosfomycin ist (17, 18)

Als antibiotische Therapie der ersten Wahl sind Fosfomycin-Trometamol, Nitrofurantoin, Nitroxolin und Pivmecillinam empfohlen (15, 19, 20). Hierbei sollte jedoch beachtet werden, dass die Resistenzraten auch gegenüber diesen weiter ansteigen (19, 21).

Cephalosporine, Fluorchinolone und Cotrimoxazol sollten aufgrund einer ungünstigen Resistenzlage und aufgrund von unerwünschten Arzneimittelwirkungen nicht mehr als Antibiotika der ersten Wahl eingesetzt werden (15).

1.5.2 Therapiemöglichkeiten bei rezidivierenden Harnwegsinfekten

Bei rezidivierenden Harnwegsinfektionen sollten in erster Linie Risikofaktoren vermieden werden. Hierzu gehören unter anderem eine zu geringe Trinkmenge, eine verspätete postkoitale Miktion oder eine insuffiziente Analhygiene nach der Defäkation (22). Als nicht antibiotische Prophylaxe können neben topischer Östrogenisierung und intravaginaler Applikation von speziellen Laktobazillen auch oral Mannose oder verschiedene Phytotherapeutika, beispielsweise Proanthocyanidine, Bärentraubenblätter, Kapuzinerkressekraut oder Meerrettichwurzel, verabreicht werden (15, 22). Weitere Prophylaktische Maßnahmen sind die endovesikale Installation von Hyaluronsäure zusammen mit Chondroitinsulfat und die orale Einnahme von Methenamin-Hippurat (22).

Vor Beginn einer antibiotischen Dauertherapie sollte eine orale oder parenterale Immunstimulation, beispielsweise mit Uro-Vaxom® oder StroVac®, durchgeführt werden (15, 22). Die antibiotische Dauertherapie oder post-koitale Prophylaxe ist die effektivste Methode zur Harnwegsinfektionsprävention (22). Hierfür werden Fosfomycin, Cotrimoxazol oder Nitrofurantoin empfohlen (15, 22).

1.6 Erregerspektrum

Bei der Auswahl der Bakterien wurde auf eine hohe klinische Relevanz geachtet. Die folgende Arbeit fokussiert sich auf die häufigsten gramnegativen Erreger von Harnwegsinfektionen, da diese für ca. 87% aller unkomplizierten Harnwegsinfektionen verantwortlich sind (23). Gramnegative Bakterien weisen im Vergleich zu grampositiven Bakterien gehäuft antibiotische Resistenzen auf. Deswegen wurden beispielweise grampositive Keime wie *Staphylococcus saprophyticus*, die auch zu den häufig Harnwegsinfektionen verursachenden Keimen gehören, nicht miteingeschlossen. Bis auf Pseudomonaden und Acinetobacter gehören alle folgenden Erreger der Ordnung der *Enterobacterales* an. Diese Enterobakterien sind Bestandteil der natürlichen Darmflora des Menschen, können jedoch Infektionen in anderen Körperregionen verursachen, sind also fakultativ pathogen.

1.6.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli ist ein gramnegatives, fakultativ anaerobes, begeißeltes Bakterium. Es ist der häufigste Erreger von bakteriellen Harnwegsinfektionen. *E. coli* ist für 65-75% aller ambulanten Harnwegsinfektionen verantwortlich (12). Im stationären Setting in Krankenhäusern und Pflegeheimen, sinkt der Anteil der durch *E. coli* verursachten Harnwegsinfektionen im Vergleich zu den in den nächsten Absätzen erwähnten Bakterien (8).

Neben den als Kommensale vorkommenden *E. coli* der Darmflora gibt es verschiedene Pathovaren, die sich anhand ihrer Virulenzfaktoren unterscheiden lassen. Man unterscheidet zwischen intestinalen pathogenen *E. coli* und extraintestinalen pathogenen *E. coli* (ExPEC).

Zu den intestinalen pathogenen *E. coli* zählt man beispielsweise die enteropathogenen *E. coli* (EPEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC), enterotoxinbildende *E. coli* (ETEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC) und enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) bzw. shigatoxinbildende *E. coli* (STEC). Die intestinalen *E. coli* verursachen vor allem Durchfallerkrankungen.

Extraintestinale pathogene *E. coli* können verschiedene Krankheiten wie zum Beispiel Harnwegsinfektionen, Pyelonephritiden, Septikämien oder Meningitiden verursachen (24). Zu den ExPEC gehören beispielweise uropathogene *E. coli* (UPEC), nephropathogene *E. coli* (NPEC), septikämisch-pathogene *E. coli* (SPEC) oder Meningitis verursachende *E. coli* (MPEC) (24).

1.6.2 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiellen sind gramnegative, unbegeißelte Stäbchenbakterien. Durch das Fehlen von Geißeln können sie sich nicht fortbewegen. Klebsiellen verursachen eitrige Lokalinfectionen und Sepsis. Klassisch sind hier sowohl ambulante als auch nosokomiale Lobärpneumonien und Harnwegsinfektionen zu nennen.

Klebsiella pneumoniae ist der wichtigste Vertreter der Gruppe der Klebsiellen. Dieser hat eine hohe Resistenzrate und ist deshalb schwierig zu therapieren (25). *Klebsiella pneumoniae* ist je nach Quelle für ca. 6% aller ambulanten Harnwegsinfektionen verantwortlich (12, 15). Bei nosokomialen Harnwegsinfektionen ist *K. pneumoniae* mit bis zu 11% noch häufiger vertreten (8).

1.6.3 *Proteus mirabilis*

Proteus mirabilis ist ein gramnegatives, begeißeltes Bakterium. Charakteristisch für *Proteus* ist die hohe Motilität, die durch die starke Begeißelung bedingt ist. Dadurch kann *Proteus* selbst auf festen Kulturmedien schwärmen.

Wichtig bei Harnwegsinfektionen ist die Fähigkeit von *Proteus* zur Ureasebildung. Urease führt zur Erhöhung des pH-Wertes im Harntrakt. Dies begünstigt wiederum das Wachstum der Bakterien (25).

Der wichtigste Vertreter aus der Gruppe der *Proteus* ist *P. mirabilis*. Dieser ist für 5% aller ambulant erworbenen Harnwegsinfektionen und 10% aller nosokomialen Infektionen verantwortlich (8, 12, 15).

1.6.4 *Enterobacter cloacae*

Enterobacter cloacae ist ein gramnegatives, begeißeltes Stäbchen. Bakterien dieser Spezies weisen eine starke Tendenz zur Multiresistenz auf (25).

Sie sind für ca. 1,3% aller ambulant erworbenen Harnwegsinfektionen verantwortlich (15).

1.6.5 *Serratia marcescens*

Serratien sind gramnegative, begeißelte Bakterien. Sie kommen in der Natur und gelegentlich auch im Darm oder im menschlichen Respirationstrakt vor.

Serratia marcescens ist der wichtigste Vertreter dieser Gruppe. Häufige Krankheiten, die durch *S. marcescens* verursacht werden, sind Sepsis, Endokarditiden, Harnwegsinfektionen, Respirationinfektionen, Wundinfektionen oder Meningitiden (25).

1.6.6 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonaden sind gramnegative, begeißelte Stäbchenbakterien. Sie sind Nonfermenter, können also Glukose nicht abbauen. Sie sind weit verbreitet in der Natur und an der aeroben Zersetzung von organischem Material beteiligt.

Pseudomonas aeruginosa ist der relevanteste Vertreter der Gruppe der Pseudomonaden. Als Feuchtkeim mit ausgeprägter intrinsischer Resistenz gegen β -Laktam-Antibiotika gilt er als einer der Problemkeime in der Klinik. Generell verursachen Pseudomonaden meist Hautinfektionen, Wundinfektionen, Ohrinfektionen nach Wasserexposition oder ulzerative Keratitiden bei Kontaktlinsenträgern. In der Intensivmedizin ist vor allem die nosokomiale Lungeninfektion mit *Pseudomonas aeruginosa* bei Beatmungspatienten

hervorzuheben. Diese ist mit einer hohen Letalität assoziiert. Weitere schwerwiegende Krankheitsbilder sind Sepsis oder Meningitiden. Problematisch sind Pseudomonaden vor allem auch bei katheterassozierten Infektionen (25).

Pseudomonas aeruginosa ist für ca. 1% aller Harnwegsinfektionen verantwortlich (12).

1.6.7 *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii ist ein gramnegatives Stäbchenbakterium. Aufgrund der fehlenden Begeißelung ist es, genau wie *Klebsiella pneumoniae*, nicht beweglich.

Wie auch Pseudomonaden sind *Acinetobacter* Nonfermenter. Es kommt ubiquitär sowohl in der Umwelt als auch auf Haut und Schleimhäuten vor. Dadurch ist es ein klassischer fakultativ pathogener Erreger, der vor allem bei immunsupprimierten Patienten Infektionen verursacht. Zu diesen gehören vor allem nosokomiale Infektionen, beispielsweise beatmungsassoziierte Lungeninfektionen oder katheterassozierte Infektionen (25).

1.6.8 *Citrobacter freundii*

Citrobacter freundii ist ein fakultativ humanpathogenes Bakterium. Es ist ein seltener Erreger von, meist nosokomialen, Harnwegsinfektionen.

1.6.9 *Morganella morganii*

Morganella morganii ist ein Verursacher opportunistischer Infektionen. Auch er ist ein seltener Erreger von, meist katheterassozierten, Harnwegsinfektionen.

1.7 Substanzauswahl

1.7.1 Die Geschichte pflanzlicher Stoffe zur Behandlung von Harnwegsinfektionen

Die Behandlung von Krankheiten mit pflanzlichen Stoffen hat eine jahrtausende alte Tradition (26). Schon lange, bevor die bakterielle Genese von Harnwegsinfektionen festgestellt wurde, wurden diese mit Phytotherapeutika behandelt. Im Jahre 3000 v.Chr. wurden in China und circa ein Jahrtausend später im Alten Ägypten im Papyrus Ebers die ersten pflanzlichen Stoffe zur Behandlung von Dysurie beschrieben (27). Seit dem Aufkommen der Antibiotika haben andere antibakterielle Stoffe an Relevanz verloren. Mit den in 1.1 erwähnten Zukunftsprognosen durch Antibiotikaresistenzen gewinnen alternative antibakterielle Stoffe wieder an Bedeutung. Zu diesen gehören auch diverse Phytotherapeutika, von denen einige in dieser Arbeit behandelt wurden. So wird in der aktuellen S3-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Urologie zur

Behandlung von Harnwegsinfekten bei Frauen mit häufig rezidivierenden Zystitiden die Einnahme von Phytotherapeutika empfohlen (15).

In dieser Arbeit wurde sich auf die folgenden Substanzen fokussiert.

1.7.2 Senföle

Die Senföle, auch Isothiocyanate genannt, Allylisothiocyanat (AITC), Benzylisothiocyanat (BITC) und Phenylisothiocyanat (PITC) werden aus Senfölglycosiden, den inaktiven Vorstufen der Senföle, bei Verletzung des pflanzlichen Gewebes durch das Enzym Myrosinase hydrolysiert. Dieser Mechanismus gehört zur natürlichen Schädlingsbekämpfung von Pflanzen.

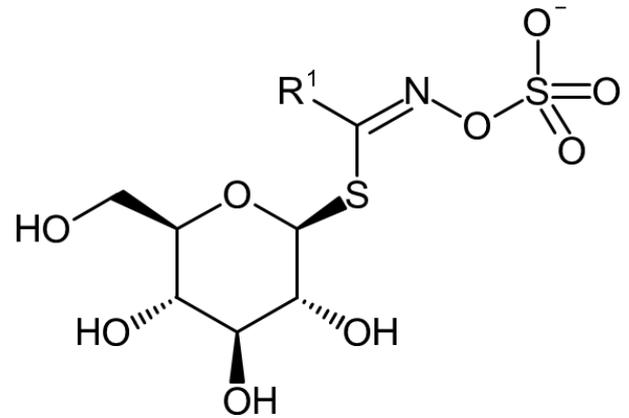


Abbildung 1: Senfölglycosid

In der Lebensmittelindustrie werden Senföle schon länger eingesetzt. Sie haben nicht nur antibakterielle Eigenschaften, sondern zeigen auch Wirkung gegen Pilze (28-31). Für Isothiocyanate wurden wachstumshemmende Eigenschaften nicht nur für grampositive und gramnegative Bakterien beschrieben, sondern interessanterweise zeigte sich auch eine Wirksamkeit gegen Antibiotika-resistente Bakterien (28, 30-32).

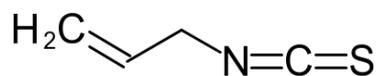


Abbildung 2: Allylisothiocyanat

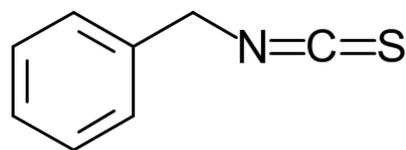


Abbildung 3: Benzylisothiocyanat

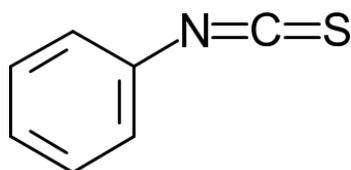


Abbildung 4: Phenylisothiocyanat

1.7.3 Rosmarin (*Rosmarinus officinalis*)

Die Pflanze Rosmarin gehört der Familie der Lamiaceae an. Pflanzen dieser Gattung, so beispielsweise auch Thymian und Salbei, werden in der Lebensmittelindustrie und vielen anderen Bereichen genutzt. Rosmarin hat antioxidative und antimikrobielle Wirkungen (33).

Auch in der Medizin wird Rosmarin schon länger eingesetzt. So wird ihm ein hepatoprotektiver Effekt zugeschrieben (34). Des Weiteren hat Rosmarin

antidiabetische, schmerzlindernde, antientzündliche, antiangiogene und antithrombotische Eigenschaften (35-38). Es konnte gezeigt werden, dass Rosmarin den neuronalen Zelltod aufhält (39). Deswegen wird Rosmarin ein therapeutischer Nutzen für neuronale Erkrankungen, wie beispielsweise Alzheimer oder Parkinson, zugeschrieben (38, 39).

Die Europäische Arzneimittel-Agentur hat eine Empfehlung ausgesprochen, dass Rosmarinöl für dyspeptische Beschwerden, leichte Bauchkrämpfe, leichte Muskel- und Gelenksbeschwerden und geringe periphere Durchblutungsstörungen als Therapeutikum verabreicht werden kann (40).

Diese Wirkungen lassen sich vor allem auf bestimmte Bestandteile von Rosmarin zurückführen. Zu diesen gehören Carnosol, Carnosolsäure, Ursolsäure, Rosmarinsäure und Kaffeesäure (34, 41). Diese bestehen vor allem aus Phenolverbindungen (33).

1.7.4 Liebstöckel (*Levisticum officinale*)

Liebstöckel, zur Familie der Apiaceae gehörend, wird schon seit hunderten von Jahren aufgrund der diuretischen, spasmolytischen, anti-inflammatorischen und verdauungsfördernden Eigenschaften in der Medizin eingesetzt (42, 43). Diesen Eigenschaften liegen viele bioaktive Verbindungen zugrunde. Zu diesen gehören neben essentiellen Ölen auch die unter 1.7.3 schon erwähnten Phenolverbindungen (43).

1.7.5 Proanthocyanidine

Proanthocyanidine sind einer der Hauptbestandteile von Cranberrys. Diese werden in der Volksmedizin schon sehr lange als Prophylaxe bei wiederkehrenden Harnwegsinfektionen und auch zur Infektionstherapie selbst empfohlen und eingenommen. Proanthocyanidine hemmen *in vitro* Typ 1- und P-Fimbrien uropathogener *E. coli* (44). Dadurch wird die Fähigkeit zur Anheftung an das Urothel gehemmt.

1.7.6 D-Mannose

In der aktuellen Interdisziplinären S3 Leitlinie zur Epidemiologie, Diagnostik, Therapie, Prävention und Management unkomplizierter, bakterieller, ambulant erworbener Harnwegsinfektionen bei erwachsenen Patienten der Deutschen Gesellschaft für Urologie e.V. wurde festgelegt, dass die Einnahme von Mannose bei häufig rezidivierender Zystitis bei weiblichen Patienten erfolgen kann (15). D-Mannose hemmt Typ 1-Fimbrien uropathogener *E. coli* und vermindert damit, genau wie Proanthocyanidine, die Adhäsionsfähigkeit der Bakterien.

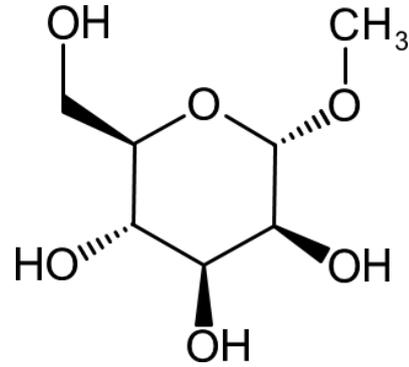


Abbildung 5: Methyl- α -D-mannopyranoside

1.8 Pathogenitätsfaktoren

1.8.1 Virulenzfaktoren

Wie in 1.6.1 erwähnt kommt *Escherichia coli*, der häufigste Erreger von Harnwegsinfektionen, physiologisch vor allem im Darm vor. Damit ein Bakterium die intestinale Nische verlassen und andere Bereiche kolonialisieren kann, benötigt es Eigenschaften, die ihm dies ermöglichen. Diese Virulenz- oder Pathogenitätsfaktoren schaffen die Möglichkeit zur Adaption von Bakterien an ein neues Habitat. Im Zuge dessen erlangen die Enterobakterien pathogenes Potenzial und können extraintestinale Infektionen, wie beispielweise Harnwegsinfektionen, verursachen.

Es gibt viele verschiedene Virulenzfaktoren. In dieser Arbeit wurde sich auf die Anhaftungsfähigkeit, Fortbewegungsfähigkeit und das Wachstum der Bakterien fokussiert.

1.8.1.1 Adhäsion

Einer der wichtigsten Faktoren, der Bakterien die Kolonisation des Urogenitaltraktes erleichtert, ist die Adhäsionsfähigkeit an das Urothel. In uropathogenen *E. coli* gibt es eine Vielzahl von Fimbrien zur Adhäsion (45). Hier hervorzuheben sind die Typ 1- und P-Fimbrien. Typ1-Fimbrien befinden sich bei 89-95% aller uropathogenen *E. coli* (44). Diese können durch D-Mannose gehemmt werden (46). Dadurch können die Bakterien nicht mehr über Typ 1-Fimbrien an das Urothel haften.

P-Fimbrien sind vor allem in uropathogenen *E. coli*, die Pyelonephritiden und damit komplizierte Harnwegsinfektionen verursachen (47). Sie sind D-Mannose resistent (47).

Das Festsetzen der *E. coli* an das Urothel erfolgt, bevor die Bakterien in die Urothelzellen eintreten und sich dort vermehren können (48).

1.8.1.2 Motilität

Ein weiterer wichtiger Faktor, der zur Virulenz von Bakterien beiträgt, ist die Fähigkeit, sich fortzubewegen. Einige uropathogene Bakterien besitzen Flagellen, mit denen sie sich fortbewegen können. Mehr als 95% aller Harnwegsinfekte sind aufsteigende Harnwegsinfekte (49). Das heißt, die Bakterien bewegen sich über die Harnröhre in die Harnblase und eventuell in die Nierenbecken. Durch die Motilität haben Bakterien mit Flagellen, verglichen mit Bakterienstämmen, die keine Flagellen haben, eine höhere Virulenz (50). Dadurch können sie im Urogenitaltrakt aszendieren (51). Es konnte aufgezeigt werden, dass durch Flagellen vermittelte Motilität uropathogene *E. coli* leichter in den oberen Urogenitaltrakt gelangen und sich im Körper verteilen können (51).

Flagellen spielen nicht nur in der Bewegungsfähigkeit der Bakterien eine Rolle. So konnte nachgewiesen werden, dass sie auch ihren Teil zur Adhäsion, Biofilmbildung und Invasion der Epithelzelle beitragen (52).

1.8.1.3 *Quiescent intracellular reservoirs*

Selbst nach Behandlung und Ausheilen des Infektes können die Bakterien weiterhin intrazellulär als „quiescent intracellular reservoirs (QIRs)“ persistieren (53). Durch die Zellmembran sind sie besser vor der Abwehrreaktion des Körpers und vor medikamentösen Therapien geschützt.

Bei Austreten der Bakterien aus der Epithelzelle kann es dann zu einem rezidivierenden Harnwegsinfekt mit demselben Klon führen (53). Phytotherapeutika können aufgrund der geringeren Nebenwirkungsrate, im Vergleich zur antibiotischen Prophylaxe, über längere Zeiträume eingenommen werden. Dadurch lässt sich der rezidivierende Harnwegsinfekt frühzeitig unterbinden.

1.9 Anwendungsmöglichkeiten

1.9.1 Medizinische Anwendungsmöglichkeiten

Alternative Therapieansätze können einen Paradigmenwechsel in der Behandlung von Harnwegsinfektionen darstellen. Wie schon im Kapitel 1.5 erwähnt, gibt es erste Studienergebnisse, in denen antimikrobielle Verbindungen gleichwertig mit antibiotischen Therapien sind. In Zukunft könnten diese vor allem auch als supportive

Therapie, in Kombination mit Antibiotika, genutzt werden. Beispielsweise zeigen Isothiocyanate, im Kapitel 0 dargestellt, auch Wirkung gegen antibiotikaresistente Bakterien und könnten so als Zusatz zu Antibiotika von Nutzen sein.

Weitere Anwendungsmöglichkeiten sind die Prophylaxe bei rezidivierenden Harnwegsinfektionen, als auch bei ausreichender Wirkung des Phytotherapeutikums die Monotherapie. Da bestimmte Phytotherapeutika auf verschiedene Bakterien unterschiedlich ansprechen, könnte nach ausreichender Diagnostik ein erregensorientiertes Einsetzen im Rahmen eines multimodalen Therapiekonzeptes stattfinden.

Der Nutzen von antimikrobiellen Verbindungen beschränkt sich aber nicht nur auf die Behandlung urogenitaler Infektionen. Diese könnten noch in einem sehr breiten Spektrum der Medizin Verwendung finden. So werden generell antimikrobielle Verbindungen gesucht, die beispielsweise bei der Beschichtung von Kathetern eingesetzt werden können, um nosokomiale Infektionen vorzubeugen.

1.9.2 Anwendungsmöglichkeiten außerhalb der Medizin

Natürlich ist die Anwendung antimikrobieller Verbindungen schon jetzt nicht nur auf die Medizin beschränkt. So kommen pflanzliche Stoffe, wie beispielsweise Rosmarin, aufgrund ihrer antimikrobiellen und antioxidativen Eigenschaften in der Lebensmittelindustrie zum Einsatz.

1.10 Ziel der Arbeit

Die vorliegende Promotionsschrift beschäftigt sich mit alternativen medikamentösen Methoden zur Behandlung und Prophylaxe von Harnwegsinfektionen.

Ziel dieser Arbeit ist es im Sinne einer Antivirulenz-Therapie, den Einfluss ausgewählter antimikrobieller Substanzen, die in der Klinik gegebenenfalls bei der Behandlung von Harnwegsinfektionen prophylaktisch oder supportiv zu gängigen Behandlungsmethoden angewendet werden können, auf infektionsrelevante Eigenschaften der wichtigsten uropathogenen Bakterien zu untersuchen.

Zunächst wurde eine für Harnwegsinfektionen repräsentative Stammsammlung klinischer Isolate unterschiedlicher Spezies erstellt. Diese wurden im Rahmen von komplizierten und unkomplizierten Harnwegsinfektionen isoliert. Daraufhin wurden folgende Verbindungen evaluiert: verschiedene Derivate von Senfölen (Thiocyanaten), Rosmarinextrakt, Liebstöckel, Proanthocyanidine (Cranberry) und zu Teilen D-Mannose.

Es wurden die Minimalen Hemmkonzentrationen der Phytotherapeutika auf die verschiedenen Isolate bestimmt. Durch Schwärmversuche wurde die Motilität unter Substanzeeinfluss beschrieben. Agglutinationsversuche wurden durchgeführt, um das Adhäsionsverhalten in mit antimikrobiellen Substanzen versetzten Milieu zu untersuchen.

Auf die in dieser Studie gewonnenen Ergebnisse können weitere Forschungsarbeiten aufbauen.

2 Material und Methoden

2.1 Materialien

2.1.1 Bakterien

Insgesamt wurden für diese Arbeit 30 Isolate verschiedener gramnegativer Bakterienspezies genutzt.

Unter den für *E. coli* ausgewählten Bakterien sind auch die Isolate NU14 und CFT073. NU14 und CFT073 sind klinische Zystitis- bzw. Pyelonephritis-Isolate, die vor allem für Studienzwecke genutzt werden (54, 55).

Die eingesetzten Bakterien wurden aus Urinproben von Patienten mit Harnwegsinfektionen in der Diagnostik des Max-von Pettenkofer-Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München isoliert.

Für die Dauer der Versuche wurden die Bakterienstämme wöchentlich neu auf Blutagar ausgestrichen. Die Bakterienspezies wurden im Verlauf mit MALDI-TOF-Massenspektrometrie kontrolliert.

2.1.2 Phytotherapeutika

In folgender Tabelle sind die für diese Arbeit genutzten Substanzen aufgelistet.

Tabelle 2: Substanzen

Substanz	Cas-Nummer	Hersteller
4,5-Dimethyl-3-hydroxy-2,5-dihydrofuran-2-on	28664-35-9	Sigma-Aldrich, Darmstadt, Deutschland
Rosemary oil	8000-25-7	Sigma-Aldrich, Darmstadt, Deutschland
Allyl isothiocyanate	57-06-7	Sigma-Aldrich, Darmstadt, Deutschland
Benzyl isothiocyanate	622-78-6	Sigma-Aldrich, Darmstadt, Deutschland
Phenyl isothiocyanate	103-72-0	Sigma-Aldrich, Darmstadt, Deutschland
Grape Seeds Oligomeric Proanthocyanidins	222838-60-0	Sigma-Aldrich, Darmstadt, Deutschland
Methyl-α-D-mannopyranoside	617-04-9	Sigma-Aldrich, Darmstadt, Deutschland

2.1.3 Medien/Chemikalien

In der folgenden Tabelle sind die für diese Arbeit genutzten Nährmedien und Chemikalien aufgelistet.

Tabelle 3: Medien/Chemikalien

		Hersteller
BD Columbia Agar with 5% sheep blood		Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland
PBS	Product-Nr.: P04-36500	PAN Biotech, Aidenbach, Deutschland
Dimethylsulfoxid	CAS-Nr.: 67-68-5	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Bactoagar	CAS-Nr.: 9002-18-0	Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland
Hefeextrakt Pulver	CAS-Nr.: // 103303	MP Biomedicals, Eschwege, Deutschland

Bacto-Trypton	CAS-Nr.: // 211699	Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland
----------------------	--------------------	--

2.1.4 Ausstattung

In der folgenden Tabelle sind die für diese Arbeit genutzten Geräte, Utensilien und die Ausstattung des Labors aufgelistet.

Tabelle 4: technische Ausstattung

Geräte	Name/Hersteller
Mikroplatten-Reader	TriStar LB941, Berthold Technologies GmbH & Co. KG, Bad Wildbad, Deutschland
Photometer	Ultrospec3100pro, General Electric, Amersham Biosciences, Frankfurt am Main, Deutschland
MALDI-TOF MS	Microflex LT Tischgerät mit Stickstofflaser, Bruker Daltonics GmbH & Co. KG, Bremen, Deutschland
Automatisiertes Identifikations- und Empfindlichkeits- Testsystem	Phoenix 100, Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland
Mikroskop	Type 020-503.030, Ernst Leitz Wetzlar GmbH, Wetzlar, Deutschland
Inkubator	Hereus T12, Hereus GmbH, Hanau, Deutschland
Schüttler und Rührer Werkbank	RS-VA10, Phoenix Instrument GmbH, Garbsen, Deutschland
Inkubationsschüttler	Sartorius Certomat R, Sartorius GmbH, Göttingen, Deutschland
Halbmikrowaage	Sartorius BP61, Sartorius GmbH, Göttingen, Deutschland
Waage	Präzisionswaage 440-33N, KERN & SOHN GmbH, Balingen, Deutschland
Multipipette	Eppendorf Research, Eppendorf SE, Hamburg, Deutschland

Pipetten	Eppendorf Research, Eppendorf SE, Hamburg, Deutschland
Küvetten	Halbmikroküvette, Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Österreich
Erlenmeyerkolben	250 mL Erlenmeyerkolben mit Schikanen, DWK Life Sciences GmbH, Wertheim, Deutschland
96-Well Mikrotiterplatten	Cellstar, Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Österreich
Kühlschrank	Profi Line, Liebherr-International Deutschland GmbH, Biberbach an der Riß, Deutschland
Gefrierschrank	Comfort Line, Liebherr-International Deutschland GmbH, Biberbach an der Riß, Deutschland
Autoklav	Laboklav 160-MSLV; SHP Steriltechnik AG, Detzel Schloß, Deutschland
Dampfsterilisator	VARIOKLAV Dampfsterilisator Typ 500EC; Thermo Electron LED GmbH, Langenselbold, Deutschland
Magnetrührer mit Heizung	RCT Basic, IKA-Werke, Staufen im Breisgau, Deutschland

2.1.5 Software

In folgender Tabelle sind die für diese Arbeit genutzten Programme aufgelistet.

Tabelle 5: Software

Programme	Hersteller
MikroWin2000	Berthold Technologies GmbH & Co. KG, Bad Wildbad, Deutschland
Microsoft Excel Version 2022 Build 16.0.14931.20272	Microsoft, Redmond, Washington, USA
GraphPad Prism 8.4.3	GraphPad Software, San Diego, Kalifornien, USA

Microsoft PowerPoint Version 2208 Build 16.0.15601.20204	Microsoft, Redmond, Washington, USA
Chemograph Plus 6.4	DigiLab Software GmbH, Altenholz, Deutschland

2.2 Herstellung von Medien

2.2.1 Zehnfach LB-Medium

200 g Trypton, 100 g Hefeextrakt, 100 g NaCl wurden in 2 L demineralisiertem H₂O gegeben. Nachdem die Lösung autoklaviert wurde, wurde sie bei Raumtemperatur gelagert. Diese Lösung diente als Stocklösung für das einfach LB-Medium. Nach jeder Entnahme wurde die Stocklösung erneut autoklaviert.

2.2.2 LB-Medium

Um einfach LB-Medium zu erhalten, wurde die oben beschriebene Stocklösung zehnfach LB-Medium zehnfach mit destilliertem H₂O verdünnt und erneut autoklaviert. Das LB-Medium wurde bei Raumtemperatur gelagert.

2.2.3 PBS-Pufferlösung

Zur Herstellung von PBS-Pufferlösung wurden 8 g NaCl, 1,4 g Na₂HPO₄, 0,2 g KH₂PO₄ in 1000 mL H₂O gegeben. Anschließend wurde die Pufferlösung autoklaviert und bei Raumtemperatur gelagert.

2.2.4 Bactoagarplatten

15 g Bactoagar, 100 mL zehnfach LB und 900 mL vollentsalztes Wasser wurden für 1,5%ige Agarplatten vermischt und autoklaviert. Die Lösung wurde erhitzt und mithilfe eines magnetischen Rührstabes verrührt. Unter weiterem Rühren kühlte sich die Lösung auf Handwärme ab. Anschließend wurden die Platten gegossen. Diese wurden bei Raumtemperatur getrocknet und gekühlt gelagert.

Alternativ wurden Columbia Agar mit 5% Schafsblut genutzt.

2.3 Methoden

2.3.1 Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration

Dieser Versuch wurde durchgeführt, um die geringste Konzentration zu finden, bei der kein nennenswertes Bakterienwachstum stattfindet. Hierzu wurden nach definierter

Einsaat in einer 96-Well-Platte das Wachstum der Bakterien unter Substanzeinfluss in verschiedenen Verdünnungsstufen zu einem definierten Zeitpunkt über OD-Messungen quantifiziert.

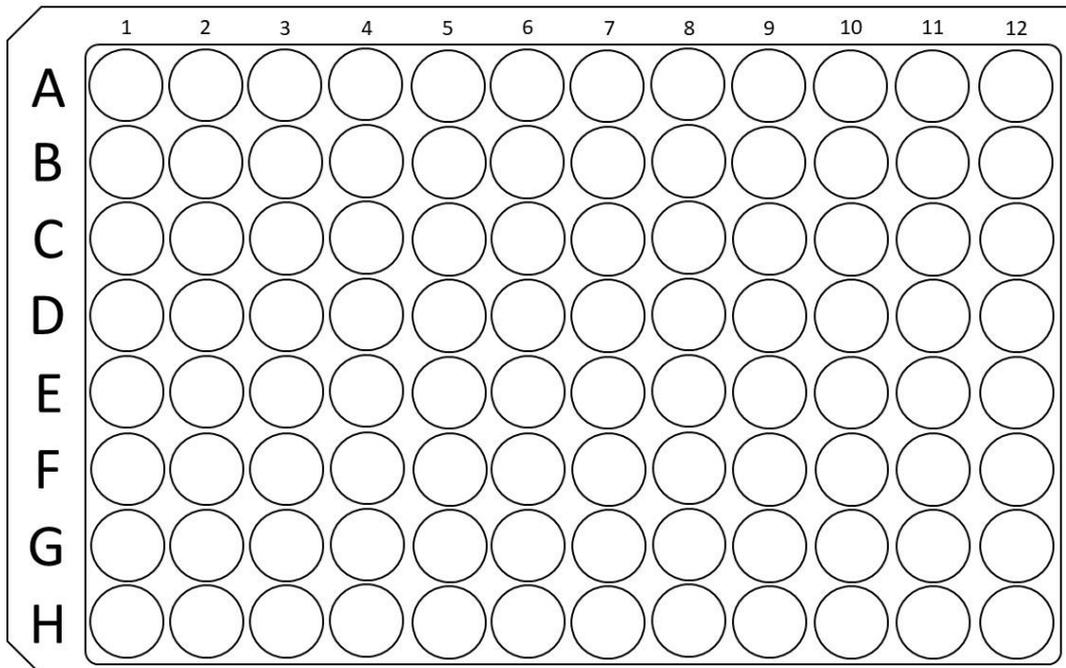


Abbildung 6: Darstellung einer 96 Well Mikrotiterplatte

Am Vortag des Versuches wurde eine Übernachtskultur in 50 mL LB-Medium in einem Erlenmeyerkolben angesetzt. Diese wurde im Schüttelinkubator bei 37°C und 200 rpm über Nacht inkubiert.

In die 96 Well Mikrotiterplatte wurde in die erste Reihe 1 vertikal jeweils 180 μ L PBS-Puffer gegeben. Die restlichen Reihen wurden mit jeweils 100 μ L PBS bestückt. Danach wurden 20 μ L der zu untersuchenden Substanz in Reihe 1 gegeben.

Mithilfe der Multipipette wurden die Wells durchmischt und 100 μ L von der ersten Reihe in die zweite Reihe pipettiert. Danach wurden die Pipettenspitzen abgeworfen. Dies wurde mit jeder einzelnen Reihe wiederholt, bis jeweils 100 μ L Lösung bestehend aus PBS und der zu untersuchenden Substanz in den einzelnen Wells war. Dadurch erreicht man jeweils von Reihe zu Reihe eine Verdünnung um die Hälfte.

Die Übernachtskultur wurde auf eine $OD_{600nm} = 0,1$ mit LB-Medium verdünnt. Die optische Dichte, auch Extinktion genannt, ist ein Maß für die Abschwächung durch Streuung oder Absorption von Licht einer bestimmten Wellenlänge bei Passieren eines Mediums. In jedes Well wurden 100 μ L der verdünnten Bakteriensuspension zugegeben, sodass jedes Well 200 μ L Lösung enthielt.

So erhält man in Well 1 für AITC die Konzentration 5,07 mg/mL, für BITC 5,625 mg/mL und für PITC 5,66 mg/mL, für Rosmarin 45,4 mg/mL und für Liebstöckel die Konzentration 50 mg/mL.

Das Fassungsvermögen der einzelnen Wells liegt bei 400 μ L. Als Kontrollen wurden einzelne Wells ohne Substanzen mit 100 μ L PBS-Puffer und 100 μ L verdünnte Bakteriensuspension genutzt.

Die Platte wurde abgedeckt für 24h im Brutschrank inkubiert. Nach 24h erfolgte die Absorbanz Messung im TriStar LB941 bei $OD_{600nm} = 590nm$ von Berthold Technologies. Vor jeder Messung wurde im TriStar die Platte geschüttelt. Schütteleinstellungen wurden auf „Duration 5s, Speed Slow, Diameter 1.0, Type orbital“ festgelegt. Die Messung erfolgte mit den Einstellungen „Lamp Energy 25000, Counting Time 0.10“.

2.3.2 Wachstumskurven

Dieser Versuch wurde durchgeführt, um das Bakterienwachstum in den ersten Stunden unter Substanzeeinfluss zu untersuchen. Hierzu wurden nach niedriger definierter Einsaat in einem Erlenmeyerkolben die Bakterien zu einem definierten Zeitpunkt über OD-Messungen quantifiziert.

Am Vortag des Versuches wurde eine Übernachtskultur in 50 mL LB-Medium in einem Erlenmeyer Kolben angesetzt. Diese wurde im Schüttelinkubator bei 37°C und 200 rpm über Nacht inkubiert.

Es wurden 4 verschiedene Erlenmeyerkolben vorbereitet mit jeweils 50mL LB-Medium. Ein Kolben enthielt keine Substanz und diente als Kontrollkolben. In die anderen 3 Kolben wurden 50 μ L, 10 μ L und 5 μ L Rosmarin zugegeben, sodass Rosmarinextrakt in Verhältnis von 1:1.000, 1:5.000 und 1:10.000 mit LB-Medium vermischt wurde. Daraus ergeben sich Konzentrationen von 0,98 mg/mL, 0,18 mg/mL und 0,0908 mg/mL.

Die Übernachtskultur wurde auf eine $OD_{600nm} = 1$ verdünnt. Von der verdünnten Übernachtskultur wurden jeweils 5 mL in die vorbereiteten Erlenmeyerkolben gegeben. Diese wurden im Schüttler bei 200 rpm und 37°C inkubiert. Für 240 Minuten wurde alle 20 Minuten die Absorbanz im Photometer gemessen. Sobald die Absorbanz über eine $OD_{600nm} = 1$ gestiegen ist, wurden die Lösungen im Verhältnis 1:10 mit LB-Medium verdünnt, um die Messgenauigkeit des Photometers zu erhöhen.

2.3.3 Schwärmversuche

Dieser Versuch diente dazu, die Beweglichkeit der Bakterien auf fester Agarsubstanz zu beurteilen. Hierfür sind bestimmte Schwärmagarplatten notwendig. Mit diesen kann man die Motilität der Bakterien unter Substanzeinfluss beobachten.

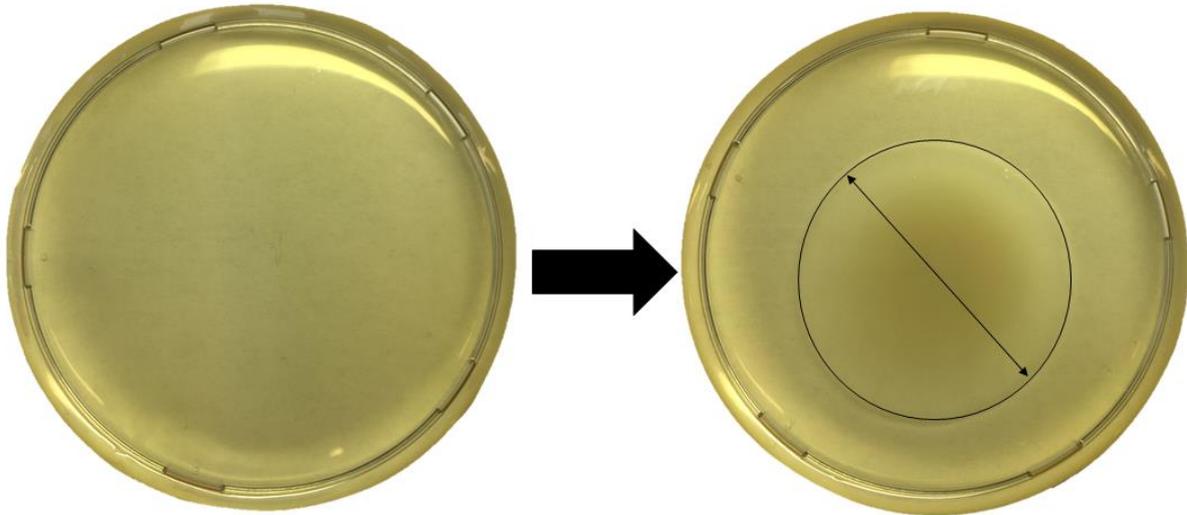


Abbildung 7: Darstellung eines Schwärmversuchs

2.3.3.1 Herstellung der Schwärmagarplatten

3 g Bactoagar, 100 mL zehnfach LB und 900 mL vollentsalztes Wasser wurden für 0,3%igen Schwärmagar vermischt und autoklaviert. Die Lösung wurde erhitzt und mithilfe eines magnetischen Rührstabes verrührt. Unter weiterem Rühren ließ man die Lösung auf Handwärme abkühlen. Daraufhin wurden die Substanzen in die Lösung gegeben. Anschließend wurden die Platten gegossen. Die Platten wurden bei Raumtemperatur mit leicht gekippten Deckeln getrocknet.

Es wurden jeweils 3 verschiedene Konzentrationen pro Substanz evaluiert. AITC wurde in den Konzentrationen 1 mg/mL, 0,1 mg/mL und 0,01 mg/mL getestet. BITC und PITC wurden jeweils, um eine bessere Vermischung mit dem Schwärmagar zu erreichen, in einem Verhältnis von 1 zu 10 in DMSO gelöst. BITC wurde in den Konzentrationen 1,1 mg/mL, 0,1 mg/mL und 0,01 mg/mL getestet. PITC wurde in den Konzentrationen 1,1 mg/mL, 0,1 mg/mL und 0,01 mg/mL getestet. Rosmarinöl wurde in den Konzentrationen 90,8 mg/mL, 9,08 mg/mL und 0,908 mg/mL getestet. Liebstöckel wurde in den Konzentrationen 1 mg/mL, 0,1 mg/mL und 0,01 mg/mL getestet. Proanthocyanidine wurde in den Konzentrationen 0,25 mg/mL, 0,025 mg/ml und 0,0025 mg/mL getestet.

2.3.3.2 Bestimmung der Bakterienmotilität auf Schwärmagarplatten

Am Vortag des Versuches wurde eine Übernachtskultur in 50 mL LB-Medium in einem Erlenmeyer Kolben angesetzt. Diese wurde im Schüttelinkubator bei 37°C und 200 rpm über Nacht inkubiert. Gleichzeitig wurden am Vortag die Schwärmagarplatten vorbereitet und über Nacht getrocknet. Als Kontrolle wurde eine Schwärmagarplatte ohne Substanz genutzt.

Die Übernachtskultur wurde auf eine $OD_{600nm} = 1$ verdünnt. Es wurden jeweils 5 μ L der verdünnten Übernachtskultur auf die Platten gegeben. Anschließend ließ man die Bakterien 30 Minuten auf der Werkbank in den Schwärmagar einziehen, bevor die Schwärmagarplatten in den Inkubator kamen. Ab der 4. Stunde wurde 4-mal in einstündigen Abschnitten der Durchmesser der Bakterien auf der Schwärmagarplatte mit einem Lineal gemessen.

2.3.4 Agglutinationsversuche

Dieser Versuch wurde durchgeführt, um die Anhaftungsfähigkeit der Bakterien an Hefemoleküle zu beurteilen. Die Bakterien binden über FimH an die Mannose-Bindungsstellen der Hefemoleküle. Es wurde untersucht, ob die Substanzen die Bindungsstellen der Bakterien blockieren können.

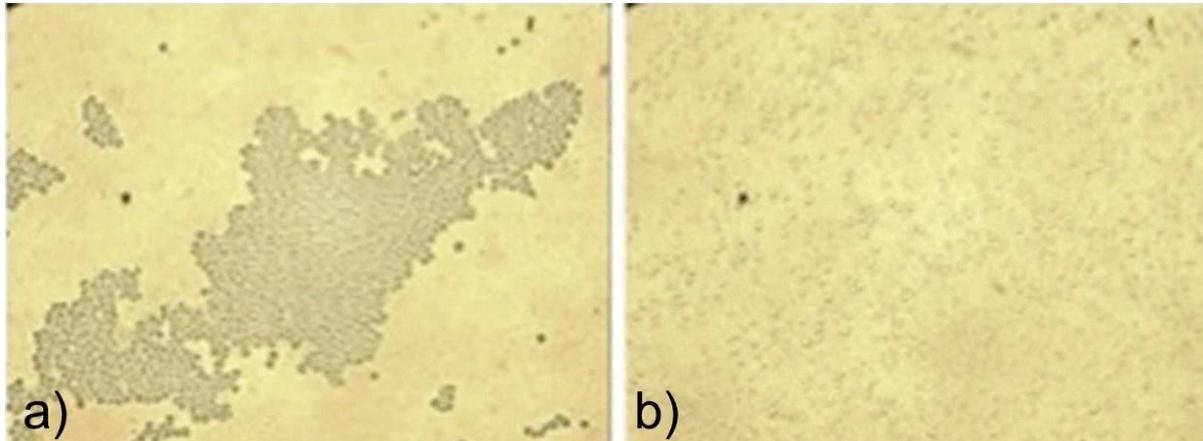


Abbildung 8: Agglutinationsversuche; a) Agglutination b) keine Agglutination (56)

Am Vortag des Versuches wurden die Bakterien auf LB-Agarplatten ausgestrichen und über Nacht bei 37°C inkubiert.

Es wurde eine Stocklösung aus 0,5 g Hefe in 40 mL PBS-Pufferlösung vorbereitet. Als Kontrolllösung wurden 200 μ L mit einer Impföse der Übernachtskultur vermischt. Außerdem wurden 190 μ L PBS, eine Impföse der Übernachtskultur und 10 μ L der jeweiligen Substanz vermischt. Somit wurden hier folgende Konzentrationen genutzt: AITC 50,6 mg/mL, BITC 56,25 mg/mL, PITC 56,6 mg/mL, Rosmarinöl 45,4 mg/mL, Liebstöckel 50 mg/mL und Proanthocyanidine 12,5 mg/mL. Zur Beurteilung des

Adhäsionsverhaltens der Typ 1-Fimbrien wurde ein weiterer Versuch mit 0,2%iger Mannoselösung durchgeführt. Die einzelnen Suspensionen wurden jeweils bis zum vollständigen Durchmischen geschüttelt.

Auf einen Objektträger wurden auf beiden Seiten jeweils 10 µL PBS-Hefesuspension gegeben. Anschließend wurde auf der einen Seite 10 µL Kontrolllösung und auf der anderen Seite 10 µL der PBS-Substanzlösung zugegeben und mit Hilfe der Pipette vermischt. Die Seiten des Objektträgers wurden dementsprechend markiert. Anschließend wurden nach fünf Minuten Deckgläser auf die vermischten Lösungen gesetzt. Mit Immersionsöl wurde unter 40-facher Vergrößerung das Agglutinationsverhalten der einzelnen Bakterienstämme im Vergleich zur Kontrolle beurteilt.

2.3.5 Datenauswertung

2.3.5.1 Auswertung der minimalen Hemmkonzentration

Es wurden die Standardabweichungen der jeweiligen Konzentrationen gebildet. Als minimale Hemmkonzentration wurde die Konzentration definiert, bei der die Standardabweichung keine Überschneidung mit der Standardabweichung der Kontrolle hat.

2.3.5.2 Auswertung der Schwärmversuche

Zur statistischen Auswertung wurde ein Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Verglichen wurden jeweils die Durchmesser der Bakterien auf den Schwärmagarplatten mit der Kontrolle. Als signifikant wurden die Werte angesehen, sobald der P-Wert $< 0,05$ war.

2.3.5.3 Auswertung der Agglutinationsversuche

Die Auswertung der Agglutinationsversuche erfolgte nach mikroskopischer Beurteilung. Die Traubenbildung ist in Abbildung 8: Agglutinationsversuche; a) Agglutination b) keine Agglutination (56) dargestellt.

3 Ergebnisse

3.1 Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentrationen

Die minimalen Hemmkonzentrationen sind von großer Bedeutung, da sie aufzeigen, ab welchen Konzentrationen ein Effekt auf das Wachstum der Bakterien zu erwarten ist. Die im Weiteren aufgeführten Ergebnisse zeigen, dass wir je nach Substanz meist keine einheitlichen speziesübergreifenden Hemmkonzentrationen haben. Vielmehr ist zu erkennen, dass die Antworten auf dieselben Konzentrationen je nach Bakterienart unterschiedlich sind. Da die Bioverfügbarkeit der Substanzen im Urogenitaltrakt quantifiziert werden kann, kann man überprüfen, ob die nötigen Konzentrationen zur Eradikation spezifischer Erreger überhaupt erreicht werden können. Dies könnte dazu führen, dass Therapien in Zukunft individueller gestaltet werden können.

3.1.1 Evaluation des Test-Protokolls

3.1.1.1 Intertestvariabilität

Um die Reproduzierbarkeit der Methode zu überprüfen, wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen die MHK-Werte des *E. coli*-Isolates NU14 bestimmt. Für die Evaluierung der Intertestvariabilität wurden die Kurven zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration der verschiedenen Substanzen des *Escherichia coli*-Isolates NU14 miteinander verglichen. Um eine geringe Intratestvariabilität zu gewährleisten, wurden die Versuche in Triplikaten durchgeführt.

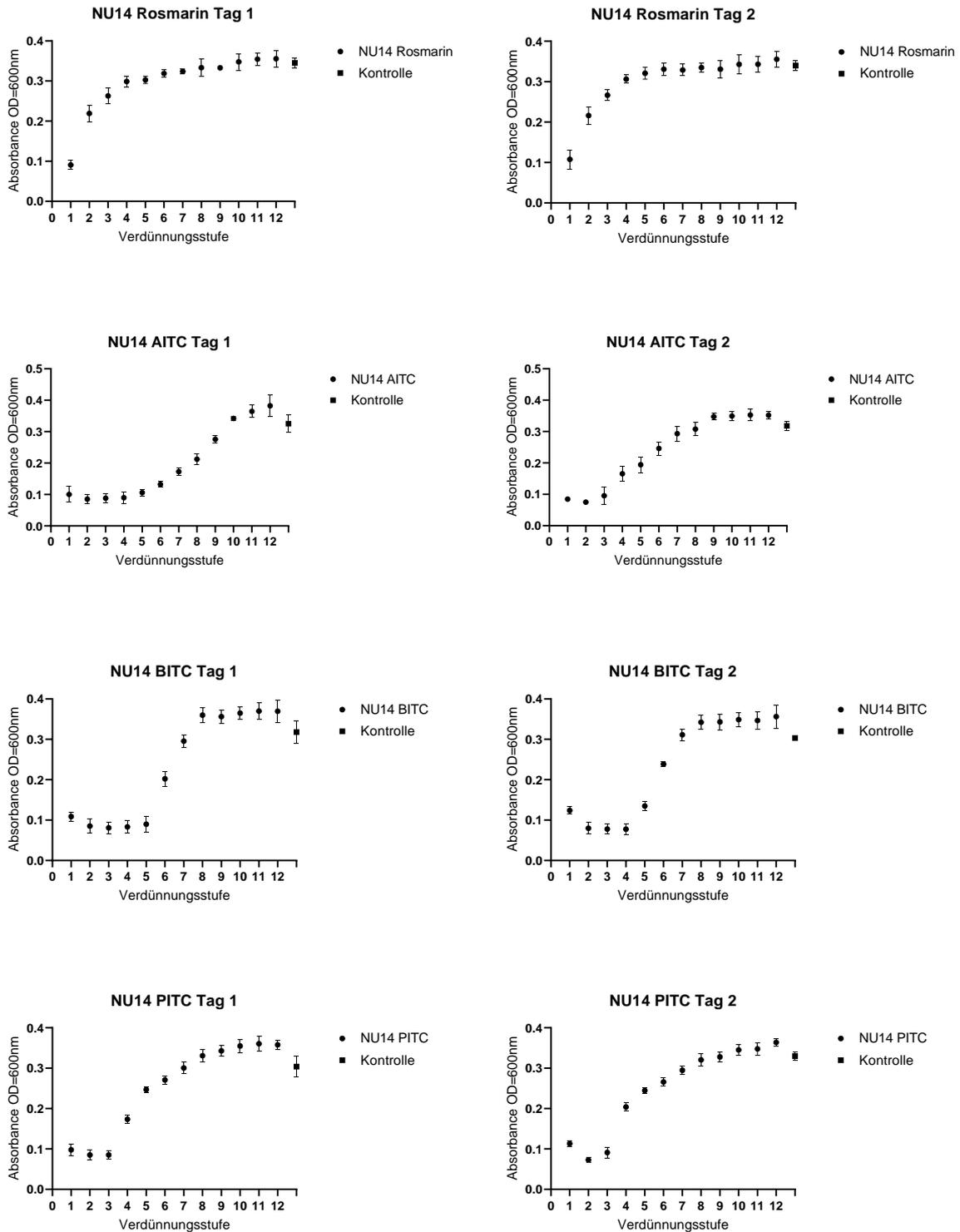


Abbildung 9: Intertestvariabilität

Die Reproduzierbarkeit der Methode zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration konnte anhand dieser Ergebnisse bestätigt werden. So zeigt sich in Abbildung 9, dass die MHKs übereinstimmen und es nur geringe Diskrepanzen der Ergebnisse gibt.

3.1.1.2 Dimethylsulfoxid-Effekte auf das Bakterienwachstum

Isothiocyante und Rosmarin sind Öle. Als Lösungsmittel wurde DMSO verwendet. Zur Überprüfung von möglichen bakteriostatischen oder bakteriziden Effekten von DMSO wurde das Bakterienwachstum unter DMSO-Einfluss in verschiedenen Konzentrationen untersucht. In der ersten Spalte beträgt die DMSO-Konzentration 4,5 %vol..

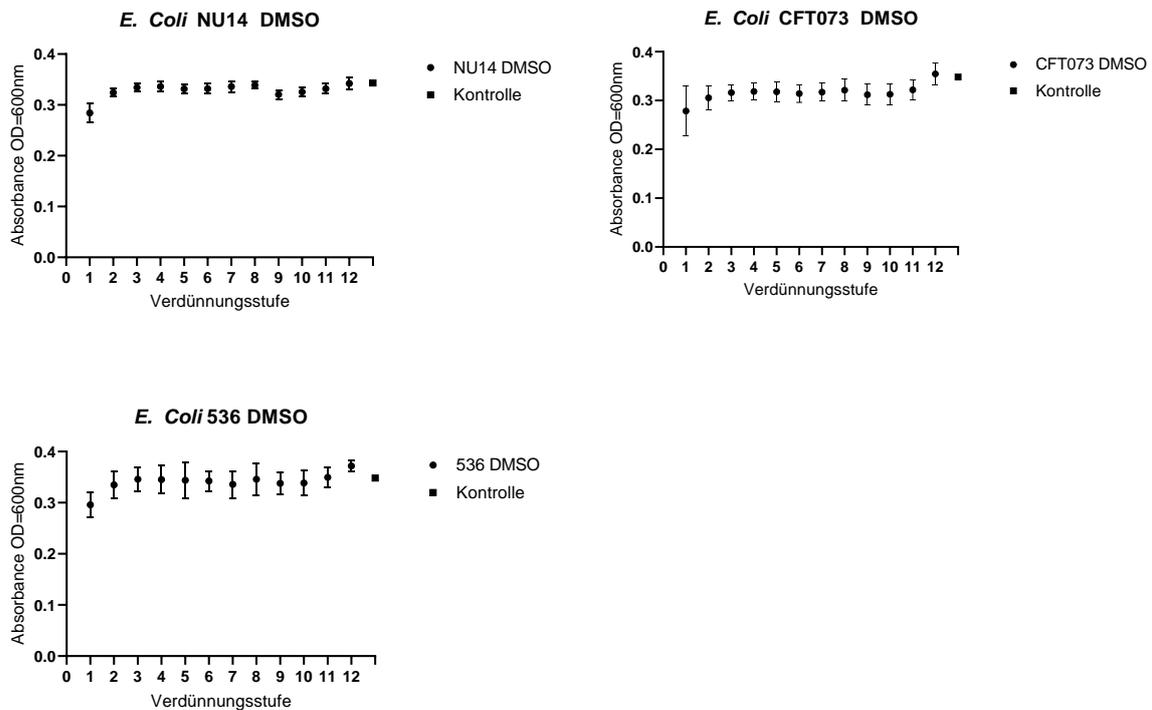


Abbildung 10: DMSO-Effekte auf das Bakterienwachstum

Anhand der Abbildung 10 erkennt man, dass es bei der höchsten Konzentration von 4,5% DMSO im 1. Well der 96-Well-Platte ein vermindertes Bakterienwachstum gibt. Anhand dieses Versuchs lässt sich schlussfolgern, dass die bakterizide Wirkung von DMSO bis auf in der ersten Verdünnungsstufe vernachlässigbar ist (57).

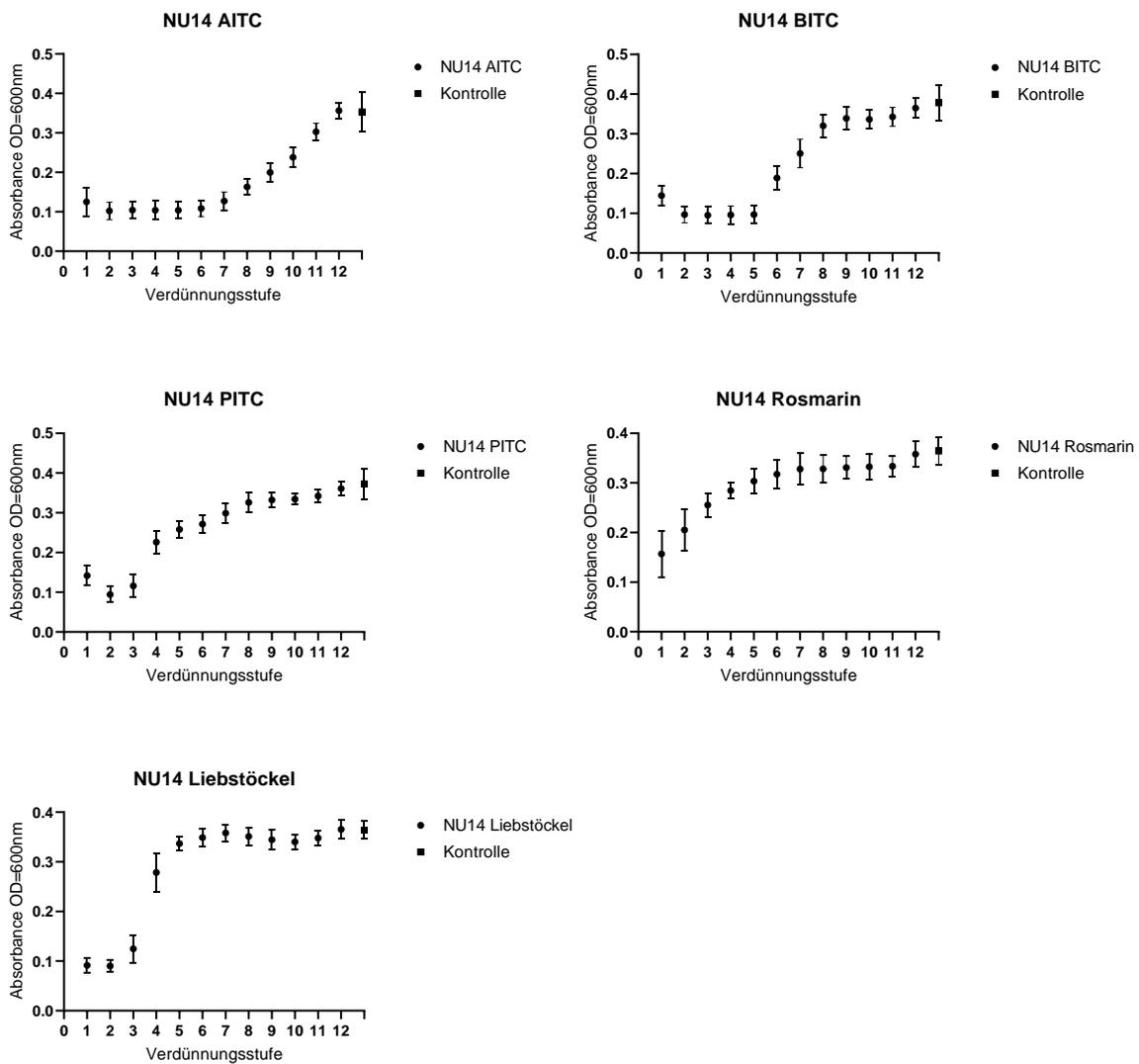
3.1.2 Minimale Hemmkonzentrationen

In den nachfolgenden Absätzen werden die Ergebnisse der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration der verschiedenen antimikrobiellen Substanzen auf die unterschiedlichen Bakterienspezies dargestellt.

3.1.2.1 *Escherichia coli*

Als häufigster Erreger von Harnwegsinfektionen wurde ein besonderes Augenmerk auf *E. coli* gelegt.

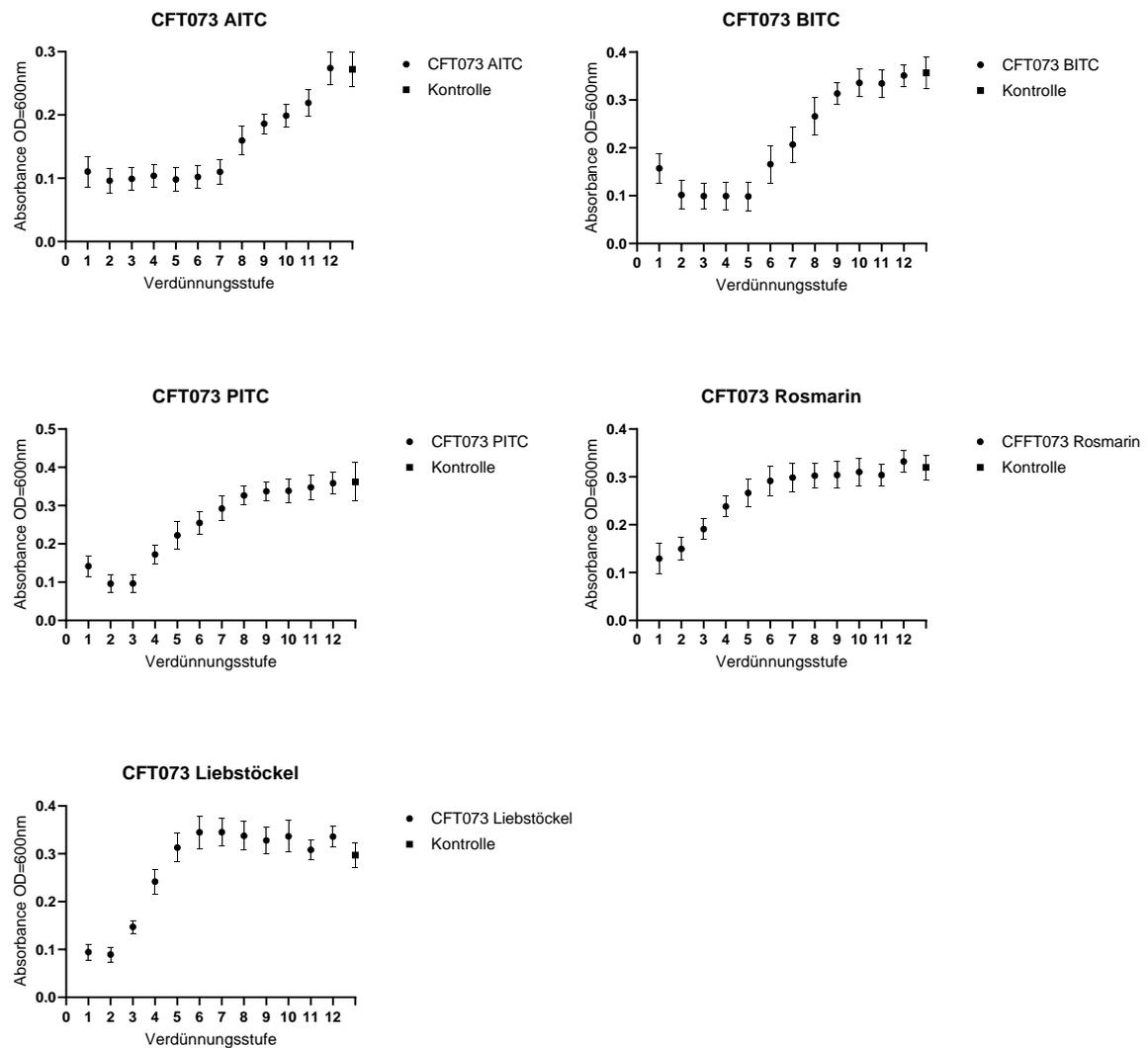
3.1.2.1.1 NU14

Abbildung 11: Minimale Hemmkonzentrationen des *E. coli* Isolates NU14

Das *Escherichia coli* Isolat NU14 ist ein klinisches Zystitis-Isolat, das sehr häufig für Studienzwecke verwendet wird (55). So war NU14 eines der ersten *E. coli* Isolate, bei dem im Mausmodell eine Infektion des Urothels beobachtet und die Rolle von Typ 1-Pili beschrieben werden konnte (58).

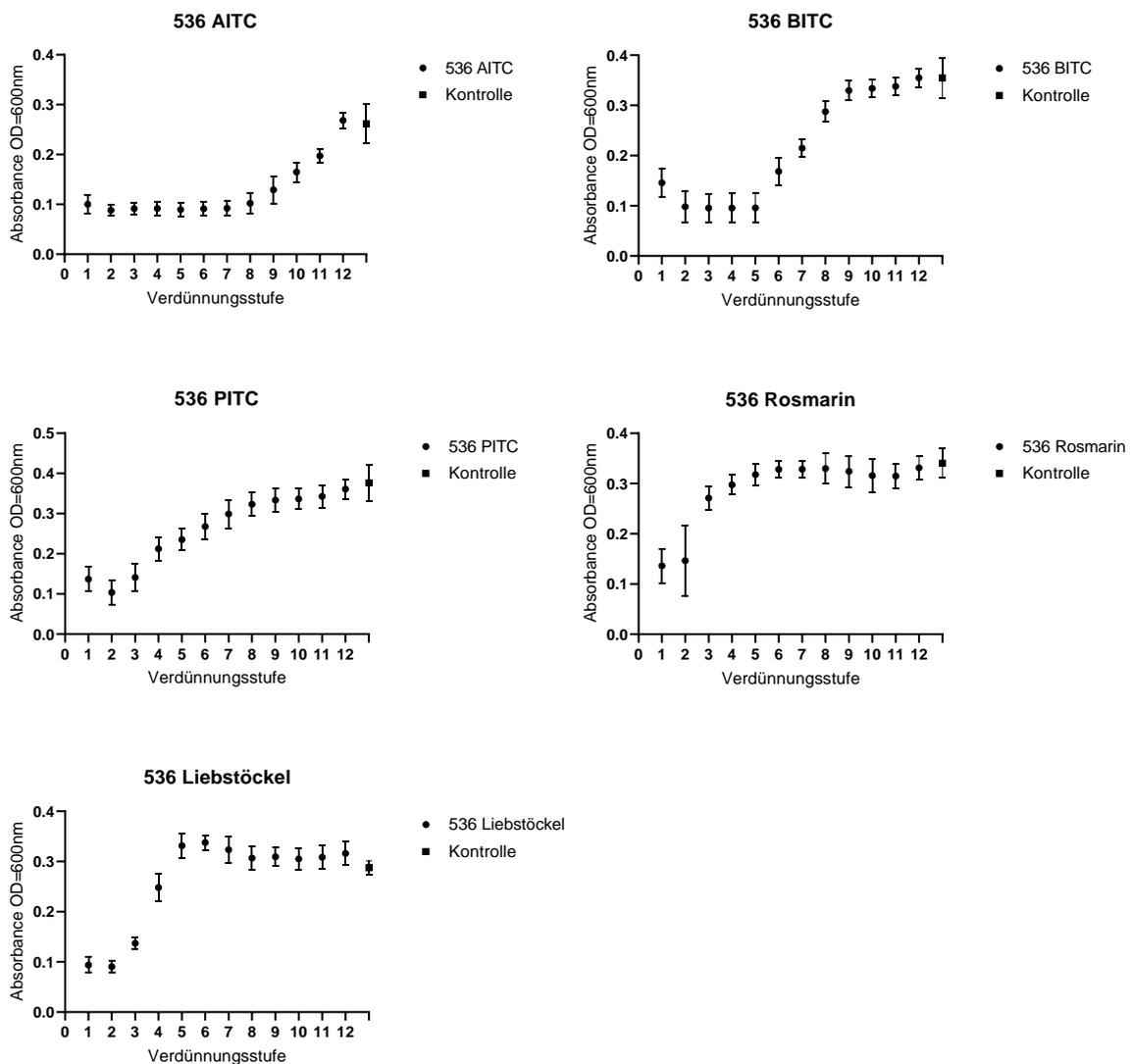
Für NU14 ergaben sich folgende MHK-Werte: AITC 0,01 mg/mL, BITC 0,088mg/mL, PITC 0,088 mg/mL, Rosmarinextrakt 2,838 mg/mL und Liebstöckel 6,25 mg/mL.

3.1.2.1.2 CFT073

Abbildung 12: Minimale Hemmkonzentrationen des *E. coli* Isolates CFT073

Das *Escherichia coli*-Isolat CFT073 ist, genau wie NU14, ein zu Studienzwecken sehr häufig genutztes Bakterium. Für CFT073 ergaben sich folgende MHK-Werte: AITC 0,005 mg/mL, BITC 0,044 mg/mL, PITC 0,177 mg/mL, Rosmarinextrakt 5,675 mg/mL und Liebstöckel 6,25 mg/mL.

3.1.2.1.3 536

Abbildung 13: Minimale Hemmkonzentration des *E. coli* Isolates 536

Das *Escherichia coli* Isolat 536 ist ein klinisches Pyelonephritis Isolat, das sehr häufig für Studienzwecke verwendet wird (59). Für *E. coli* 536 ergaben sich folgende MHK-Werte: AITC 0,005 mg/mL, BITC 0,044 mg/mL, PITC 0,177 mg/mL, Rosmarinextrakt 11,35 mg/mL und Liebstöckel 12,5 mg/mL.

3.1.2.1.4 Vergleich der minimalen Hemmkonzentrationen der verschiedenen

Escherichia coli Isolate

Anhand der oben genannten Ergebnisse erkennt man, dass es geringe Unterschiede der MHK-Werte innerhalb der Spezies *Escherichia coli* gibt. So gibt es bei den meisten Substanzen maximal eine Verdünnungsstufe Differenz zwischen den verschiedenen Isolaten. Nur bei Rosmarinextrakt sind zwischen dem Isolat NU14 und dem Isolat 536 zwei Verdünnungsstufen Unterschied zu erkennen.

Daraus lässt sich schließen, dass sich die minimalen Hemmkonzentrationen innerhalb einer Bakterienspezies ähneln können.

3.1.2.2 *Klebsiella pneumoniae*

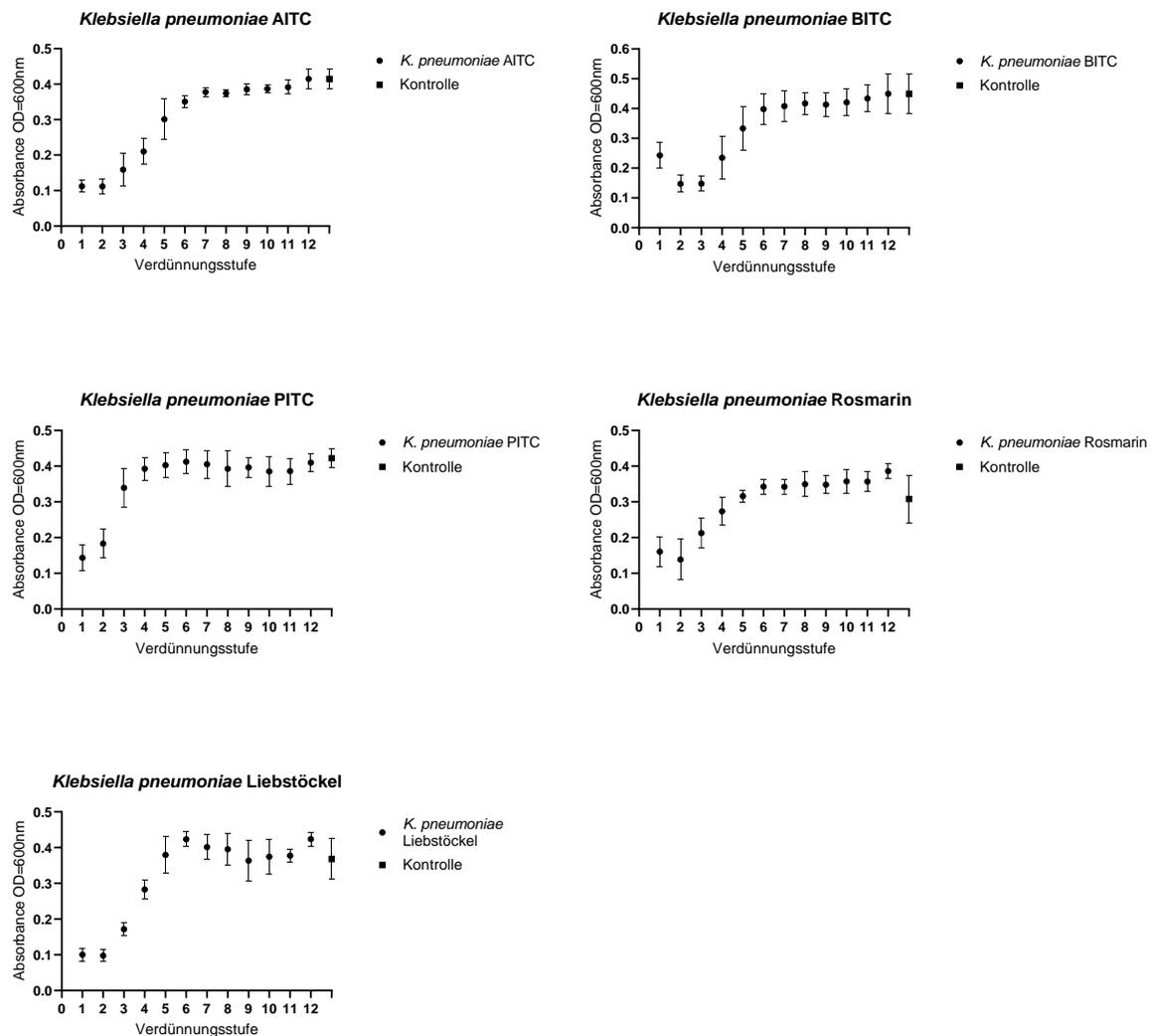
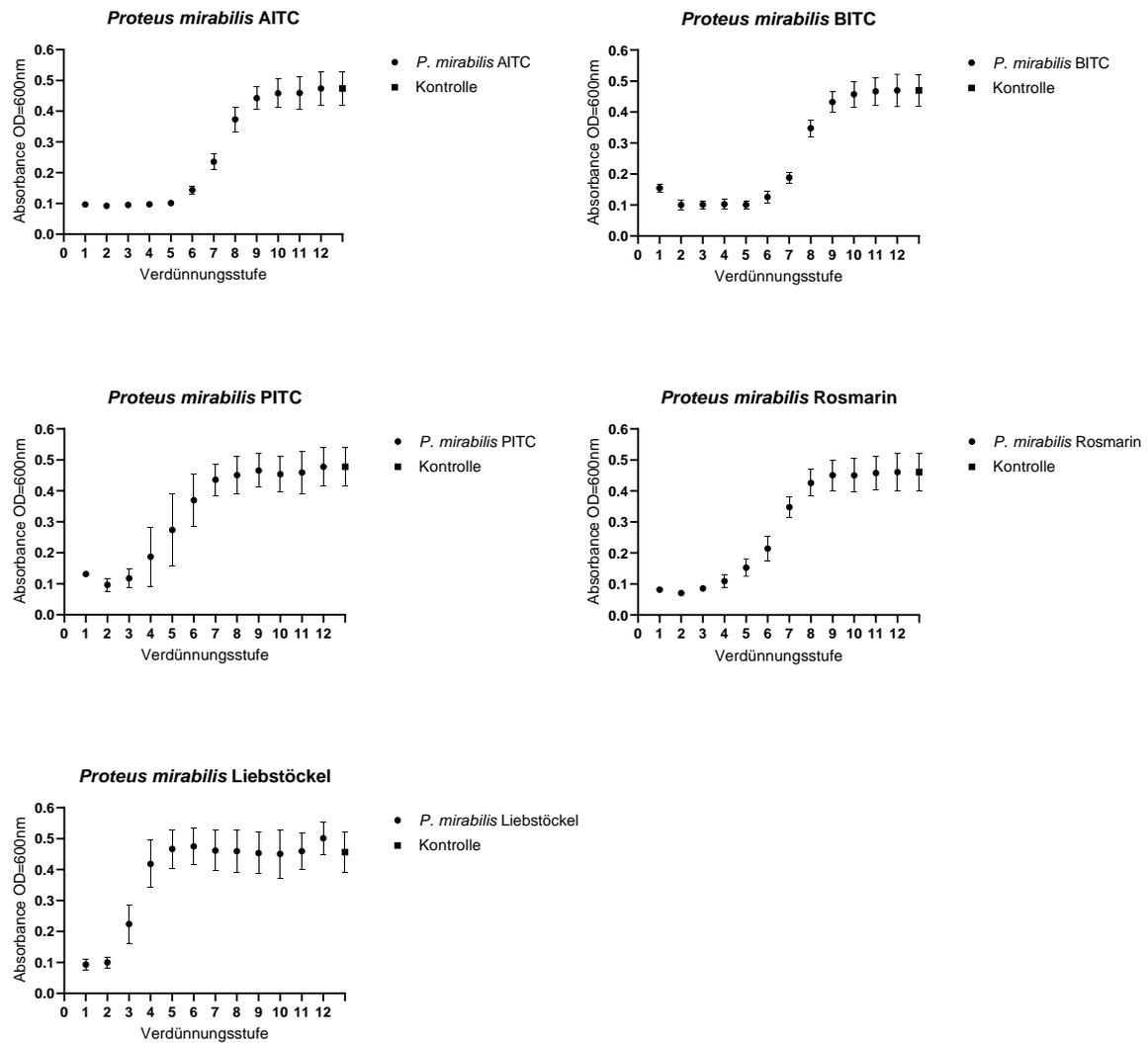
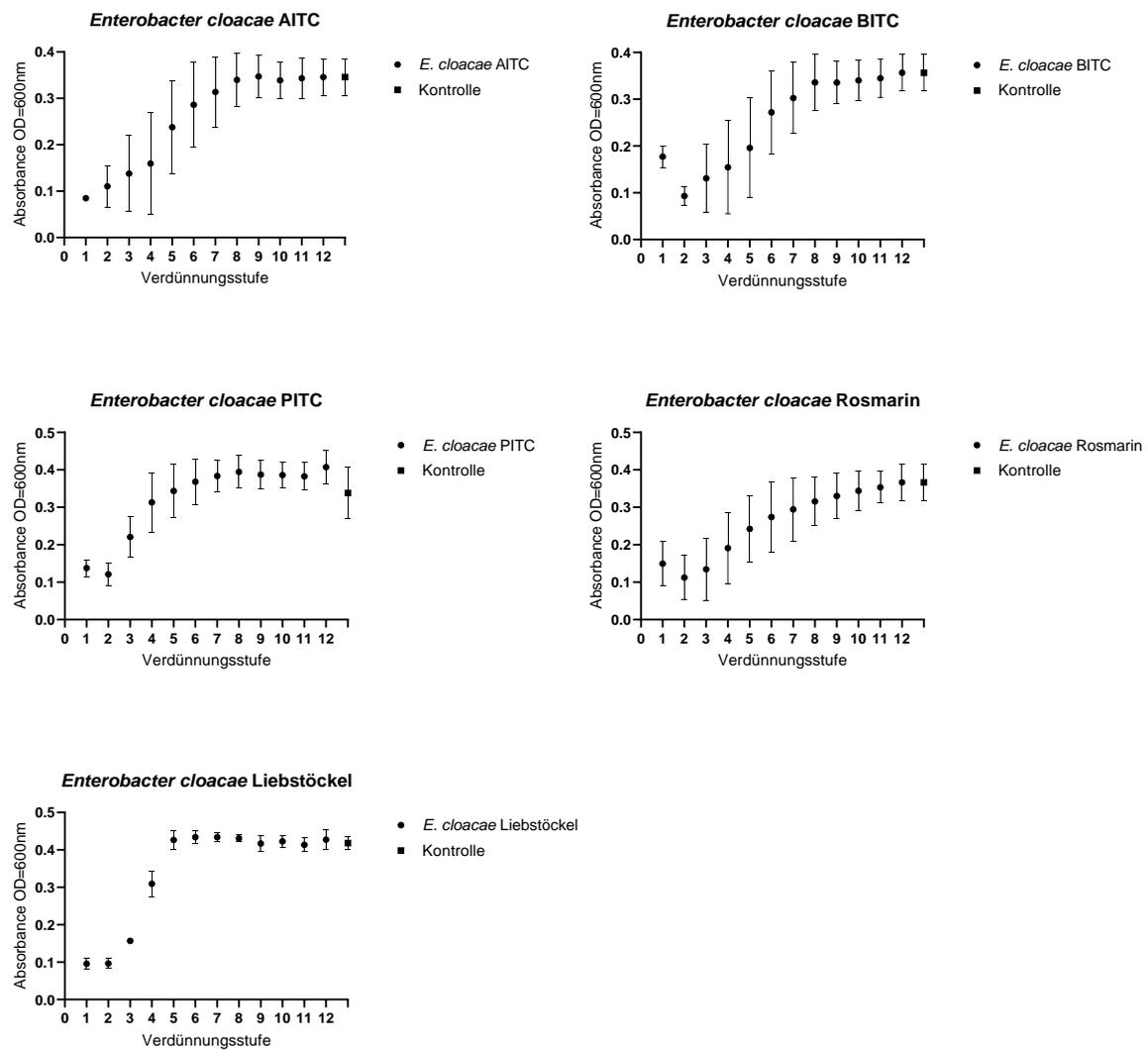


Abbildung 14: Minimale Hemmkonzentrationen von *Klebsiella pneumoniae*

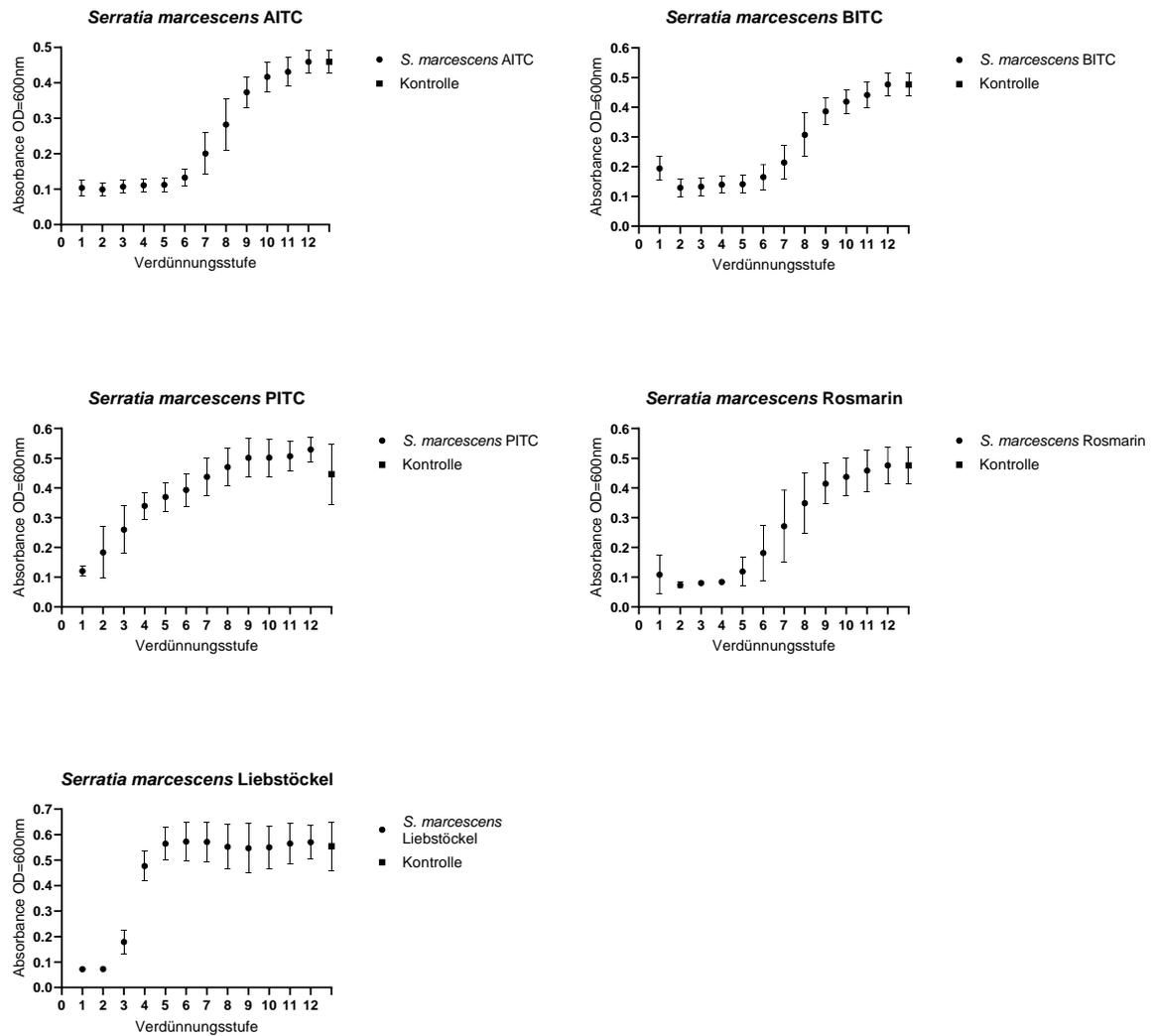
Für *Klebsiella pneumoniae* ergaben sich folgende MHK-Konzentrationen: AITC 0,158 mg/mL, BITC 0,703 mg/mL, PITC 1,415 mg/mL, Rosmarinextrakt 2,838 mg/mL und Liebstöckel 6,25 mg/mL.

3.1.2.3 *Proteus mirabilis*Abbildung 15: Minimale Hemmkonzentrationen von *Proteus mirabilis*

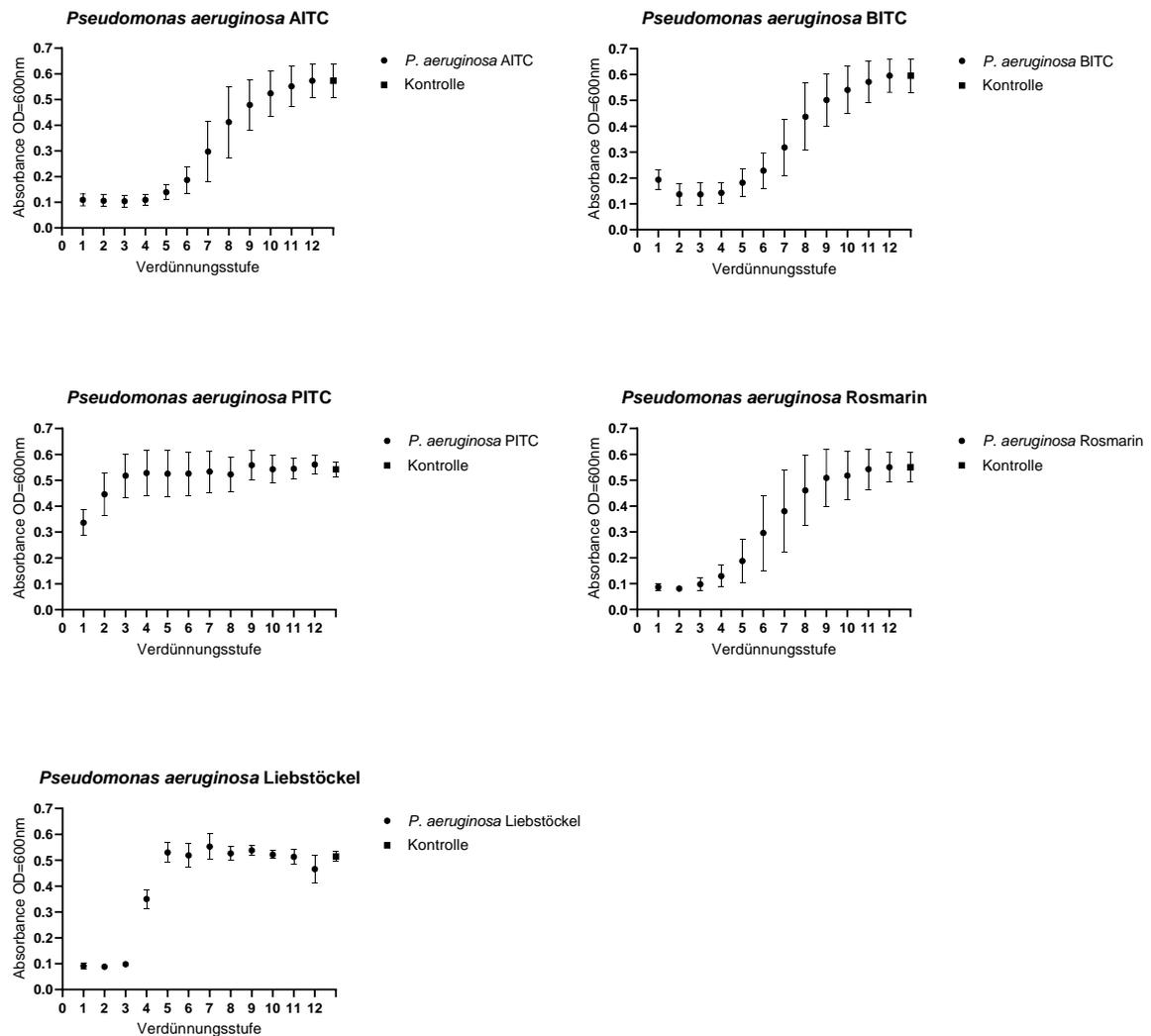
Für *Proteus mirabilis* ergaben sich folgende MHK-Konzentrationen: AITC 0,04 mg/mL, BITC 0,044 mg/mL, PITC 0,354 mg/mL, Rosmarinextrakt 0,709 mg/mL und Liebstöckel 12,5 mg/mL.

3.1.2.4 *Enterobacter cloacae*Abbildung 16: Minimale Hemmkonzentrationen von *Enterobacter cloacae*

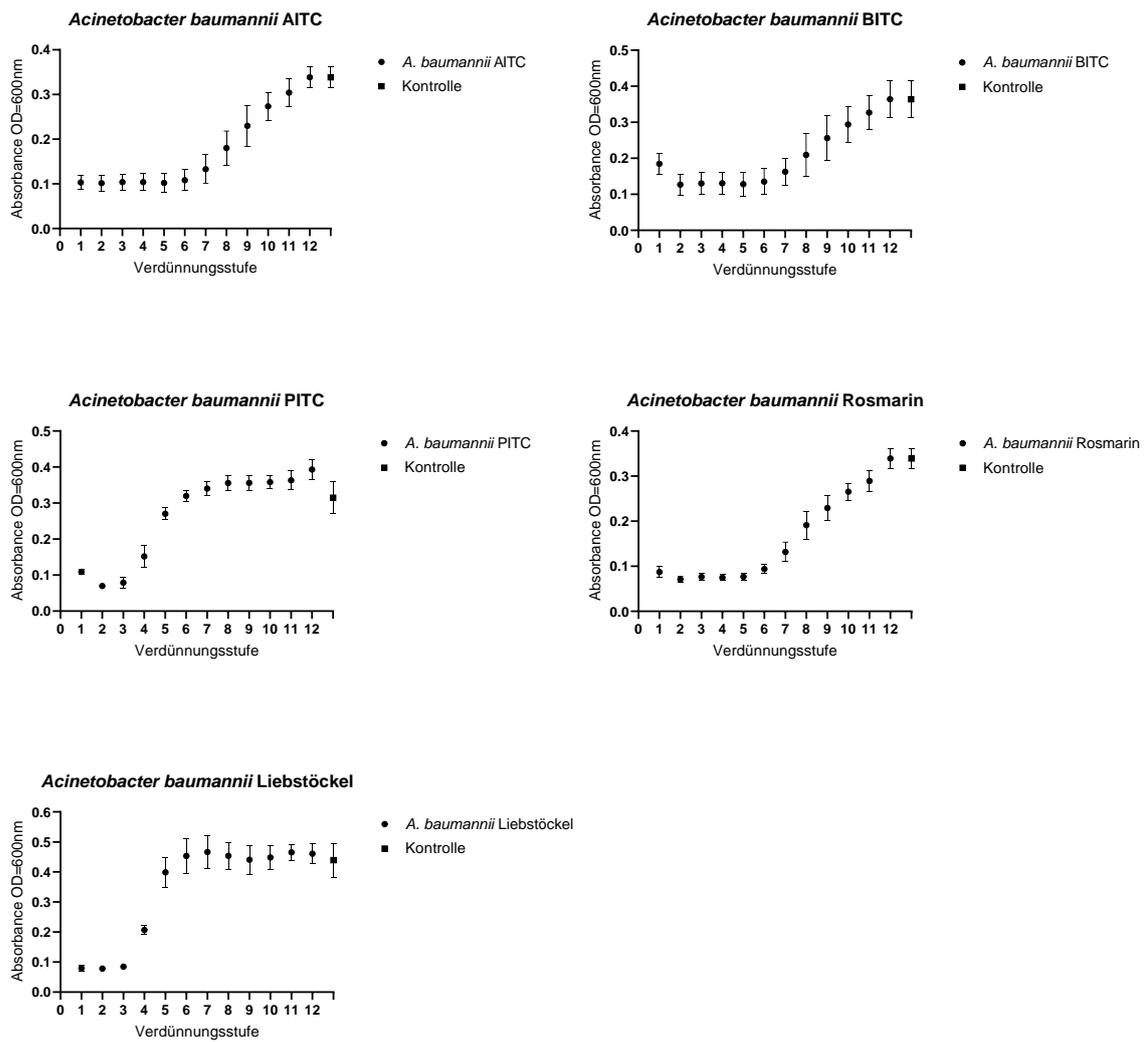
Für *Enterobacter cloacae* ergaben sich folgende MHK-Konzentrationen: AITC 0,633 mg/mL, BITC 0,352 mg/mL, PITC 2,83mg/mL, Rosmarinextrakt 5,688 mg/mL und Liebstöckel 6,25 mg/mL.

3.1.2.5 *Serratia marcescens*Abbildung 17: Minimale Hemmkonzentrationen von *Serratia marcescens*

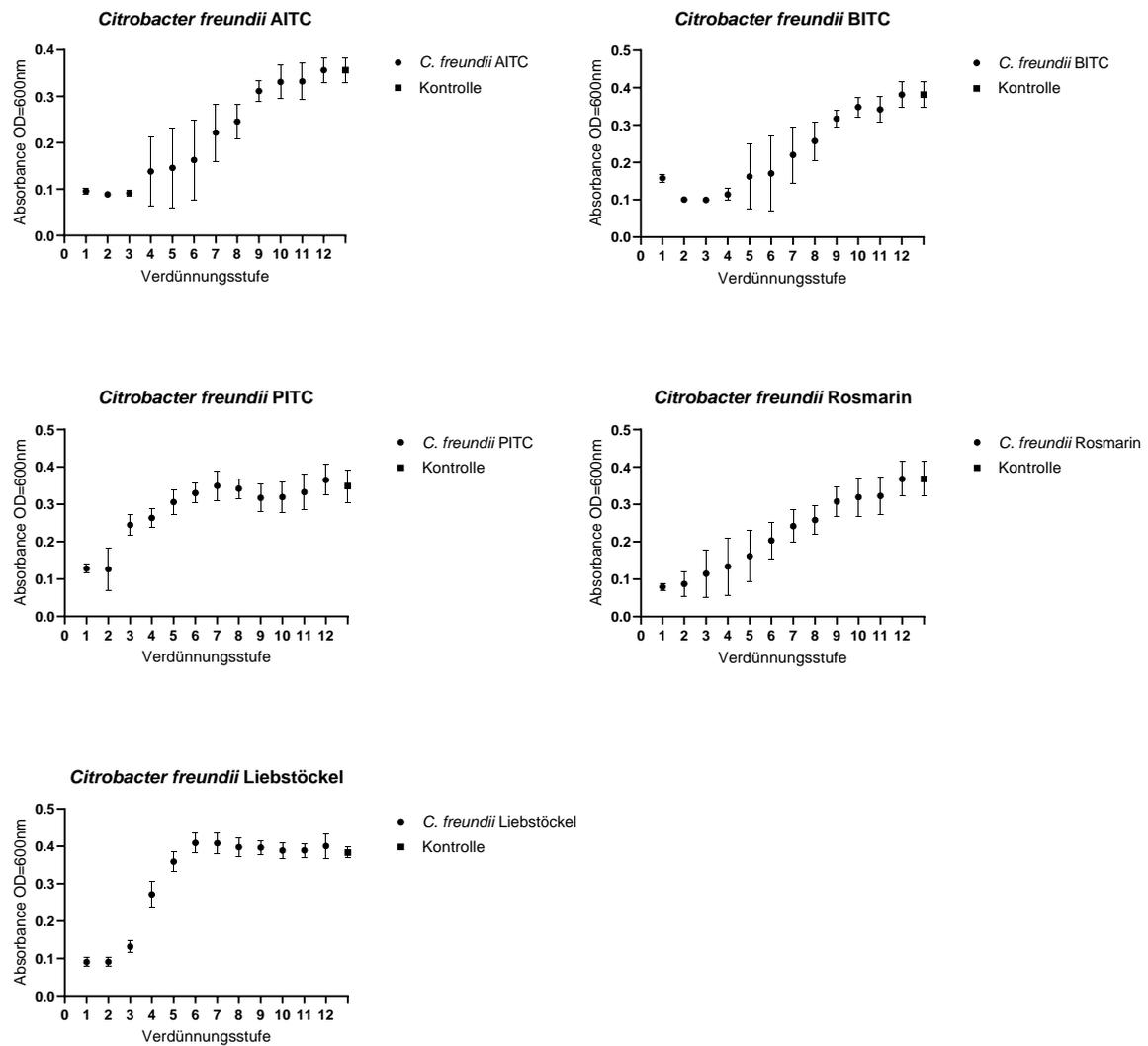
Für *Serratia marcescens* ergaben sich folgende MHK-Konzentrationen: AITC 0,02 mg/mL, BITC 0,022 mg/mL, PITC 1,415mg/mL, Rosmarinextrakt 0,710 mg/mL und Liebstöckel 12,5 mg/mL.

3.1.2.6 *Pseudomonas aeruginosa*Abbildung 18: Minimale Hemmkonzentrationen von *Pseudomonas aeruginosa*

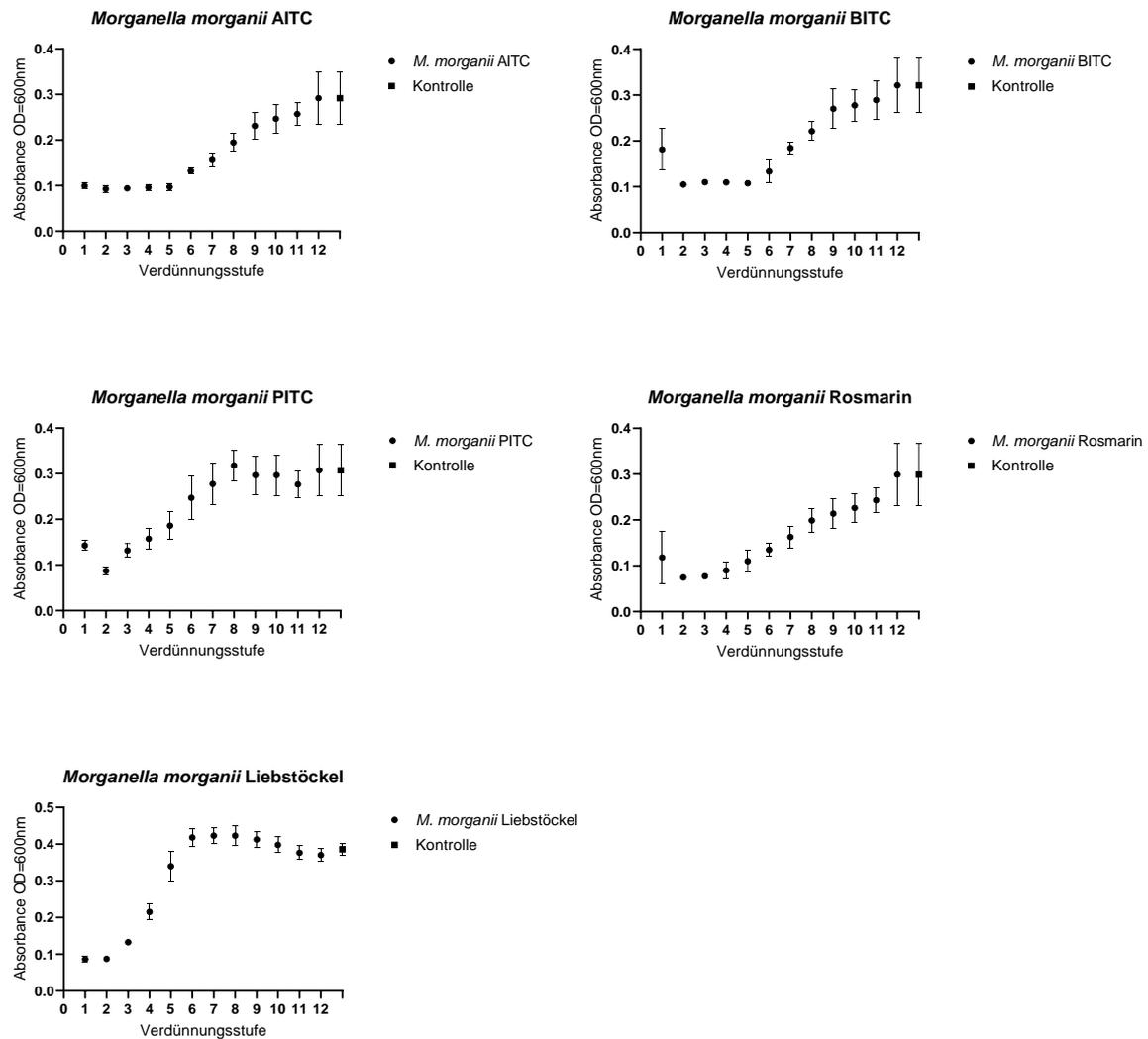
Für *Pseudomonas aeruginosa* ergaben sich folgende MHK-Konzentrationen: AITC 0,079 mg/mL, BITC 0,088 mg/mL, PITC 5,66 mg/mL, Rosmarinextrakt 1,419 mg/mL und Liebstöckel 6,25 mg/mL.

3.1.2.7 *Acinetobacter baumannii*Abbildung 19: Minimale Hemmkonzentrationen von *Acinetobacter baumannii*

Für *Acinetobacter baumannii* ergaben sich folgende MHK-Konzentrationen: AITC 0,01 mg/mL, BITC 0,044 mg/mL, PITC 0,708 mg/mL, Rosmarinextrakt 0,44 mg/mL und Liebstöckel 6,25 mg/mL.

3.1.2.8 *Citrobacter freundii*Abbildung 20: Minimale Hemmkonzentrationen von *Citrobacter freundii*

Für *Citrobacter freundii* ergaben sich folgende MHK-Konzentrationen: AITC 0,04 mg/mL, BITC 0,022 mg/mL, PITC 0,708mg/mL, Rosmarinextrakt 0,355 mg/mL, Liebstöckel 6,25 mg/mL.

3.1.2.9 *Morganella morganii*Abbildung 21: Minimale Hemmkonzentrationen von *Morganella morganii*

Für *Morganella morganii* ergaben sich folgende MHK-Konzentrationen: AITC 0,040 mg/mL, BITC 0,044 mg/mL, PITC 0,354 mg/mL, Rosmarinextrakt 0,355 mg/mL und Liebstöckel 6,25 mg/mL.

3.1.2.10 Zusammenfassung der MHK-Werte

In der nachfolgenden Tabelle sind die MHK-Werte von *Escherichia coli* zusammengefasst.

Tabelle 6: MHK-Werte von *Escherichia coli*

Substanzen	Bakterien		
	NU14	CFT073	536
AITC	0,01 mg/mL	0,005 mg/mL	0,005 mg/mL
BITC	0,088 mg/mL	0,044 mg/mL	0,044 mg/mL

PITC	0,088 mg/mL	0,177 mg/mL	0,177 mg/mL
Rosmarinextrakt	2,838 mg/mL	5,675 mg/mL	11,35 mg/mL
Liebstockel	6,25 mg/mL	6,25 mg/mL	12,5 mg/mL

In den nachfolgenden Tabellen sind die Werte der restlichen Bakterienspezies zusammengefasst.

Tabelle 7: MHK-Werte

Substanzen	Bakterien			
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Serratia marcescens</i>
AITC	0,158 mg/mL	0,04 mg/mL	0,633 mg/mL	0,02 mg/mL
BITC	0,703 mg/mL	0,044 mg/mL	0,352 mg/mL	0,022 mg/mL
PITC	1,415 mg/mL	0,354 mg/mL	2,83 mg/mL	1,415 mg/mL
Rosmarinextrakt	2,838 mg/mL	0,709 mg/mL	5,688 mg/mL	0,710 mg/mL
Liebstockel	6,25 mg/mL	12,5 mg/mL	6,25 mg/mL	12,5 mg/mL

Tabelle 8: MHK-Werte

Substanzen	Bakterien			
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>
AITC	0,079 mg/mL	0,01 mg/mL	0,04 mg/mL	0,04 mg/mL
BITC	0,088 mg/mL	0,044 mg/mL	0,022 mg/mL	0,044 mg/mL
PITC	5,66 mg/mL	0,708 mg/mL	0,708 mg/mL	0,354 mg/mL
Rosmarinextrakt	1,419 mg/mL	0,44 mg/mL	0,355 mg/mL	0,355 mg/mL
Liebstockel	6,25 mg/mL	6,25 mg/mL	6,25 mg/mL	6,25 mg/mL

3.2 Beurteilung des Bakterienwachstums unter Rosmarinextrakteinfluss im Zeitverlauf

Um die Auswirkungen der Phytotherapeutika auf Bakterienwachstum in den ersten sechs Stunden unter Substanzeinfluss zu untersuchen, wurden Wachstumskurven beispielhaft unter Rosmarinextrakteinfluss durchgeführt. In diese Zeit fallen die

Anlaufphase (lag-Phase), die exponentielle Phase (log-Phase) und ein Teil der stationären Phase. Verglichen hiermit wurde bei der Messung der minimalen Hemmkonzentrationen der Endpunkt nach 24h Bakterienwachstum in den Vordergrund gestellt.

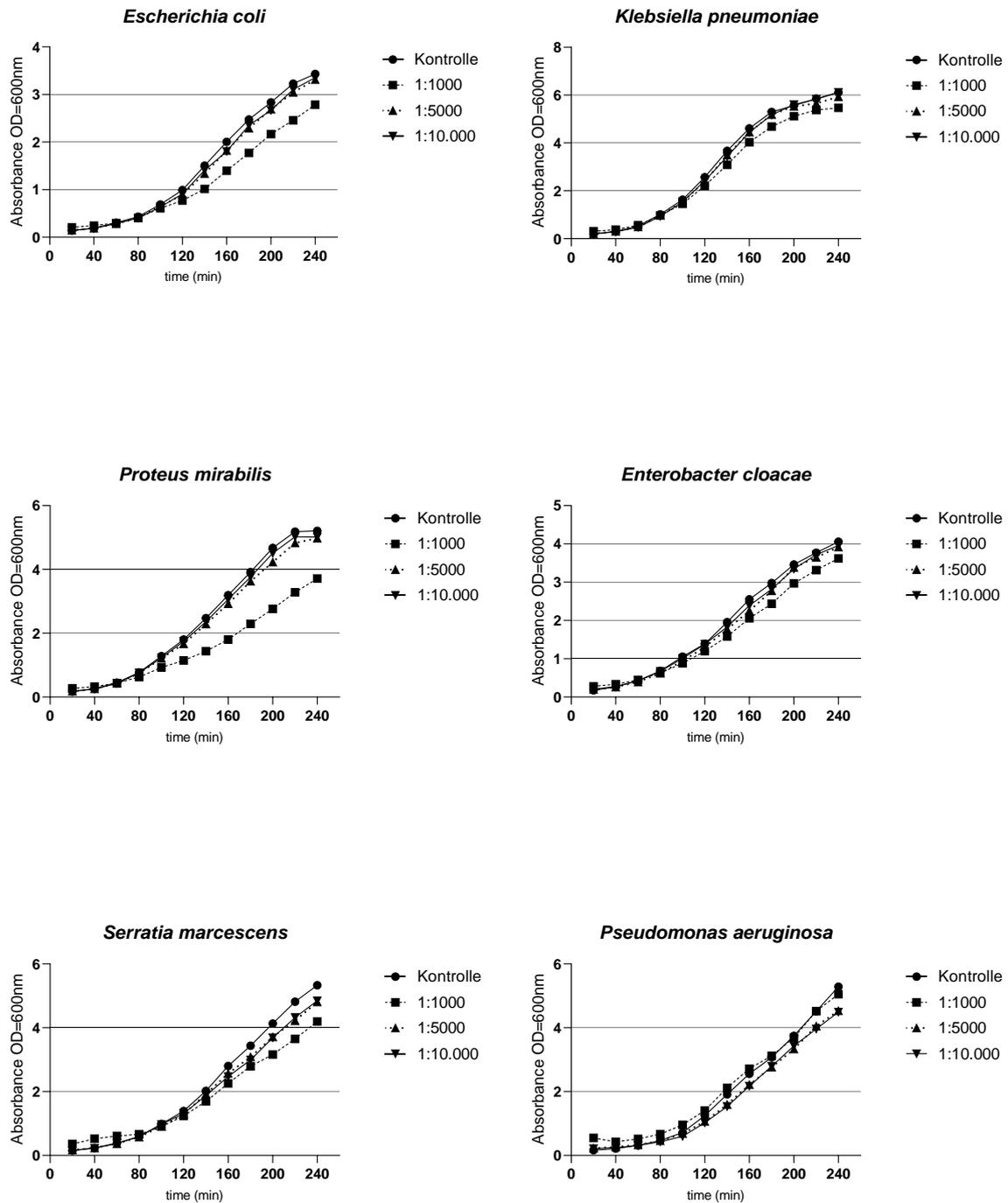


Abbildung 22: Wachstumskurven unter Rosmarinextrakteinfluss

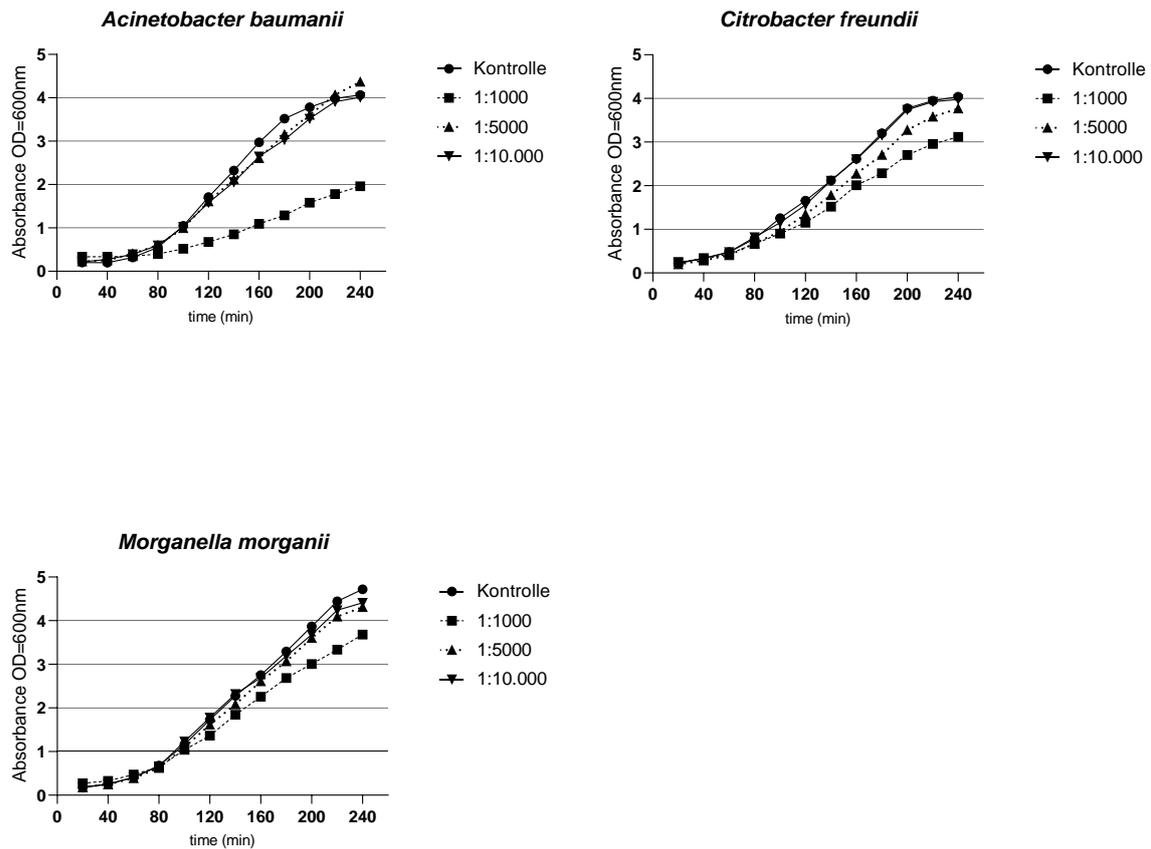


Abbildung 23: Wachstumskurven unter Rosmarinextrakteinfluss

Anhand der Wachstumskurven ist erneut gut erkennbar, dass die verschiedenen Bakterienspezies mit unterschiedlicher Ausprägung gehemmt werden. Eindrücklich ist, dass vor allem *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter freundii* und *Morganella morganii* eine ausgeprägte Hemmung bei einer Rosmarinextraktverdünnung von 1:10.000 zeigten. Währenddessen ist der Substanzeinfluss auf das Wachstum in den ersten Stunden bei *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* und *Pseudomonas aeruginosa* gering. Diese Ergebnisse spiegeln die Ergebnisse der minimalen Hemmkonzentrationen von Rosmarinextrakt wider.

3.3 Beurteilung der Bakterienmotilität unter Substanzeinfluss mit Hilfe von Schwärmversuchen

Wie schon unter 1.8.1.2 erklärt, trägt die Fortbewegungsfähigkeit der Bakterien zu einer höheren Virulenz bei und ist von großer Bedeutung im Rahmen der Pathogenese urogenitaler Infektionen. Die wichtigsten Fortbewegungsarten von Bakterien sind durch Typ-IV-Pili vermitteltes Twichting und durch Flagellen vermitteltes *Swarming* und *Swimming* (60, 61).

Mit diesem Versuchsessay wurde die Fähigkeit zum „Schwärmen“ auf speziellem Schwärmagar unter Einfluss der verschiedenen Phytotherapeutika untersucht.

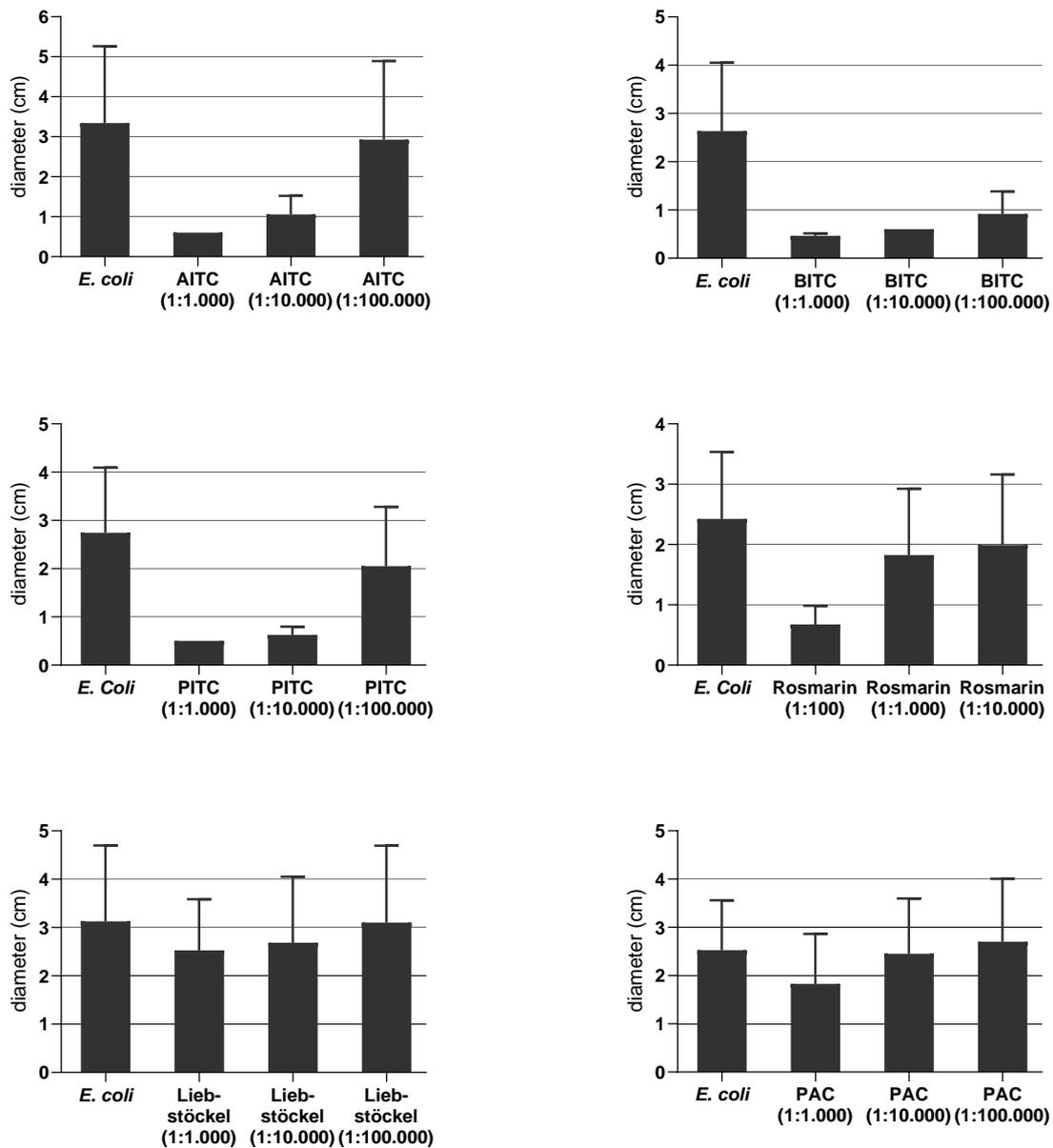
Bakterien bewegen sich durch Geißeln, auch Flagellen genannt, fort. Mit diesen können sich gramnegative Bakterien, je nach Medium, mit bis zu 25 µm/s fortbewegen (62). Durch Hemmung des Flagellenapparates wird den Bakterien ein, für die Kolonisation des Urogenitaltraktes entscheidender, Virulenzfaktor genommen (51).

Speziesübergreifend ist zu erkennen, dass vor allem Isothiocyanate in den hier genutzten Konzentrationen eine starke Hemmung auf die bakterielle Motilität vorweisen. So ist bei einer Verdünnung von 1:1.000 bei allen untersuchten Bakterienspezies eine signifikante Hemmung zu erkennen. BITC hemmt die Fortbewegungsfähigkeit auch bei einer Verdünnung von 1:10.000 bei allen untersuchten Spezies.

Während Rosmarinöl in Verdünnungen von 1:100 auch eine signifikante Hemmung bei allen Bakterienarten hervorruft, hemmt Liebstöckel lediglich die Fortbewegungsfähigkeit von *P. mirabilis*. Proanthocyanidine dagegen erzielen eine Motilitätshemmung in der höchsten untersuchten Konzentration bei allen Bakterienarten, außer bei *Escherichia coli*.

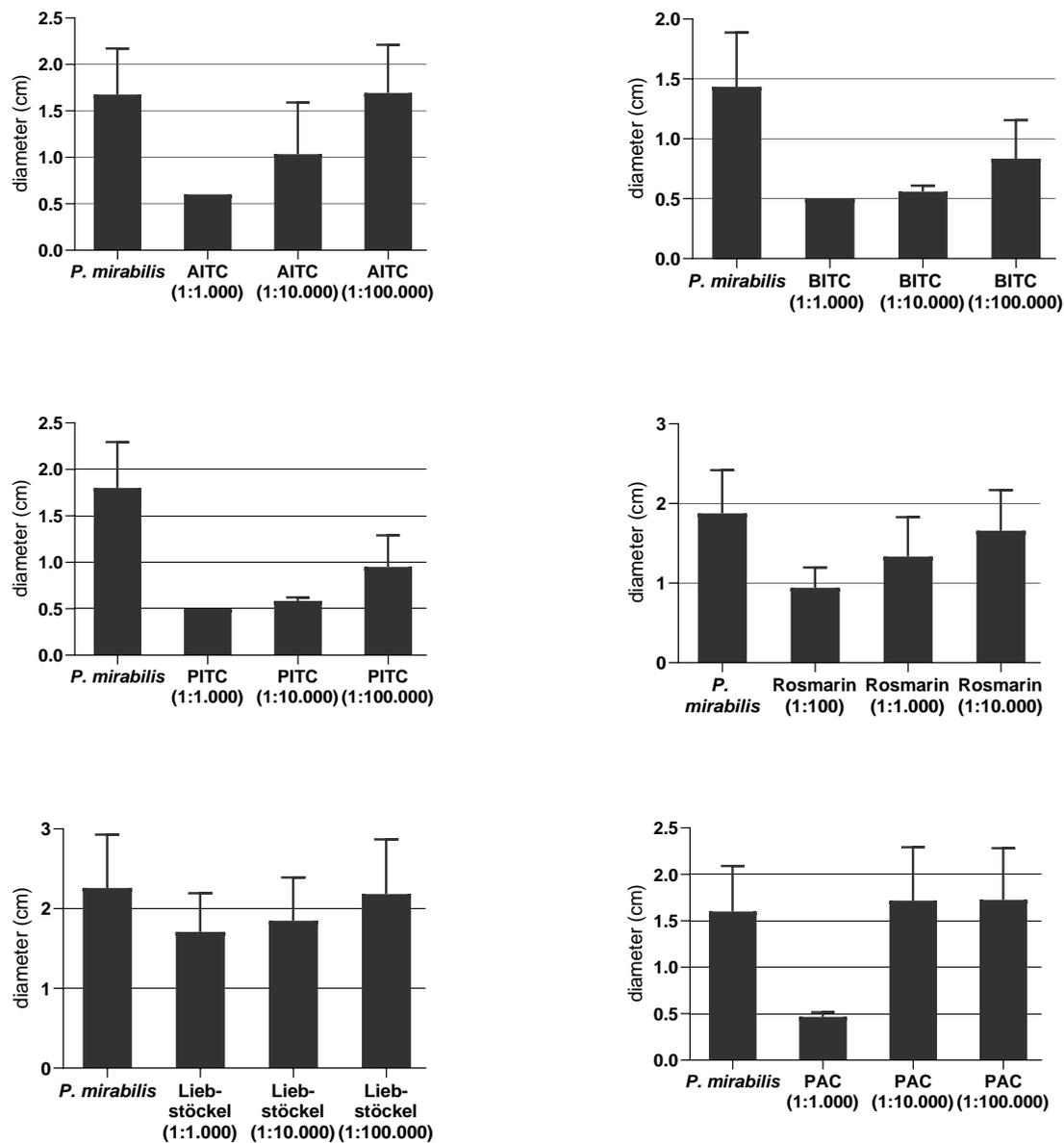
Der Schwärmagar wurde, zur besseren Verständlichkeit, jeweils zu dem unter den Diagrammen angegebenen Verhältnis mit den verschiedenen Substanzen versetzt. Die definierten Konzentrationen sind unter 2.3.3.1 zu finden.

Da Bakterien der Spezies *Acinetobacter baumannii* nicht die Fähigkeit zur Fortbewegung haben, wurden diese im Rahmen der Schwärmversuche nicht beachtet.

3.3.1 *Escherichia coli*Abbildung 24: Bakterielle Motilität von *Escherichia coli* unter Einfluss der Phytotherapeutika

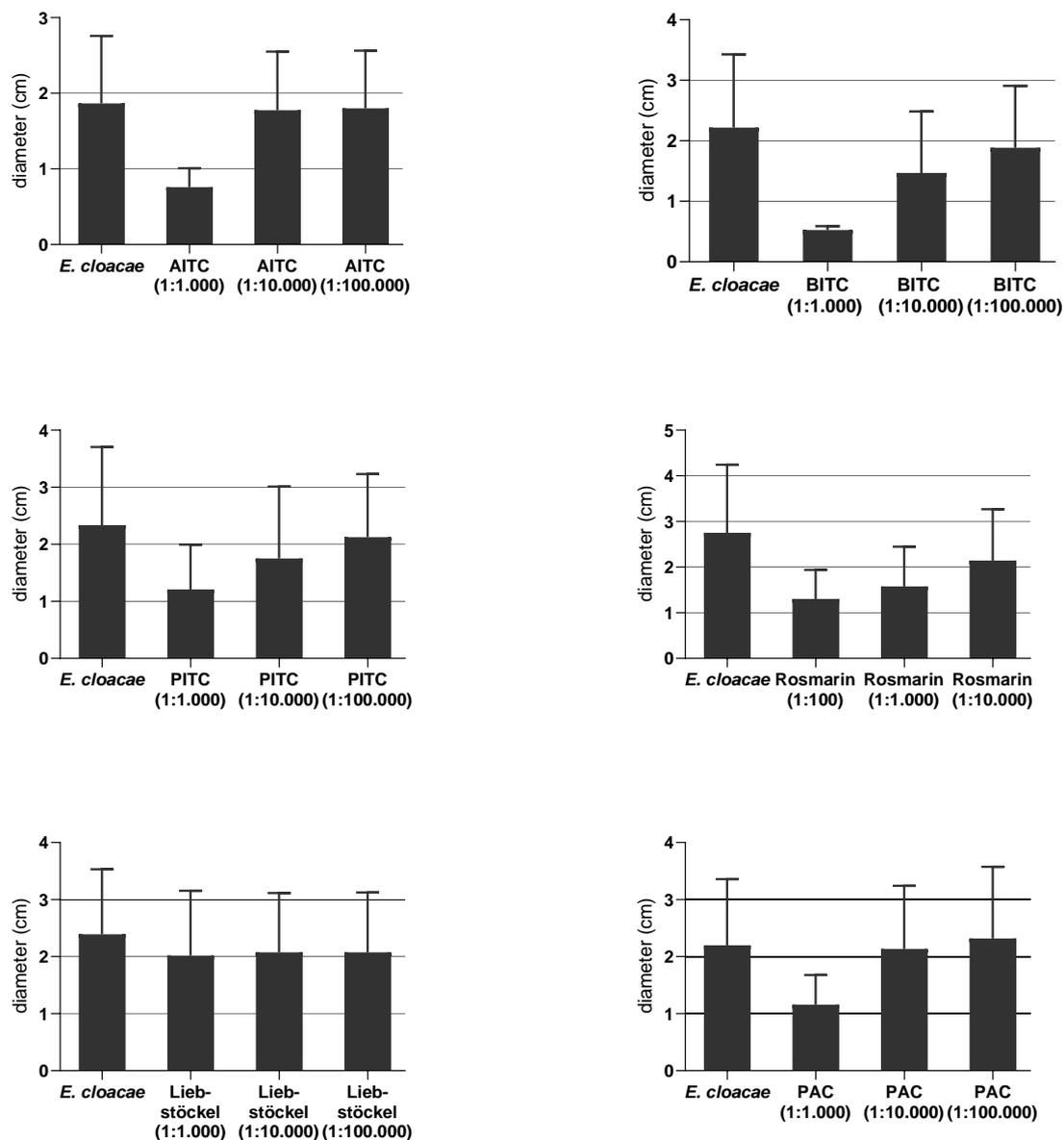
Escherichia coli zeigte die eindrucklichsten Motilitätshemmungen durch Isothiocyanate (AITC 1:1.000 $p < 0,0001$; AITC 1:10.000 $p < 0,0001$; BITC 1:1.000 $p < 0,0001$; BITC 1:10.000 $p < 0,0001$; BITC 1:100.000 $p = 0,0001$; PITC 1:1.000 $p < 0,0001$; PITC 1:10.000 $p < 0,0001$). Rosmarin hemmte die Motilität in der höchsten Konzentration signifikant (Rosmarin 1:100 $p < 0,0001$).

Währenddessen wurde weder durch Liebstockel noch durch Proanthocyanidine eine signifikante Hemmung der Fortbewegungsfähigkeit erreicht.

3.3.2 *Proteus mirabilis*Abbildung 25: Bakterielle Motilität von *Proteus mirabilis* unter Einfluss der Phytotherapeutika

Proteus mirabilis zeigte, im Gegensatz zu *E. coli*, auch eine Motilitätshemmung durch Isothiocyanate bei höheren Verdünnungsstufen (AITC 1:1.000 $p < 0,0001$; AITC 1:10.000 $p = 0,0076$; BITC 1:1.000 $p < 0,0001$; BITC 1:10.000 $p < 0,0001$; BITC 1:100.000 $p = 0,0016$; PITC 1:1.000 $p < 0,0001$; PITC 1:10.000 $p < 0,0001$; PITC 1:100.000 $p < 0,0001$). Rosmarin hemmte die Motilität sowohl bei einer Verdünnung von 1:1.000 als auch einer Verdünnung von 1:10.000 signifikant (Rosmarin 1:100 $p < 0,0001$; Rosmarin 1:1.000 $p = 0,019$).

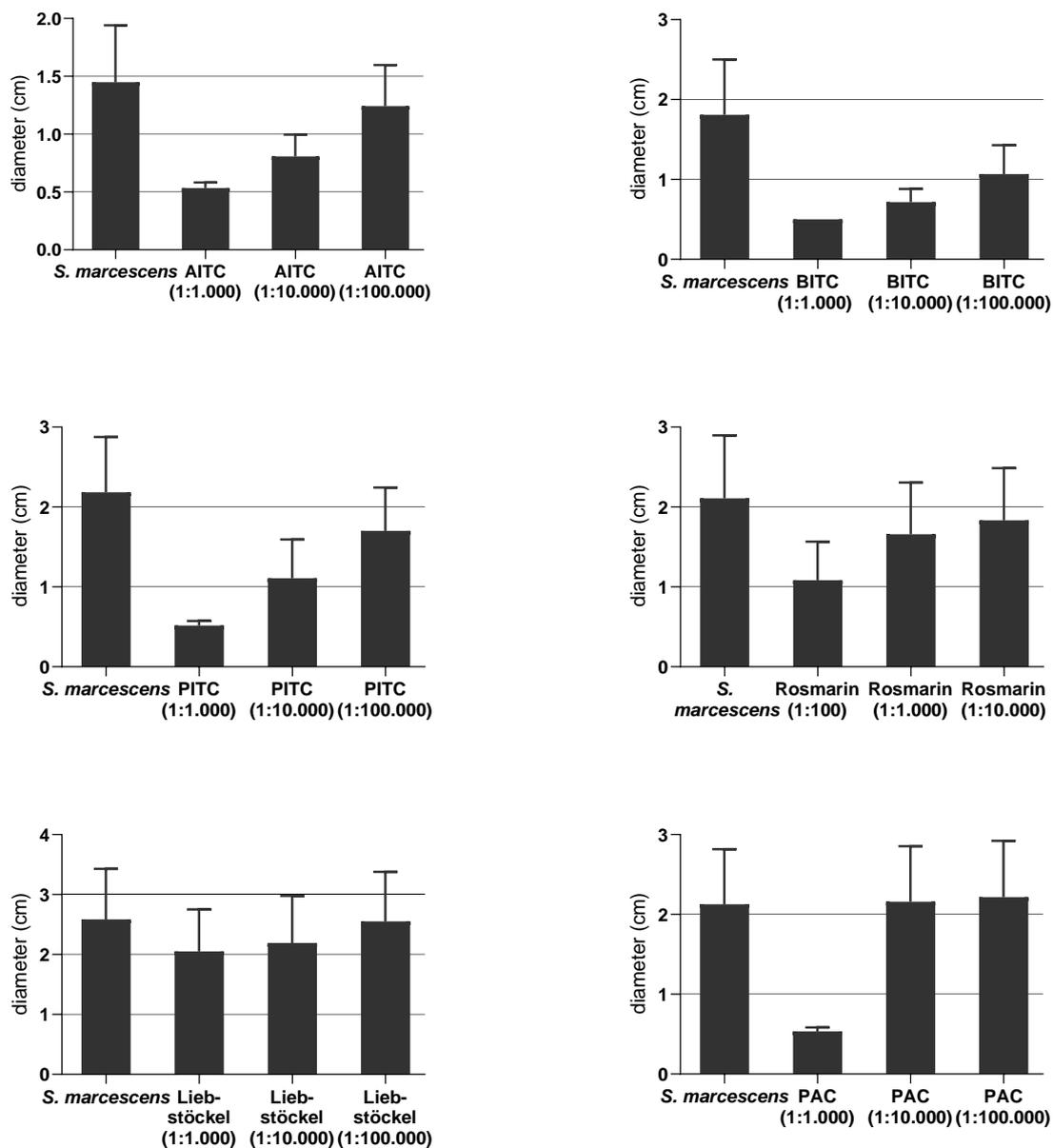
Auch durch Liebstöckel und Proanthocyanidine konnte eine signifikante Hemmung der Fortbewegungsfähigkeit von *Proteus mirabilis* erreicht werden (PAC 1:1.000 $p < 0,0001$; Liebstöckel 1:1.000 $p = 0,0339$).

3.3.3 *Enterobacter cloacae*Abbildung 26. Bakterielle Motilität von *Enterobacter cloacae* unter Einfluss der Phytotherapeutika

Enterobacter cloacae zeigte die eindrucklichste Hemmung unter den Phytotherapeutika Rosmarin (Rosmarin 1:100 $p = 0.0015$; Rosmarin 1:1.000 $p = 0.0148$) und BITC (BITC 1:1.000 $p < 0.0001$; BITC 1:10.000 $p = 0,0493$).

AITC, PITC und PAC hemmten die Fortbewegungsfähigkeit alle in einer Verdünnung von 1:1000 (AITC 1:1000 $p < 0,001$; PITC 1:1.000 $p = 0,0175$; PAC 1:1.000 $p = 0,0047$).

Liebstockel verursachte keine signifikante Motilitätshemmung von *Enterobacter cloacae*.

3.3.4 *Serratia marcescens*Abbildung 27: Bakterielle Motilität von *Serratia marcescens* unter Einfluss der Phytotherapeutika

Serratia marcescens zeigte, ähnlich wie *E. coli*, die eindrucklichste Motilitätshemmung durch Isothiocyanate (AITC 1:1.000 $p < 0,0001$; AITC 1:10.000 $p = 0,0001$; BITC 1:1.000 $p < 0,0001$; BITC 1: 10.000 $p < 0,0001$; BITC 1:100.000 $p = 0,003$; PITC 1:1.000 $p < 0,0001$; PITC 1:10.000 $p = 0,003$). Durch Rosmarin und Proanthocyanidine war jeweils in der geringsten Verdünnungsstufe eine Hemmung ersichtlich (Rosmarin 1:100 $p = 0,0012$; PAC 1:1.000 $p < 0,0001$).

Liebstöckel verursachte keine signifikante Hemmung der Fortbewegungsfähigkeit von *Serratia marcescens*.

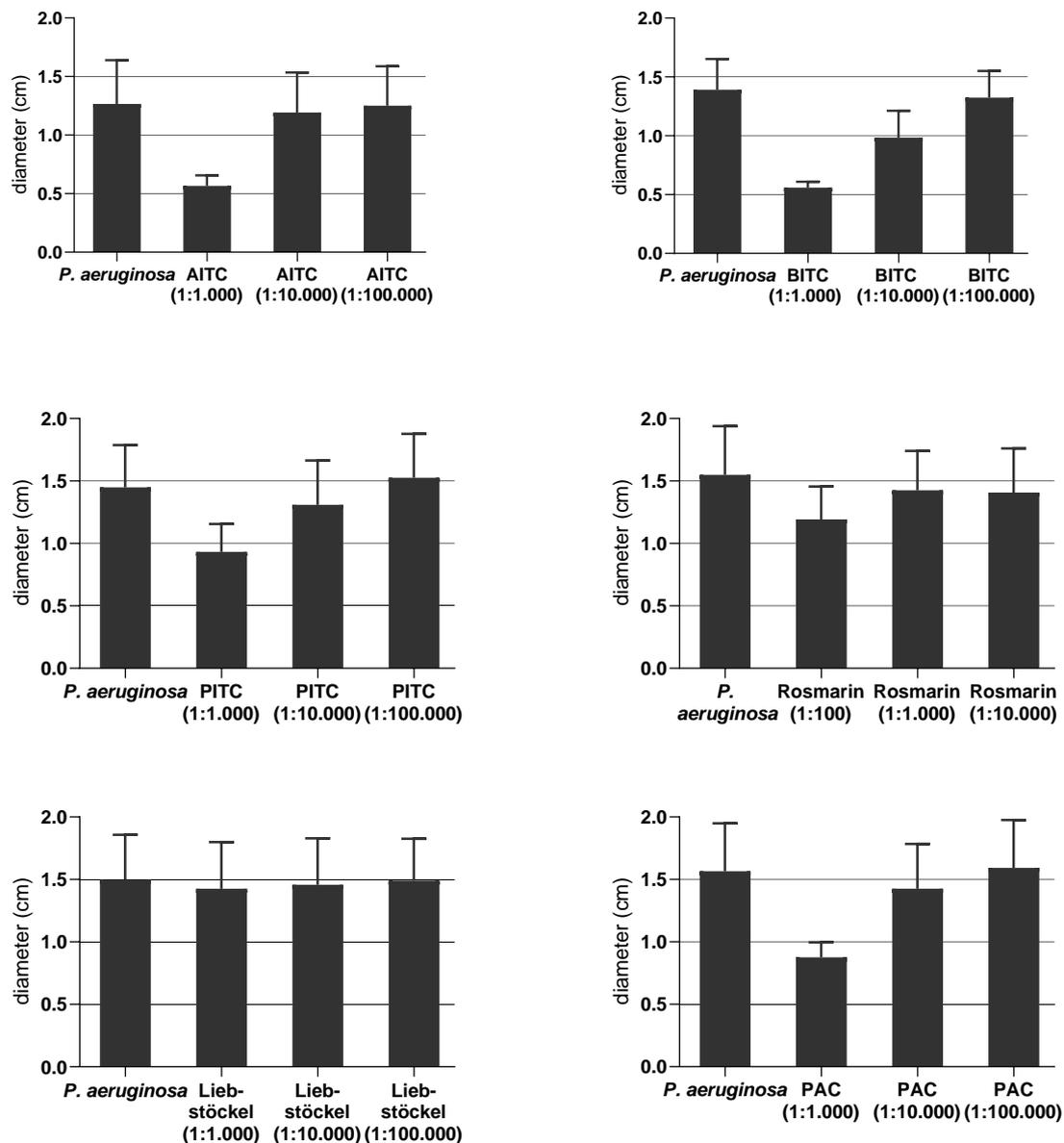
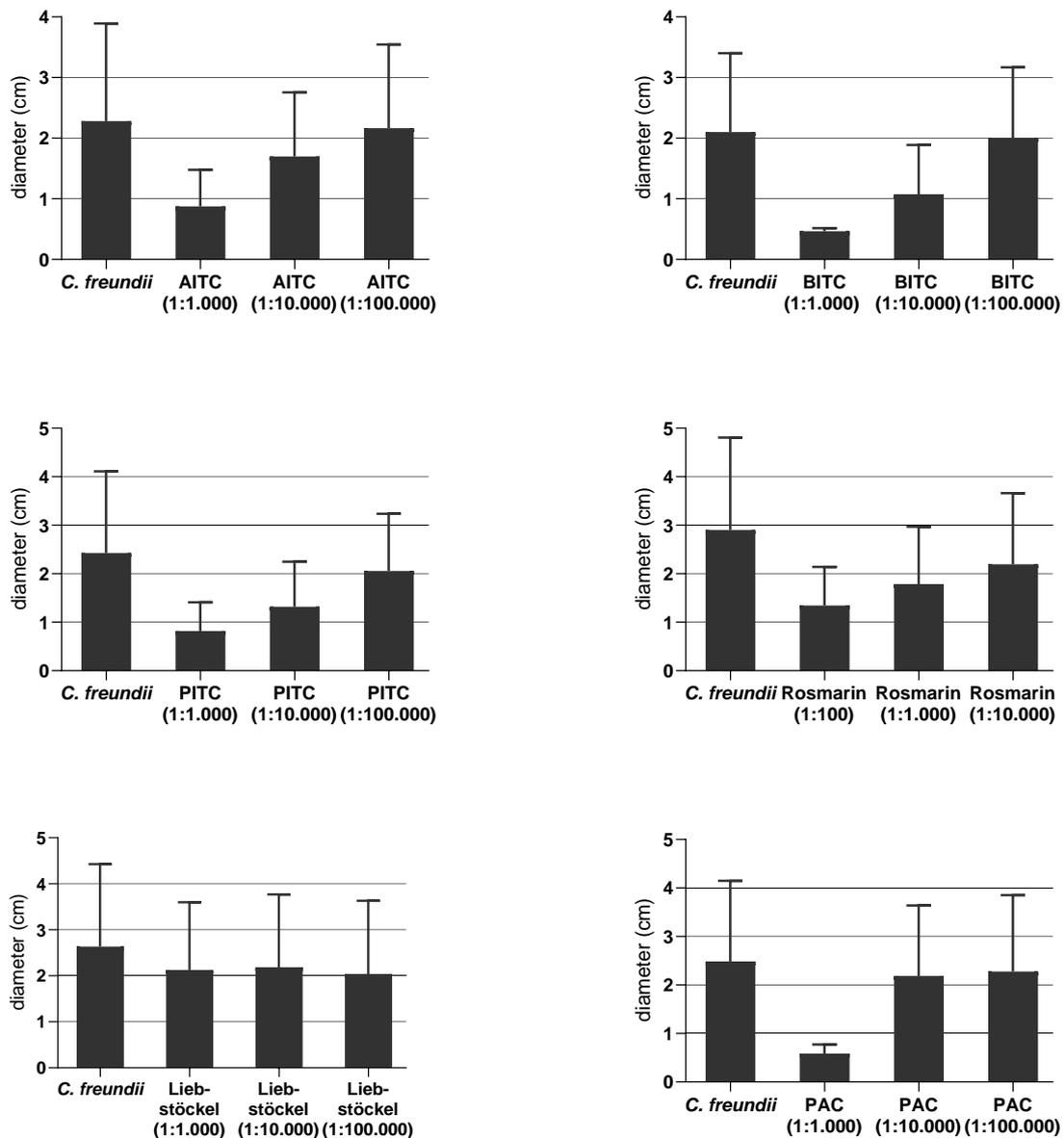
3.3.5 *Pseudomonas aeruginosa*

Abbildung 28: Bakterielle Motilität von *Pseudomonas aeruginosa* unter Einfluss der Phytotherapeutika

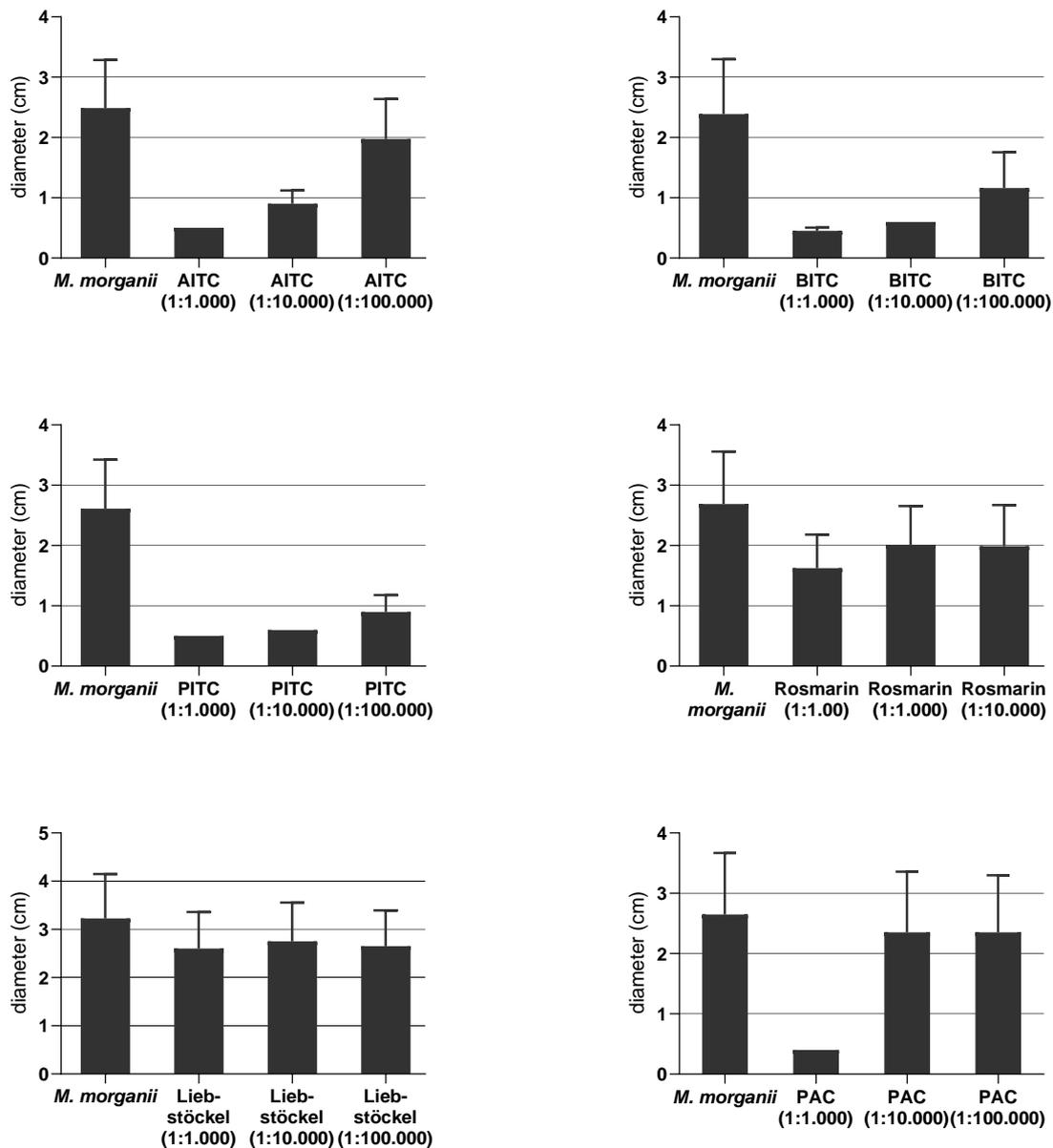
Die Motilität von *Pseudomonas aeruginosa* wurde durch BITC am stärksten beeinträchtigt (BITC 1:1.000 $p < 0,0001$; BITC 1:10.000 $p = 0,0006$). Bis auf Liebstöckel zeigten alle anderen Phytopharmaka in den geringsten Verdünnungsstufen eine signifikante Hemmung der Motilität (AITC 1:1.000 $p < 0,0001$; PITC 1:1.000 $p = 0,0003$; Rosmarin 1:100 $p = 0,0225$; PAC 1:1.000 $p < 0,0001$). Liebstöckel hatte keinen Einfluss auf die Fortbewegungsfähigkeit von *Pseudomonas aeruginosa*.

3.3.6 *Citrobacter freundii*Abbildung 29: Bakterielle Motilität von *Citrobacter freundii* unter Einfluss der Phytotherapeutika

Citrobacter freundii zeigte die eindrucklichsten Motilitätshemmungen durch Isothiocyanate (AITC 1:1.000 $p = 0,0023$; BITC 1:1.000 $p < 0,0001$; BITC 1: 10.000 $p = 0,0098$; PITC 1:1.000 $p = 0,0005$; PITC 1:10.000 $p = 0,0366$).

Durch Rosmarin und Proanthocyanidine war jeweils in der geringsten Verdünnungsstufe eine Hemmung ersichtlich (Rosmarin 1:100 $p = 0,0215$; PAC 1:1.000 $p < 0,0001$).

Liebstöckel hatte keinen Einfluss auf die Fortbewegungsfähigkeit von *Citrobacter freundii*.

3.3.7 *Morganella morganii*Abbildung 30: Bakterielle Motilität von *Morganella morganii* unter Einfluss der Phytotherapeutika

Morganella morganii zeigte die stärkste Beeinträchtigung der Motilität durch Isothiocyanate (AITC 1:1.000 $p = 0,0002$; AITC 1:10.000 $p = 0,0002$, BITC 1:1.000 $p = 0,0002$; BITC 1:10.000 $p = 0,0002$; BITC 1:100.000 $p = 0,0062$; PITC 1:1.000 $p = 0,0002$; PITC 1:10.000 $p = 0,0002$; PITC 1:100.000 $p = 0,0002$). Rosmarin und Proanthocyanidine verursachten eine Motilitätshemmung von *M. morganii* in der jeweils geringsten Verdünnungsstufe (Rosmarin 1:100 $p = 0,0193$; PAC 1:1.000 $p = 0,0002$).

Liebstöckel hatte keinen Einfluss auf die Fortbewegungsfähigkeit von *Morganella morganii*.

3.3.8 Zusammenfassung der signifikanten Konzentrationen zur Motilitäshemmung

Tabelle 9: Zusammenfassung der Schwärmversuche

Substanzen	Bakterien			
	<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Serratia marcescens</i>
AITC	0,1 mg/mL (p < 0,0001)	0,1 mg/mL (p = 0,0076)	1 mg/mL (p < 0,001)	0,1 mg/mL (p = 0,0001)
BITC	0,01 mg/mL (p = 0,0001)	0,01 mg/mL (p = 0,0016)	0,1 mg/mL (p = 0,0493)	0,01 mg/mL (p = 0,003)
PITC	0,1 mg/mL (p < 0,0001)	0,01 mg/mL (p < 0,0001)	1,1 mg/mL (p = 0,0175)	0,1 mg/mL (p = 0,003)
Rosmarinextrakt	90,8 mg/ml (p < 0,0001)	9,08 mg/mL (p = 0,019)	9,08 mg/mL (p = 0,0148)	90,8 mg/mL (p = 0,0012)
Liebstöckel		1 mg/mL (p = 0,0339)		
Proanthocyanidine		0,25 mg/mL (p < 0,0001)	0,25 mg/mL (p = 0,0047)	0,25 mg/mL (p < 0,0001)

Tabelle 10: Zusammenfassung der Schwärmversuche

Substanzen	Bakterien		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>
AITC	1 mg/mL (p < 0,0001)	1 mg/mL (p = 0,0023)	0,1 mg/mL (p = 0,0002)
BITC	0,1 mg/mL (p = 0,0006)	0,1 mg/mL (p = 0,0098)	0,01 mg/mL (p = 0,0062)
PITC	1,1 mg/mL (p = 0,0003)	0,1 mg/mL (p = 0,0366)	0,01 mg/mL (p = 0,0002)
Rosmarinextrakt	90,8 mg/mL (p = 0,0225)	90,8 mg/mL (p = 0,0215)	90,8 mg/mL (p = 0,0193)
Liebstöckel			
Proanthocyanidine	0,25 mg/mL (p < 0,0001)	0,25 mg/mL (p < 0,0001)	0,25 mg/mL (p = 0,0002)

3.4 Beurteilung der Agglutination unter Einfluss von Phytopharmaka

Die Versuche zur Agglutination wurden durchgeführt, um den Substanzeinfluss auf die durch Fimbrien vermittelte Adhäsionsfähigkeit an das Urothel zu untersuchen. Wie in 1.8.1.1 schon erwähnt, erleichtert die Expression von Fimbrien die Anhaftungsfähigkeit an das Urothel. Fimbrien sind flexible Proteinfilamente mit einer Länge von ca. 2 µm und einer Dicke von 2-8nm (25). Hervorzuheben sind in diesem Zusammenhang vor allem Typ1-Fimbrien. Diese bestehen aus den Untereinheiten FimF, FimG und FimH (63). Speziell über das, sich am distalen Ende der Fimbrien befindende, Adhäsin FimH binden die Bakterien an vom Epithel des Urogenitaltraktes exprimierte Mannose (64, 65).

Die Adhäsionsfähigkeit von *E. coli* über Typ1-Fimbrien kann daher durch Gabe von D-Mannose gehemmt werden (46, 66). Im Folgenden Versuch wurde deshalb D-Mannose als Kontrolle genutzt.

Tabelle 11: Hemmung der durch Typ 1-Fimbrien verursachten Agglutination

	<i>Escherichia coli</i>
D-Mannose	+++
PAC	+++
AITC	---
BITC	+++
PITC	+++
Rosmarin	---
Liebstöckel	---

+++ Hemmung der Agglutination; --- keine Agglutinationshemmung

Auffällig ist, dass AITC keine Agglutinationshemmung hervorruft. Genauso hemmt weder Rosmarin noch Liebstöckel die Agglutination.

Anhand dieser Ergebnisse lässt sich schlussfolgern, dass Proanthocyanidine und ein Teil der Isothiocyanate je nach Konzentration einen Einfluss auf die Adhäsionsfähigkeit der Bakterien an das Urothel haben.

4 Diskussion

4.1 Stellenwert antibiotischer Therapien in der modernen Medizin

Die Entdeckung der Antibiotika war zweifellos einer der größten Durchbrüche der medizinischen Forschung im 20. Jahrhundert. Die dadurch effektivere Behandlung von bakteriellen Infektionen hat die moderne Medizin revolutioniert und zu einem Paradigmenwechsel in der Infektionstherapie geführt. Durch Antibiotika ließen sich nicht nur bakterielle Krankheitserreger behandeln, sondern es wurde auch der Weg zu neuen Operationsmöglichkeiten, Tumorthérapien oder Organtransplantationen geebnet (67). Die Etablierung und der weit verbreitete Einsatz antibiotischer Therapien erhöhte die durchschnittliche Lebenserwartung des Menschen um 23 Jahre (67). Jedoch wurde die Warnung Alexander Flemmings, dass es ein hohes Risiko der Resistenzentwicklung bei falschem Gebrauch und Missbrauch gäbe, Wirklichkeit. Der lockere Umgang mit Antibiotika nahm im Verlauf der Zeit zu. So ist der Verbrauch von Antibiotika allein von 2000 bis 2015 um 65% gestiegen (68).

Diese Problematik der bakteriellen Resistenzentwicklung ist heute aktueller denn je, da wir ohne die richtigen Gegenmaßnahmen diese Wunderwaffe der Medizin wieder verlieren könnten. So nimmt seit den 90er Jahren die Entwicklung neuer Antibiotika bei, vor allem im gramnegativen Spektrum, kontinuierlich steigenden Resistenzraten ab (3).

Es wird prognostiziert, dass in Zukunft die Infektiologie mit 10 Millionen Todesopfern jährlich die Onkologie wieder als Todesursache Nummer 1 ablösen könnte (3). Wir wären zurückgekehrt in eine prä-antibiotische Ära. Dieses fatale Szenario gilt es zu verhindern. Neben verbesserter Hygiene, der Reduktion von unnötigem Antibiotikaeinsatz im Agrarsektor und in der Veterinärmedizin, dem rationalen und verantwortungsvollen Antibiotikaeinsatz in der Humanmedizin im Sinne eines *Antibiotic Stewardship*, gehört auch die Evaluation und Etablierung neuer antimikrobieller Verbindungen dazu (3). Hierzu gehören auch die sogenannten *Natural Products (NPs)*, deren Ursprung Bakterien, Pflanzen oder, wie im Falle von Penicillin, Pilze sind (67, 69). Diese werden voraussichtlich in Zukunft, im Vergleich mit synthetischen antimikrobiellen Verbindungen, weiter an Bedeutung gewinnen.

Wie alle anderen Therapien bakterieller Infektionen hat auch die Komplexität der Therapie bakterieller Harnwegsentzündungen aufgrund der Resistenzlage

zugenommen. In dieser Promotionsschrift wurde sich auf pflanzliche Stoffe, die die Pathogenität der uropathogenen Erreger vermindern können, fokussiert.

4.2 Zusammenfassung der Ergebnisse

Wir konnten im Rahmen einer systematischen *in vitro* Evaluation anhand einer, für uropathogene Erreger, repräsentativen Stammsammlung klinischer Isolate, die Dosisabhängigkeit und Spezies-Spezifität einzelner Phytopharmaka, die teilweise in verschiedenen Kombinationen bereits erhältlich sind, aufzeigen. Untersucht wurden verschiedene Derivate von Thiocyanaten (Meerrettich), Rosmarinextrakt, Proanthocyanidine (Cranberry), DHD (Liebstöckel) und D-Mannose.

In einem ersten Teil wurden zu den jeweiligen Bakterienspezies minimale Hemmkonzentrationen bestimmt. Des Weiteren wurde die Fortbewegungsfähigkeit der Bakterien auf Schwärmagar unter Einfluss der Phytopharmaka untersucht. In einem letzten Schritt wurde die, für die Pathogenese von Harnwegsinfektionen wichtige, Adhäsionsfähigkeit der Bakterien untersucht und beobachtet, inwiefern diese unter Substanzeinfluss beeinträchtigt wurde.

Mit dieser Studie wurden erstmals die ausgewählten Virulenzfaktoren der häufigsten gramnegativen Harnwegserreger unter dem Einfluss dieser verschiedenen Substanzen untersucht. Die im Rahmen des Projekts erhobenen Ergebnisse werden im Folgenden diskutiert.

4.3 Kritische Diskussion der Methoden

4.3.1 Aspekte in der Forschung mit pflanzlichen Substanzen

Pflanzen haben ein vielfältiges Repertoire an Abwehrmaßnahmen. Zu diesen gehören auch antimikrobiellen Substanzen, die bei Schädlingsbefall ausgeschüttet werden. Die Konzentration der antimikrobiellen Substanzen in Pflanzen unterliegt diversen Umweltfaktoren. So sind beispielsweise die Konzentrationen von antimikrobiellen Substanzen bei pestizidfreien Pflanzen höher als bei mit Pestiziden behandelten Pflanzen (70).

Im Gegensatz zu gebräuchlichen Medikamenten, die meist nur einen Wirkstoff enthalten, beruht die Wirksamkeit von pflanzlichen Extrakten aus mehreren Bestandteilen der Pflanze. Allgemein kann man davon ausgehen, dass eine Inkonstanz in der Konzentration der verschiedenen antimikrobiellen Substanzen innerhalb einer Pflanzenspezies herrscht. Im Vergleich zu synthetisch hergestellten

Arzneimitteln wird dies leider des Öfteren in der Forschung mit pflanzlichen antibakteriellen Substanzen nicht ausreichend beachtet. Hieraus resultiert eine geringere Vergleichbarkeit in der Literatur. Diese Problematik wurde in der vorliegenden Arbeit gelöst, indem man, den natürlichen Substanzen identische, Produkte von Sigma-Aldrich (Darmstadt, Deutschland) mit genau definierter Zusammensetzung genutzt hat.

4.3.2 *In-vitro*-Tests

Bei Interpretation von Ergebnissen aus *In-vitro*-Versuchen gilt es, immer die Differenz zu *In-vivo* zu beachten. Es ist möglich, sich diesen im Körper herrschenden Bedingungen so weit wie möglich anzunähern, jedoch gibt es immer Einflussfaktoren, die sich im Labor nicht darstellen lassen. Beispielsweise sind unter Laborbedingungen die pH-Werte während der Versuche annähernd konstant. *In-vivo* jedoch erhöht sich aufgrund der lokalen Inflammation der pH-Wert und es kommt zu Elektrolytverschiebungen. Zudem ist eine strikte Konstanz der antimikrobiellen Substanzen über einen längeren Zeitraum, die in diesen Versuchen gegeben war, *In-vivo* kaum zu erreichen.

Deshalb sind *In-vitro*-Ergebnisse nur als Annäherungen an die Realität zu betrachten.

4.3.2.1 Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration

Es gibt verschiedene Möglichkeiten zur Bestimmung von minimalen Hemmkonzentrationen auf Bakterienwachstum. Zu diesen gehört neben dem wahrscheinlich bekanntesten Agardiffusionstest unter anderem die Mikrodilutionsmethode oder der Epsilometertest (E-Test).

Im klinischen Setting wird in modernen mikrobiologischen Laboren vor allem die Mikrodilutionsmethode mit vorgefertigten Panels in standardisierten Geräten (z.B. BD Phoenix™) verwendet.

Für diese Methode spricht eine hohe Reproduzierbarkeit, logistische Vorteile aufgrund der Miniaturisierung, die Möglichkeit eine hohe Anzahl an verschiedenen Konzentrationen zu testen und die Möglichkeit zur automatischen Auswertung der Testpanels (71). Aufgrund dieser Vorteile wurde sich auch in der vorliegenden Arbeit für die Mikrodilutionsmethode entschieden.

Da es jedoch für die hier untersuchten antimikrobiellen Verbindungen keine vorgefertigten Panels gibt, ist der Hauptnachteil dieser Methode vor allem die potentielle Ungenauigkeit beim Herstellen der Testlösungen.

4.3.2.2 Untersuchung der bakteriellen Wachstumsphasen

Für die Kolonisation des Urogenitaltraktes mit pathogenen Bakterien ist das Ausmaß des Bakterienwachstums von großer Bedeutung. Je schneller die Anzahl der Bakterien ansteigt, desto fulminanter verläuft die Infektion. Wachstumskurven sind ideal dafür geeignet um den Einfluss von Substanzen auf das Wachstum innerhalb der Latenzphase, der exponentiellen- und der stationären Phase zu untersuchen.

An dieser Stelle ist hervorzuheben, dass unter *in vivo*-Bedingungen das Wachstum nicht in einem, wie in diesem Versuchsmodell der Wachstumskurven, derart geschlossenen System stattfindet. Deshalb sind vor allem die Ergebnisse dieses Versuchs nur als Näherungswert an die Situation im menschlichen Körper zu erachten.

4.3.2.3 Beurteilung der Bakterienmotilität

Die Rolle der Biofilmbildung in der Pathogenität bakterieller Infektionen hat in den letzten Jahren innerhalb der Forschung an Bedeutung gewonnen. Innerhalb des Biofilms können die Bakterien sich auf verschiedensten Oberflächen fortbewegen.

Je nach Dicke und Beschaffenheit des Biofilms gibt es verschiedene Fortbewegungsmöglichkeiten von Bakterien. Zu diesen gehört das durch Flagellen vermittelte *Swimming*, das ebenfalls durch Flagellen vermittelte *Swarming*, sowie das durch Typ IV-Pili vermittelte *Twitching* (72-74).

Mit dem in dieser Arbeit durchgeführten Versuchsassay wurde vor allem der Einfluss der Testsubstanzen auf die Fähigkeit des Schwärmens auf halbfesten Oberflächen untersucht. Unklar ist, ob die antimikrobiellen Substanzen vor allem die Fortbewegungsfähigkeit der Bakterien gehemmt haben, oder ob diese durch die Anwesenheit der Testsubstanzen auch in diversen anderen Stoffwechselfähigkeiten stark beeinträchtigt wurden. In diesem Fall wäre die gehemmte Motilität ein Zusammenspiel mehrerer Faktoren. Um dies herauszufinden sind weitere Versuche notwendig.

In der Literatur gibt es für Schwärmversuche, im Gegensatz zu den EUCAST-Standards bei MHK-Bestimmungen, keinen allgemein anerkannten definierten Standard. Beim Vergleichen der hier präsentierten Ergebnisse mit Ergebnissen aus Schwärmversuchen in der Literatur muss man dies immer beachten.

4.3.2.4 Beurteilung der Adhäsionsfähigkeit

Bei den Versuchen zur Beeinträchtigung der Adhäsionsfähigkeit von Bakterien gibt es keine in der Literatur definierten Standards zur Auswertung. Dieser Versuch wurde schon in den 70er Jahren in der Literatur häufig beschrieben (75-77). Hierbei ist aber

zu beachten, dass die Fähigkeit der Adhäsion von Bakterienspezies zu Bakterienspezies unterschiedlich ist.

Diese Vor- und Nachteile der jeweiligen Methoden müssen beim Vergleich und der Interpretation der Ergebnisse immer beachtet werden.

4.4 Diskussion der Ergebnisse

4.4.1 Phytotherapeutika

Die Problematik der Resistenzentwicklung gegenüber Antibiotika ist seit langem bekannt. Die Suche nach nichtantibiotischen Alternativen hat schon eine Vielzahl an Ergebnissen hervorgebracht (78-80).

Gegenwärtig gibt es neue vielversprechende und innovative Konzepte zum optimierten Management von unkomplizierten Harnwegsinfektionen. So stellen mittlerweile vor allem neben diversen Vakzinen Phytotherapeutika zur Behandlung von unkomplizierten Harnwegsinfektionen eine gängige Alternative zu antibiotischen Therapieschemata dar, die immer mehr Einzug in die Leitlinien erhält. Der große Vorteil ist das geringere Nebenwirkungsspektrum. Erwartungsgemäß sind die Auswirkungen nichtantibiotischer antimikrobieller Therapieoptionen auf das natürliche Mikrobiom viel geringer (81).

Neben Cranberry-Produkten (Proanthocyanidine) sind etablierte Produkte beispielsweise Canephron® (Rosmarin, Tausendgüldenkraut, Liebstöckel) oder Angocin® (Isothiocyanate).

Es gilt jedoch zu beachten, dass die Studienlage zur Therapie unkomplizierter Harnwegsinfektionen durch Phytotherapeutika weiterhin sehr heterogen ist (82).

4.4.1.1 Senföle

Das bei Blasenentzündungen und Atemwegsinfekten eingesetzte pflanzliche Präparat Angocin® besteht aus Kapuzinerkressekraut (*Tropaeolum majus*) und Meerrettichwurzel (*Amoraciae rusticanae radix*). Es besteht zu 38% aus AITC, zu 50% aus BITC und zu 12% aus PITC (56). Eine Beobachtungsstudie bei katheterassoziierten Harnwegsinfekten ergab, dass die Rezidivrate bei zusätzlicher Gabe von Kapuzinerkressekraut zu einer antibiotischen Therapie im Vergleich zur entsprechenden Antibiotika-Monotherapie signifikant gesenkt werden konnte (83). In einer weiteren Studie konnte bei chronisch rezidivierenden Harnwegsinfekten eine Reduktion der Anzahl der Rezidive erreicht werden (84).

Die Adhäsionsfähigkeit von uropathogenen Bakterien konnte durch Senföle nur unzureichend gehemmt werden. Von allen untersuchten Bakterienarten konnte die Adhäsion ausschließlich von *E. coli* durch BITC und PITC gehemmt werden. Für diese Hemmung mussten jedoch hohe Konzentrationen genutzt werden. Wir konnten diesbezüglich die in der Literatur bekannten Ergebnisse für BITC und PITC bestätigen (56). Im Gegensatz dazu konnte AITC die Adhäsionsfähigkeit nicht vermindern.

Die Fähigkeit zur Fortbewegung konnte durch Senföle in Konzentrationen von 1 mg/mL – 1,1 mg/mL bei allen untersuchten Bakterien gehemmt werden. Bei BITC ließ sich dies sogar mit einer Konzentration von 0,1 mg/mL erreichen. Hervorzuheben ist, dass BITC selbst in der geringsten geprüften Konzentration von 0,01 mg/mL die Fortbewegung des häufigsten Harnwegserregers *E. coli* hemmt. Zu einem ähnlichen Ergebnis sind Patel et. al gekommen (85). Hier wurde in einem vergleichbaren Essay eine signifikante Hemmung der Fortbewegung von *E. coli* selbst Konzentrationen von 25 µl/mL beschrieben.

Borges et. al testete durch *In-vitro*-Untersuchung die minimalen Hemmkonzentrationen von AITC und PITC (29, 86). Für beide getesteten Isothiocyanate wurden speziesübergreifend minimale Hemmkonzentrationen von 100 µg/mL angegeben. Für AITC konnten wir diese teilweise bestätigen. So liegen, außer bei *Enterobacter cloacae* (MHK AITC 0,633 mg/mL), alle minimalen Hemmkonzentrationen < 100 µg/mL. Im Gegensatz dazu konnten wir jedoch die minimalen Hemmkonzentrationen für PITC nicht bestätigen. Wichtig ist hier zu erwähnen, dass die Autoren nur mit 3 unterschiedlichen Konzentrationen gearbeitet haben und nicht, wie in der vorliegenden Arbeit, mit Verdünnungsstufen gearbeitet wurde. In einer ähnlichen Studie von Abreu et. al. ergab die MHK-Bestimmung, durch die auch von uns angewendete Mikrodilutionsmethode, von PITC auf *E. coli* 1 mg/mL (86). Zusätzlich ist hervorzuheben ist, dass diese Studien nicht mit uropathogenen Erregern durchgeführt wurden.

Conrad et. al untersuchte Isothiocyanate im Hinblick auf ihre auf Bakterien wachstumshemmende Aktivität (30, 32). Bis auf *Kl. pneumoniae* haben alle Bakterienarten Hemmkonzentrationen < 0,5 mg/mL. Die Vergleichbarkeit ist jedoch aufgrund einer anderen Methodik eingeschränkt. Im Gegensatz zu den in dieser Arbeit

vorliegenden Versuchen wurden die Isothiocyanate nicht einzeln, sondern in einer Fixkombination, getestet.

Den Effekt von Isothiocyanaten auf uropathogene *E. coli* untersuchten Mutters et. al (87). Es konnten MHKs zwischen < 0.02 bis 0.67 mg/mL mit Hilfe von Mikrodilutionsmethoden festgestellt werden. Die Hälfte, der für diese Studie untersuchten *E. coli* wies zudem antibiotische Resistenzen auf. Jedoch wurde erneut nur eine Fixkombination an Isothiocyanaten, wie sie auch in Angocin® enthalten ist, evaluiert. Interessanterweise waren die minimalen Hemmkonzentrationen für antibiotikaresistente *E. coli* höher als für nicht resistente *E. coli*. Dieselben Autoren untersuchten die Auswirkungen von Isothiocyanaten auf Biofilmbildung durch *P. aeruginosa* (88). Es konnten MHKs für AITC von 103 µg/mL, BITC 2145 µg/mL und PITC von $29,423$ µg/mL festgestellt werden. Jedoch ist zu erwähnen, dass die angegebene Standardabweichung von PITC mit ± 1652 µg/mL sehr groß ist.

Es ist zu erkennen, dass in der Literatur eine deutliche Varianz der MHKs von Isothiocyanaten vorliegt. Bis jetzt gibt es keine Studie, die die minimalen Hemmkonzentrationen von einzelnen Isothiocyanaten mit einer standardisierten Methode auf die häufigsten uropathogenen Bakterien untersucht.

4.4.1.2 *In-vivo*-Metabolismus der Isothiocyanate

Wie schon unter 1.7.2 erwähnt, werden Isothiocyanate in Pflanzen aus Glucosinolaten enzymatisch hergestellt. Es ist weiterhin unklar, ob und für wie lange die nötigen minimalen Hemmkonzentrationen *in vivo* erreicht werden können (87, 88). Eine Exkretion der Isothiocyanate erfolgt vor allem über den Urin und die Lunge.

In diversen Studien lag die renale Ausscheidung der verschiedenen Senföle zwischen 30% und 90% (89-92).

Hierbei muss man darauf hinweisen, dass diese Studien meist nicht mit reinen Isothiocyanaten durchgeführt wurden. Es wurden lediglich Vorgänger, die noch enzymatisch verarbeitet werden müssen, in Form von Pflanzen aufgenommen. Wie groß die freigesetzten Senfölmengen waren, ist stark abhängig von der Zubereitung der Pflanzen und vielen weiteren Faktoren (90).

Es gibt jedoch Anzeichen dafür, dass selbst geringe Isothiocyanat-Konzentrationen Auswirkungen auf uropathogene Keime haben (88). Dies könnte ein möglicher Anhaltspunkt für eine synergistische Therapie von Harnwegsinfektionen durch Phytotherapeutika mit Antibiotika sein.

4.4.1.3 Rosmarinöl

Liebstöckel und Rosmarin sind, neben Tausendgüldenkraut, die weiteren Inhaltsstoffe, die in Canephron® enthalten sind. Dieses wird schon zur Behandlung von Harnwegsinfekten und Prophylaxe von rezidivierenden Harnwegsinfekten verabreicht. Durch Gabe einer Canephron®-Monotherapie konnte die Häufigkeit von rezidivierenden Harnwegsinfektionen signifikant gesenkt werden (93). Es konnte gezeigt werden, dass Canephron®-einer Antibiotikatherapie in den ersten 30 Tagen nach Infektion nicht unterlegen ist (17, 18, 93). Des Weiteren ist die Häufigkeit von erneuten Antibiotikagaben nach Therapie des Harnwegsinfektes mit Canephron® signifikant geringer als nach Therapie des initialen Infektes mit einem Antibiotikum (93). Es konnte zusätzlich aufgezeigt werden, dass die Kombination aus Canephron® und Fluorochinolonen zu einer stärkeren Symptomabnahme führte als in den Kontrollgruppe, die unter alleiniger Fluorochinolonthherapie war (94).

Wie schon in 1.5.1 aufgeführt, ist eine rein symptomatische Therapie bei unkomplizierten Harnwegsinfektionen eine adäquate Alternative zu einer antibiotischen Therapie. Canephron® hat abgesehen von einer analgetischen, auch eine spasmolytische, antiinflammatorische und diuretische Wirkung (95, 96). Die genauen Wirkungsmechanismen sind jedoch weiterhin unklar.

In Konzentrationen von 90 mg/mL konnte die Fortbewegungsfähigkeit von allen untersuchten Bakterien gehemmt werden. Nur bei *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae* und *Citrobacter freundii* konnte eine signifikante Hemmung bei 9 mg/mL beobachtet werden. In der Literatur gibt es nur für einige Bakterienarten Untersuchungen von Rosmarin auf deren Fortbewegungsfähigkeit. Es konnte aufgezeigt werden, dass Rosmarinöl vor allem die Fähigkeit des Schwärmens bei *Pseudomonas aeruginosa* hemmt (97).

Man erkennt, dass die minimalen Hemmkonzentrationen von Rosmarinextrakt für uropathogene Bakterien höher sind als die anderer Phytotherapeutika. Für *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* und *P. aeruginosa* liegen diese allesamt bei > 1 mg/mL. Rios et. al schlägt vor, weiterführende Studien für pflanzliche Extrakte mit Hemmkonzentrationen < 1 mg/mL und für isolierte Verbindungen mit Hemmkonzentrationen < 100 µg/mL durchzuführen (98). In den wenigen in der Literatur auffindbaren Studien, die die minimalen Hemmkonzentrationen von Rosmarin mit gramnegativen uropathogenen Bakterien untersuchen, variieren die Konzentrationen sehr stark von 350 µg/mL bis 3,125 mg/mL (99, 100). Hierbei ist

jedoch wieder die eingeschränkte Vergleichbarkeit aufgrund unterschiedlicher Methodik und der in vielen Studien zuerst nötigen Extrahierung von Rosmarinextrakt aus den getrockneten Blättern der Pflanze zu unterstreichen.

4.4.1.4 Liebstöckel

Die minimale Hemmkonzentration für die untersuchten Pathogene lag bei 6,25 mg/ml. Für *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens* und eines *E. coli* lagen die minimalen Hemmkonzentrationen bei 12,5 mg/mL. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass dies im Versuchsmodell nur eine Verdünnungsstufe Unterschied ist. Deutlich erkennbar ist daher die Konstanz der minimalen Hemmkonzentrationen über die Speziesbarriere hinaus. Die wenigen Studien, die in der Literatur hierzu zu finden sind, können für einen Vergleich der Ergebnisse aufgrund der verschiedenen Methoden und Ausgangssubstanzen nicht herangezogen werden. Auch wenn Liebstöckel in unseren Versuchsassays die untersuchten Virulenzfaktoren nur in hohen Konzentrationen beeinflussen konnte, ist eine diuretisch und anti-inflammatorisch beschrieben, woraus sich die positiven Effekte auf unkomplizierte Harnwegsinfekte erklären lassen können (42, 43).

4.4.1.5 Proanthocyanidine

Im Folgenden beziehe ich mich, soweit nicht anders angegebenen, auf die Updates der Cochrane Reviews von Jepson et. al. aus dem Jahre 2008 und 2012 (101, 102). In Zusammenschau der Studienlage konnte 2008 festgestellt werden, dass Cranberries signifikant die Inzidenz von rezidivierenden unkomplizierten Harnwegsinfekten, vor allem bei Frauen, senken. Bei älteren Menschen, komplizierten Harnwegsinfektionen, katheterassoziierten Harnwegsinfektionen oder Infektionen bei Patienten mit neurogener Blasenentleerungsstörung war dies nicht der Fall. Zu beachten ist jedoch, dass die Dropoutrate bei Studien mit Cranberry Saft, im Vergleich zu anderen Applikationsformen, hoch und die Compliance niedrig war. Von den im Cochrane Review eingeschlossenen 10 Studien wurden 4 mit oraler Tablettenapplikation durchgeführt, was die Compliance stark erhöhte.

In dem 2012 erschienenen Update wurden weitere 14 Studien zu den bestehenden Studien hinzugefügt. Jepson et. al. kam zu dem Schluss, dass die Applikation von Cranberry-Produkten weniger effektiv war, als in den Jahren vorher angenommen wurde.

Weiterhin gibt es jedoch Anzeichen, dass die Applikation von Cranberry bei Harnwegsinfektionen einen Nutzen hat. Es mangelt allerdings an standardisierten Studien. Es ist unklar, wie hoch die Konzentration, beziehungsweise wie lange die Einnahmedauer von Cranberry-Produkten sein muss, um den gewünschten Effekt zu erzielen.

Wie schon bekannt konnte aufgezeigt werden, dass Proanthocyanidine die Adhäsionsfähigkeit von uropathogenen Bakterien inhibiert. Weithin unbekannt ist jedoch die Wirkung von PACs auf die Fortbewegungsfähigkeit von uropathogenen Bakterien. In diesem Versuchsassay zeigte sich, dass Proanthocyanidine in einer Konzentration von 0,25 mg/mL bei alle Bakterienarten, außer *E. coli*, eine signifikante Hemmung hervorrufen konnte. Auch Che O'May et. al konnten anhand von *Pseudomonas aeruginosa* diese Hemmung der Schwärmfähigkeit bestätigen (103). Jedoch konnte keine Hemmung der weiteren bakteriellen Fortbewegungsarten *Twitching* und *Swimming* erkannt werden (103). Ulrey et al. beschreibt eine Hemmung der Schwärmfähigkeit auch bei Konzentrationen von 100 µg/mL (104). Es wird vermutet, dass die Hemmung von Flagellen und die dadurch resultierende Motilitätshemmung durch Proanthocyanidine einer der Hauptfaktoren für die positiven Eigenschaften auf Harnwegsinfektionen ist (105). Zusätzlich gibt es erste Hinweise darauf, dass Proanthocyanidine die Bildung von Quiescence intracellular reservoirs und damit die urogenitale Persistenz von uropathogenen *E. coli* vermindert (106). Da die Mechanismen hierfür weitgehend unklar sind, sind weitere Untersuchung nötig.

4.4.1.6 Mannoside

D-Mannose reduziert das Auftreten von rezidivierenden Harnwegsinfektionen bei Risikopatienten (107). Dies sind beispielsweise Patienten, die unter einer neurogenen Blasenentleerungsstörung leiden. Auch bei Patienten ohne diese Risiken konnte aufgezeigt werden, dass D-Mannose Vorteile mit sich bringt (108).

So wurde von Porru et. al. festgestellt, dass die Dauer der Rezidivfreiheit in der D-Mannose Gruppe (im Mittel 200 Tage) im Vergleich zur Antibiotika-Gruppe (im Mittel 52.7 Tage), ca. 4 mal länger war (109). Außerdem konnte festgestellt werden, dass D-Mannose auch positive Auswirkungen auf die Symptomintensität hat. So nahmen Dysurie und Harndrang in der D-Mannose Gruppe stark ab.

Kranjčec et. al. verabreichten für 6 Monate D-Mannose oder Nitrofurantoin als Infektionsprophylaxe (110). Dies wurde mit einer Kontrollgruppe verglichen, die keine

Infektionsprophylaxe einnahm. Es zeigte sich, dass die Gruppen mit Infektionsprophylaxe ein geringeres Risiko einer wiederkehrenden Harnwegsinfektion hatten. Zusätzlich kommt hinzu, dass Patienten mit D-Mannose-Prophylaxe geringere Nebenwirkungsraten als Patienten mit Nitrofurantoin-Prophylaxe hatten.

Wagenlehner et. al. verabreichten im Rahmen einer nicht-interventionellen Studie mit 97 weiblichen Probanden mit akuter unkomplizierter Zystitis D-Mannose als Monotherapie, supportiv zu einer antibiotischen Therapie und in Kombination mit anderen Phytopharmaka (111). Es zeigte sich, dass es am definierten Endpunkt der Studie nach 7 Tagen kaum Unterschiede (92,9% - 87,5% Symptomverbesserung) zwischen den verschiedenen Therapien gab. So waren sogar die Probandinnen unter Monotherapie mit D-Mannose zu 78,6% symptomfrei, während bei Kombination mit Antibiotika nur 67,9% eine Symptombefreiung angaben. Zusätzlich gaben schon nach 3 Tagen 85,7% der Probandinnen unter D-Mannose-Monotherapie kein Brennen beim Wasserlassen mehr an und galten somit als geheilt. Verglichen hierzu gaben in den beiden anderen Gruppen jeweils nur 56% der Studienteilnehmerinnen keine Dysurie mehr an.

Trotz der vielversprechenden Ergebnisse sind aufgrund der nicht ausreichenden Datenlage Konzentration, Einnahmedauer und Applikationsart weiterhin weitgehend unklar.

5 Ausblick

Ziel dieses Kooperationsprojektes aus Urologie und Mikrobiologie war es, im Sinne einer Antivirulenz-Therapie, den Einfluss von bestimmten Substanzen, die in der Klinik gegebenenfalls bei der Behandlung von Harnwegsinfektionen prophylaktisch oder supportiv zu gängigen Behandlungsmethoden angewendet werden können, auf infektionsrelevante Eigenschaften der wichtigsten uropathogenen Bakterien zu untersuchen.

Im Gegensatz zu den meisten klinischen Studien wurde in dieser Arbeit nicht nur *E. coli* als häufigster Erreger von Harnwegsinfektionen untersucht, sondern eine für Harnwegsinfektionen repräsentative Stammsammlung klinischer Isolate unterschiedlicher Spezies zusammengestellt. Es wurden folgende Verbindungen evaluiert: verschiedene Derivate von Senfölen (Thiocyanaten), Rosmarinextrakt, Liebstöckel und zu Teilen Proanthocyanidine (Cranberry) und D-Mannose.

Für diese wurden die Minimalen Hemmkonzentrationen auf die verschiedenen Bakterienspezies bestimmt. Des Weiteren wurde die bakterielle Motilität durch Schwärmversuche und die bakterielle Adhäsionsfähigkeit durch Agglutinationsversuche untersucht.

Im Rahmen dieser systematischen *in vitro* Evaluation konnte die Dosisabhängigkeit und Spezies-Spezifität einzelner Phytotherapeutika bereits erhältlicher Präparate aufgezeigt werden. Es zeigte sich, dass unterschiedliche Erreger unterschiedlich stark auf ausgewählte Phytotherapeutika ansprechen. Zusätzlich haben bestimmte antimikrobielle Substanzen auf verschiedene Virulenzfaktoren desselben Erregers unterschiedliche Wirkungen. Dies wird in der Literatur meist ignoriert und könnte der Grund dafür sein, dass viele klinische Studien nicht eindeutig sind. Die hier gewonnenen Ergebnisse konnten ausgewählte Phytotherapeutika systematisch vergleichbar machen, die unter Berücksichtigung das aktuelle Management in multimodalen Therapieansätzen weiter optimieren könnten.

Aus dem Erforschen antimikrobieller Verbindungen mit geringeren Nebenwirkungsraten und geringeren Resistenzraten im Vergleich zu gängigen antibiotischen Therapien ergibt sich ein enormer Vorteil. Alternativen zu Antibiotika in der Therapie von unkomplizierten Harnwegsinfektionen sind unumgänglich und stellen die Zukunft dar. Moderne Medizin wird personalisierter und dadurch mehr auf den

einzelnen Patienten zugeschnitten. Diese Individualisierung erhält in allen Fachrichtungen Einzug. Hierzu könnte in Zukunft, wie in Kliniken teilweise schon durchgeführt, auch im ambulanten Setting als Standard die Analyse des Erregerspektrums unkomplizierter Harnwegsinfektionen und darauf zugeschnittener Therapien gehören. In diesem Rahmen wäre es auch denkbar, eine Art Antibioogramm für Phytotherapeutika in der Praxis zu etablieren. Durch das Hinzufügen von Phytotherapeutika zum Arsenal antimikrobieller Medikamente erschließen sich neue Wege multimodaler Therapieansätze.

Der Nutzen beschränkt sich jedoch nicht nur auf unkomplizierte Harnwegsinfektionen oder Infektionen allgemein. Biofilme mit pathogenen Organismen bilden sich überall. So könnten antimikrobielle Verbindungen in der Lebensmittelindustrie eingesetzt werden, um bakterielle Besiedelung von Produkten zu minimieren. Außerdem könnten diese in Beschichtungen mit bestimmter Freisetzungsrate, die durch die Gestaltung der Schicht steuerbar ist, Anwendung finden. Hier sind vor allem Blasenkatheterbeschichtungen hervorzuheben, die häufig Quelle von nosokomialen Infektionen sind.

Die hier erhobenen Ergebnisse stellen erste Anhaltspunkte zur Prophylaxe und Therapie von unkomplizierten Harnwegsinfektionen durch einige ausgewählte antimikrobielle Verbindungen dar. Man erkennt anhand der Ergebnisse, dass nicht alle uropathogenen Bakterienarten gleichermaßen auf Phytotherapeutika reagieren. Die Vernachlässigung der bakterienspezifischen Eigenschaften könnte ein möglicher Grund sein, weshalb einige klinische Studien Phytotherapeutika als nicht ausreichend wirksam gegen Harnwegsinfektionen erachten. Auf die in dieser Studie gewonnenen Ergebnisse können weitere Forschungsarbeiten aufbauen. Als Nächstes müssten Versuche in der Zellkultur, im Mausmodell und schlussendlich am Patienten im Rahmen von randomisierten kontrollierten Studien folgen. Bis dahin bleiben jedoch viele Fragen offen. Wie viel muss man oral applizieren, damit die nötigen Konzentrationen im Urogenitaltrakt erreicht werden? Wie sind die Metabolisierungswege? Treten noch andere nicht berichtete Nebenwirkungen auf? Wie ist die genaue biochemische Wirkungsweise der Substanzen auf die Bakterien? Wirken diese Substanzen auch im Patienten?

Bis man diese Fragen in Zukunft beantworten kann sind jedoch noch eine Vielzahl an *In-vitro*- und *In-vivo*-Studien nötig.

Literaturverzeichnis

1. Sir Alexander Fleming – Nobel Lecture. NobelPrize.org. Nobel Prize Outreach AB 2021. Fri. 3 Dec 2021.
<<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1945/fleming/lecture/>>.
2. World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva: World Health Organization; 2014 2014.
3. O'Neill J. Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations. *Rev Antimicrob Resist.* 2016.
4. Murray CJL, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Robles Aguilar G, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet.*
5. Harding GK, Ronald AR. The management of urinary infections: what have we learned in the past decade? *Int J Antimicrob Agents.* 1994;4(2):83-8.
6. Schappert SM, Rechtsteiner EA. Ambulatory medical care utilization estimates for 2007. *Vital Health Stat 13.* 2011(169):1-38.
7. Stamm WE, Norrby SR. Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *J Infect Dis.* 2001;183 Suppl 1:S1-4.
8. Foxman B. The epidemiology of urinary tract infection. *Nat Rev Urol.* 2010;7(12):653-60.
9. Piechota H. [Prevention of Catheter-Associated Urinary Tract Infections]. *Aktuelle Urol.* 2016;47(3):220-8.
10. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Dis Mon.* 2003;49(2):53-70.
11. Johnson CC. Definitions, classification, and clinical presentation of urinary tract infections. *Med Clin North Am.* 1991;75(2):241-52.
12. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol.* 2015;13(5):269-84.
13. Foxman B. Recurring urinary tract infection: incidence and risk factors. *Am J Public Health.* 1990;80(3):331-3.
14. Foxman B, Gillespie B, Koopman J, Zhang L, Palin K, Tallman P, et al. Risk factors for second urinary tract infection among college women. *Am J Epidemiol.* 2000;151(12):1194-205.
15. DGU L. Interdisziplinäre S3 Leitlinie: Epidemiologie, Diagnostik, Therapie, Prävention und Management unkomplizierter, bakterieller, ambulant erworbener Harnwegsinfektionen bei erwachsenen Patienten. Langversion 1.1-2: AWMF Registernummer: 043/044; 2017 [Available from: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/043044I_S3_Harnwegsinfektionen.pdf].
16. Gágyor I, Bleidorn J, Kochen MM, Schmiemann G, Wegscheider K, Hummers-Pradier E. Ibuprofen versus fosfomycin for uncomplicated urinary tract infection in women: randomised controlled trial. *Bmj.* 2015;351:h6544.
17. Wagenlehner FM, Abramov-Sommariva D, Höller M, Steindl H, Naber KG. Non-Antibiotic Herbal Therapy (BNO 1045) versus Antibiotic Therapy (Fosfomycin Trometamol) for the Treatment of Acute Lower Uncomplicated Urinary Tract Infections in Women: A Double-Blind, Parallel-Group, Randomized, Multicentre, Non-Inferiority Phase III Trial. *Urol Int.* 2018;101(3):327-36.

18. Ostrovsky DA, Ehrlich A. Canephron® N (BNO 1045) may be Non-inferior to Single-dose Fosfomycin in Reducing the Need for Additional Antibiotics to Treat Women with Presumptive Uncomplicated Urinary Tract Infections. *Explore (NY)*. 2019;15(2):165-7.
19. Kahlmeter G, Åhman J, Matuschek E. Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Causing Uncomplicated Urinary Tract Infections: A European Update for 2014 and Comparison with 2000 and 2008. *Infect Dis Ther*. 2015;4(4):417-23.
20. Schito GC, Naber KG, Botto H, Palou J, Mazzei T, Gualco L, et al. The ARESC study: an international survey on the antimicrobial resistance of pathogens involved in uncomplicated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;34(5):407-13.
21. Bader MS, Loeb M, Brooks AA. An update on the management of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance. *Postgrad Med*. 2017;129(2):242-58.
22. Bonkat G, Bartoletti R, Bruyère F, Cai T, Geerlings SE, Köves B, et al. EAU Guidelines on Urological Infections. 2023:16-9.
23. Wagenlehner FM, Wagenlehner C, Savov O, Gualco L, Schito G, Naber KG. [Clinical aspects and epidemiology of uncomplicated cystitis in women. German results of the ARESC Study]. *Urologe A*. 2010;49(2):253-61.
24. Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P. *Mikrobiologische Diagnostik*. 2. Stuttgart: Thieme Verlag KG; 2009. p. 424.
25. Suerbaum S, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF. *Enterobakterien. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2016. p. 227-69.
26. Petrovska BB. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacogn Rev*. 2012;6(11):1-5.
27. Nickel JC. Management of urinary tract infections: historical perspective and current strategies: Part 1--Before antibiotics. *J Urol*. 2005;173(1):21-6.
28. Aires A, Mota VR, Saavedra MJ, Rosa EA, Bennett RN. The antimicrobial effects of glucosinolates and their respective enzymatic hydrolysis products on bacteria isolated from the human intestinal tract. *J Appl Microbiol*. 2009;106(6):2086-95.
29. Borges A, Abreu AC, Ferreira C, Saavedra MJ, Simões LC, Simões M. Antibacterial activity and mode of action of selected glucosinolate hydrolysis products against bacterial pathogens. *J Food Sci Technol*. 2015;52(8):4737-48.
30. Conrad A, Biehler D, Nobis T, Richter H, Engels I, Biehler K, et al. Broad spectrum antibacterial activity of a mixture of isothiocyanates from nasturtium (*Tropaeoli majoris herba*) and horseradish (*Armoraciae rusticanae radix*). *Drug Res (Stuttg)*. 2013;63(2):65-8.
31. Kurepina N, Kreiswirth BN, Mustaev A. Growth-inhibitory activity of natural and synthetic isothiocyanates against representative human microbial pathogens. *J Appl Microbiol*. 2013;115(4):943-54.
32. Conrad A, Kolberg T, Engels I, Frank U. [In vitro study to evaluate the antibacterial activity of a combination of the haulm of nasturtium (*Tropaeoli majoris herba*) and of the roots of horseradish (*Armoraciae rusticanae radix*)]. *Arzneimittelforschung*. 2006;56(12):842-9.
33. Nieto G, Ros G, Castillo J. Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. *Medicines (Basel)*. 2018;5(3).
34. Rašković A, Milanović I, Pavlović N, Čebović T, Vukmirović S, Mikov M. Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complement Altern Med*. 2014;14:225.

35. Bakirel T, Bakirel U, Keleş OU, Ulgen SG, Yardibi H. In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *J Ethnopharmacol.* 2008;116(1):64-73.
36. Nogueira de Melo GA, Grespan R, Fonseca JP, Farinha TO, Silva EL, Romero AL, et al. *Rosmarinus officinalis* L. essential oil inhibits in vivo and in vitro leukocyte migration. *J Med Food.* 2011;14(9):944-6.
37. González-Trujano ME, Peña EI, Martínez AL, Moreno J, Guevara-Fefer P, Déciga-Campos M, et al. Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol.* 2007;111(3):476-82.
38. Kayashima T, Matsubara K. Antiangiogenic effect of carnosic acid and carnosol, neuroprotective compounds in rosemary leaves. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2012;76(1):115-9.
39. Habtemariam S. The Therapeutic Potential of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) Diterpenes for Alzheimer's Disease. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2016;2016:2680409.
40. Agency EM. Community herbal monograph on *Rosmarinus officinalis* L., aetheroleum 2010 [Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-community-herbal-monograph-rosmarinus-officinalis-l-aetheroleum_en.pdf].
41. Ngo SNT, Williams DB, Head RJ. Rosemary and Cancer Prevention: Preclinical Perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2011;51(10):946-54.
42. Jakubczyk A, Złotek U, Rybczyńska-Tkaczyk K. Influence of Elicitation and Drying Methods on Anti-Metabolic Syndrome, and Antimicrobial Properties of Extracts and Hydrolysates Obtained from Elicited Lovage (*Levisticum officinale* Koch). *Nutrients.* 2021;13(12).
43. Jakubczyk A, Złotek U, Szymanowska U, Rybczyńska-Tkaczyk K, Jęderka K, Lewicki S. In vitro Antioxidant, Anti-inflammatory, Anti-metabolic Syndrome, Antimicrobial, and Anticancer Effect of Phenolic Acids Isolated from Fresh Lovage Leaves [*Levisticum officinale* Koch] Elicited with Jasmonic Acid and Yeast Extract. *Antioxidants.* 2020;9(6):554.
44. de Llano DG, Esteban-Fernández A, Sánchez-Patán F, Martínlvarez PJ, Moreno-Arribas MV, Bartolomé B. Anti-Adhesive Activity of Cranberry Phenolic Compounds and Their Microbial-Derived Metabolites against Uropathogenic *Escherichia coli* in Bladder Epithelial Cell Cultures. *Int J Mol Sci.* 2015;16(6):12119-30.
45. Nielubowicz GR, Mobley HL. Host-pathogen interactions in urinary tract infection. *Nat Rev Urol.* 2010;7(8):430-41.
46. Edén CS, Hansson HA. *Escherichia coli* pili as possible mediators of attachment to human urinary tract epithelial cells. *Infect Immun.* 1978;21(1):229-37.
47. Källénus G, Möllby R, Svenson SB, Helin I, Hultberg H, Cedergren B, et al. Occurrence of P-fimbriated *Escherichia coli* in urinary tract infections. *Lancet.* 1981;2(8260-61):1369-72.
48. Klein RD, Hultgren SJ. Urinary tract infections: microbial pathogenesis, host-pathogen interactions and new treatment strategies. *Nat Rev Microbiol.* 2020;18(4):211-26.
49. Bacheller CD, Bernstein JM. Urinary tract infections. *Med Clin North Am.* 1997;81(3):719-30.
50. Lane MC, Lockett V, Monterosso G, Lamphier D, Weinert J, Hebel JR, et al. Role of motility in the colonization of uropathogenic *Escherichia coli* in the urinary tract. *Infect Immun.* 2005;73(11):7644-56.

51. Lane MC, Alteri CJ, Smith SN, Mobley HL. Expression of flagella is coincident with uropathogenic *Escherichia coli* ascension to the upper urinary tract. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(42):16669-74.
52. Duan Q, Zhou M, Zhu L, Zhu G. Flagella and bacterial pathogenicity. *J Basic Microbiol*. 2013;53(1):1-8.
53. Mysorekar IU, Hultgren SJ. Mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli* persistence and eradication from the urinary tract. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(38):14170-5.
54. Mobley HL, Green DM, Trifillis AL, Johnson DE, Chippendale GR, Lockett CV, et al. Pyelonephritogenic *Escherichia coli* and killing of cultured human renal proximal tubular epithelial cells: role of hemolysin in some strains. *Infect Immun*. 1990;58(5):1281-9.
55. Mehershahi KS, Chen SL. Complete Genome Sequence of the Uropathogenic *Escherichia coli* Strain NU14. *Genome Announc*. 2017;5(18).
56. Marcon J, Schubert S, Stief CG, Magistro G. In vitro efficacy of phytotherapeutics suggested for prevention and therapy of urinary tract infections. *Infection*. 2019;47(6):937-44.
57. Jacob SW, Herschler R. Pharmacology of DMSO. *Cryobiology*. 1986;23(1):14-27.
58. Mulvey MA, Lopez-Boado YS, Wilson CL, Roth R, Parks WC, Heuser J, et al. Induction and evasion of host defenses by type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *Science*. 1998;282(5393):1494-7.
59. Hacker J, Ott M, Blum G, Marre R, Heesemann J, Tschäpe H, et al. Genetics of *Escherichia coli* uropathogenicity: analysis of the O6:K15:H31 isolate 536. *Zentralbl Bakteriol*. 1992;276(2):165-75.
60. Jarrell KF, McBride MJ. The surprisingly diverse ways that prokaryotes move. *Nat Rev Microbiol*. 2008;6(6):466-76.
61. Kearns DB. A field guide to bacterial swarming motility. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(9):634-44.
62. Suerbaum S, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2016.
63. Hahn E, Wild P, Hermanns U, Sebbel P, Glockshuber R, Häner M, et al. Exploring the 3D molecular architecture of *Escherichia coli* type 1 pili. *J Mol Biol*. 2002;323(5):845-57.
64. Choudhury D, Thompson A, Stojanoff V, Langermann S, Pinkner J, Hultgren SJ, et al. X-ray structure of the FimC-FimH chaperone-adhesin complex from uropathogenic *Escherichia coli*. *Science*. 1999;285(5430):1061-6.
65. Abraham SN, Sun D, Dale JB, Beachey EH. Conservation of the D-mannose-adhesion protein among type 1 fimbriated members of the family Enterobacteriaceae. *Nature*. 1988;336(6200):682-4.
66. Schaeffer AJ, Amundsen SK, Jones JM. Effect of carbohydrates on adherence of *Escherichia coli* to human urinary tract epithelial cells. *Infect Immun*. 1980;30(2):531-7.
67. Hutchings MI, Truman AW, Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future. *Curr Opin Microbiol*. 2019;51:72-80.
68. Klein EY, Boeckel TPV, Martinez EM, Pant S, Gandra S, Levin SA, et al. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018;115(15):E3463-E70.
69. Katz L, Baltz RH. Natural product discovery: past, present, and future. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2016;43(2-3):155-76.

70. Baxter GJ, Graham AB, Lawrence JR, Wiles D, Paterson JR. Salicylic acid in soups prepared from organically and non-organically grown vegetables. *Eur J Nutr.* 2001;40(6):289-92.
71. Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clin Infect Dis.* 2009;49(11):1749-55.
72. Rashid MH, Kornberg A. Inorganic polyphosphate is needed for swimming, swarming, and twitching motilities of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(9):4885-90.
73. Henrichsen J. Bacterial surface translocation: a survey and a classification. *Bacteriol Rev.* 1972;36(4):478-503.
74. Lautrop H. Gliding motility in bacteria as a taxonomic criterion. *Publ Fac Sci Univ JE Purkyne, ser K.* 1965;35:322-7.
75. Schaeffer AJ, Amundsen SK, Schmidt LN. Adherence of *Escherichia coli* to human urinary tract epithelial cells. *Infect Immun.* 1979;24(3):753-9.
76. Ofek I, Beachey EH. Bacterial adherence. *Adv Intern Med.* 1980;25:503-32.
77. Duguid JP, Clegg S, Wilson MI. The fimbrial and non-fimbrial haemagglutinins of *Escherichia coli*. *J Med Microbiol.* 1979;12(2):213-27
78. Kranz J, Schmidt S, Schneidewind L. Current Evidence on Nonantibiotic Prevention of Recurrent Urinary Tract Infections. *Eur Urol Focus.* 2019;5(1):17-9.
79. Sihra N, Goodman A, Zakri R, Sahai A, Malde S. Nonantibiotic prevention and management of recurrent urinary tract infection. *Nat Rev Urol.* 2018;15(12):750-76.
80. Beerepoot MA, Geerlings SE, van Haarst EP, van Charante NM, ter Riet G. Nonantibiotic prophylaxis for recurrent urinary tract infections: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Urol.* 2013;190(6):1981-9.
81. Langdon A, Crook N, Dantas G. The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome Med.* 2016;8(1):39.
82. Kranz J, Lackner J, Künzel U, Wagenlehner F, Schmidt S. Phytotherapy in Adults With Recurrent Uncomplicated Cystitis—a Systematic Review. *Dtsch Arztebl Int.* 2022(Forthcoming).
83. Lau I, Albrecht U, Kirschner-Hermanns R. [Phytotherapy in catheter-associated urinary tract infection : Observational study recording the efficacy and safety of a fixed herbal combination containing *Tropaeoli majoris herba* and *Armoraciae rusticanae radix*]. *Urologe A.* 2018;57(12):1472-80.
84. Albrecht U, Goos KH, Schneider B. A randomised, double-blind, placebo-controlled trial of a herbal medicinal product containing *Tropaeoli majoris herba* (*Nasturtium*) and *Armoraciae rusticanae radix* (*Horseradish*) for the prophylactic treatment of patients with chronically recurrent lower urinary tract infections. *Curr Med Res Opin.* 2007;23(10):2415-22.
85. Patel J, Yin HB, Bauchan G, Mowery J. Inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* virulence factors by benzyl isothiocyanate. *Food Microbiol.* 2020;86:103303.
86. Abreu AC, Borges A, Simões LC, Saavedra MJ, Simões M. Antibacterial activity of phenyl isothiocyanate on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Med Chem.* 2013;9(5):756-61.
87. Mutters NT, Mampel A, Kropidlowski R, Biehler K, Günther F, Bălu I, et al. Treating urinary tract infections due to MDR *E. coli* with Isothiocyanates - a phytotherapeutic alternative to antibiotics? *Fitoterapia.* 2018;129:237-40.
88. Kaiser SJ, Mutters NT, Blessing B, Günther F. Natural isothiocyanates express antimicrobial activity against developing and mature biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Fitoterapia.* 2017;119:57-63.

89. Márton MR, Krumbein A, Platz S, Schreiner M, Rohn S, Rehmers A, et al. Determination of bioactive, free isothiocyanates from a glucosinolate-containing phytotherapeutic agent: a pilot study with in vitro models and human intervention. *Fitoterapia*. 2013;85:25-34.
90. Rouzaud G, Young SA, Duncan AJ. Hydrolysis of glucosinolates to isothiocyanates after ingestion of raw or microwaved cabbage by human volunteers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004;13(1):125-31.
91. Chung FL, Morse MA, Eklind KI, Lewis J. Quantitation of human uptake of the anticarcinogen phenethyl isothiocyanate after a watercress meal. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1992;1(5):383-8.
92. Jiao D, Ho CT, Foiles P, Chung FL. Identification and quantification of the N-acetylcysteine conjugate of allyl isothiocyanate in human urine after ingestion of mustard. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1994;3(6):487-92.
93. Höller M, Steindl H, Abramov-Sommariva D, Wagenlehner F, Naber KG, Kostev K. Treatment of Urinary Tract Infections with Canephron(®) in Germany: A Retrospective Database Analysis. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(6).
94. Sabadash M, Shulyak A. Canephron® N in the treatment of recurrent cystitis in women of child-bearing Age: a randomised controlled study. *Clinical Phytoscience*. 2017;3(1):9.
95. Nausch B, Pace S, Pein H, Koeberle A, Rossi A, Künstle G, et al. The standardized herbal combination BNO 2103 contained in Canephron(®) N alleviates inflammatory pain in experimental cystitis and prostatitis. *Phytomedicine*. 2019;60:152987.
96. Haloui M, Louedec L, Michel JB, Lyoussi B. Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*. *J Ethnopharmacol*. 2000;71(3):465-72.
97. Araby E, El-Tablawy SY. Inhibitory effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil on pathogenicity of irradiated and non-irradiated *Pseudomonas aeruginosa*. *J Photochem Photobiol B*. 2016;159:24-32.
98. Ríos JL, Recio MC. Medicinal plants and antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol*. 2005;100(1-2):80-4.
99. Latha R, Ben Abdallah F, Al-Sarhan BO, Al-Sodany Y. Antibacterial and Biofilm Inhibitory Activity of Medicinal Plant Essential Oils Against *Escherichia coli* Isolated from UTI Patients. *Molecules*. 2019;24(6).
100. Petrolini FV, Lucarini R, de Souza MG, Pires RH, Cunha WR, Martins CH. Evaluation of the antibacterial potential of *Petroselinum crispum* and *Rosmarinus officinalis* against bacteria that cause urinary tract infections. *Braz J Microbiol*. 2013;44(3):829-34.
101. Jepson RG, Craig JC. Cranberries for preventing urinary tract infections. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008(1):Cd001321.
102. Jepson RG, Williams G, Craig JC. Cranberries for preventing urinary tract infections. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;10(10):Cd001321.
103. O'May C, Tufenkji N. The Swarming Motility of *Pseudomonas aeruginosa* Is Blocked by Cranberry Proanthocyanidins and Other Tannin-Containing Materials. *Applied and Environmental Microbiology*. 2011;77(9):3061-7.
104. Ulrey RK, Barksdale SM, Zhou W, van Hoek ML. Cranberry proanthocyanidins have anti-biofilm properties against *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Complement Altern Med*. 2014;14:499.
105. Hidalgo G, Chan M, Tufenkji N. Inhibition of *Escherichia coli* CFT073 fliC expression and motility by cranberry materials. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(19):6852-7.

- 106.Sun J, Deering RW, Peng Z, Najja L, Khoo C, Cohen PS, et al. Pectic Oligosaccharides from Cranberry Prevent Quiescence and Persistence in the Uropathogenic *Escherichia coli* CFT073. *Sci Rep.* 2019;9(1):19590.
- 107.Lenger SM, Bradley MS, Thomas DA, Bertolet MH, Lowder JL, Sutcliffe S. D-mannose vs other agents for recurrent urinary tract infection prevention in adult women: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2020;223(2):265.e1-.e13.
- 108.Kyriakides R, Jones P, Somani BK. Role of D-Mannose in the Prevention of Recurrent Urinary Tract Infections: Evidence from a Systematic Review of the Literature. *Eur Urol Focus.* 2021;7(5):1166-9.
- 109.Porru D, Parmigiani A, Tinelli C, Barletta D, Choussos D, Di Franco C, et al. Oral D-mannose in recurrent urinary tract infections in women: a pilot study. *Journal of Clinical Urology.* 2014;7(3):208-13.
- 110.Kranjčec B, Papeš D, Altarac S. D-mannose powder for prophylaxis of recurrent urinary tract infections in women: a randomized clinical trial. *World J Urol.* 2014;32(1):79-84.
- 111.Wagenlehner F, Lorenz H, Ewald O, Gerke P. Why d-Mannose May Be as Efficient as Antibiotics in the Treatment of Acute Uncomplicated Lower Urinary Tract Infections-Preliminary Considerations and Conclusions from a Non-Interventional Study. *Antibiotics (Basel).* 2022;11(3).

Abkürzungsverzeichnis

AITC	Allylithiocyanat
BITC	Benzylithiocyanat
CFU	colony forming units
DMSO	Dimethylsulfoxid
H ₂ O	Wasser
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HWI	Harnwegsinfektion
KBE	Koloniebildende Einheiten
KH ₂ PO ₄	Kaliumhydrogenphosphat
LB	lysogeny broth
MHK	Minimale Hemmkonzentratione
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat
NaCl	Natriumchlorid
OD	Optische Dichte
PBS	Phosphate buffered saline
PITC	Phenylithiocyanat
rpm	revolutions per minute

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Senfölglycosid.....	9
Abbildung 5: Allylisothiocyanat	9
Abbildung 3: Benzylisothiocyanat	9
Abbildung 4: Phenylisothiocyanat.....	9
Abbildung 6: Methyl- α -D-mannopyranoside	11
Abbildung 7: Darstellung einer 96 Well Mikrotiterplatte	20
Abbildung 8: Darstellung eines Schwärmversuchs.....	22
Abbildung 9: Agglutinationsversuche; a) Agglutination b) keine Agglutination (56) ..	23
Abbildung 10: Intertestvariabilität.....	26
Abbildung 11: DMSO-Effekte auf das Bakterienwachstum.....	27
Abbildung 12: Minimale Hemmkonzentrationen des <i>E. coli</i> Isolates NU14	28
Abbildung 13: Minimale Hemmkonzentrationen des <i>E. coli</i> Isolates CFT073.....	29
Abbildung 14: Minimale Hemmkonzentration des <i>E. coli</i> Isolates 536.....	30
Abbildung 15: Minimale Hemmkonzentrationen von <i>Klebsiella pneumoniae</i>	31
Abbildung 16: Minimale Hemmkonzentrationen von <i>Proteus mirabilis</i>	32
Abbildung 17: Minimale Hemmkonzentrationen von <i>Enterobacter cloacae</i>	33
Abbildung 18: Minimale Hemmkonzentrationen von <i>Serratia marcescens</i>	34
Abbildung 19: Minimale Hemmkonzentrationen von <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35
Abbildung 20: Minimale Hemmkonzentrationen von <i>Acinetobacter baumannii</i>	36
Abbildung 21: Minimale Hemmkonzentrationen von <i>Citrobacter freundii</i>	37
Abbildung 22: Minimale Hemmkonzentrationen von <i>Morganella morganii</i>	38
Abbildung 23: Wachstumskurven unter Rosmarinextrakteinfluss	40
Abbildung 24: Wachstumskurven unter Rosmarinextrakteinfluss	41
Abbildung 25: Bakterielle Motilität von <i>Escherichia coli</i> unter Einfluss der Phytotherapeutika.....	43
Abbildung 26: Bakterielle Motilität von <i>Proteus mirabilis</i> unter Einfluss der Phytotherapeutika.....	44
Abbildung 27: Bakterielle Motilität von <i>Enterobacter cloacae</i> unter Einfluss der Phytotherapeutika.....	45

Abbildung 28: Bakterielle Motilität von <i>Serratia marcescens</i> unter Einfluss der Phytotherapeutika.....	46
Abbildung 29: Bakterielle Motilität von <i>Pseudomonas aeruginosa</i> unter Einfluss der Phytotherapeutika.....	47
Abbildung 30: Bakterielle Motilität von <i>Citrobacter freundii</i> unter Einfluss der Phytotherapeutika.....	48
Abbildung 31: Bakterielle Motilität von <i>Morganella morganii</i> unter Einfluss der Phytotherapeutika.....	49
Tabelle 1: Hinweise auf komplizierende Faktoren von Harnwegsinfektionen (15).....	3
Tabelle 2: Substanzen	16
Tabelle 3: Medien/Chemikalien	16
Tabelle 4: technische Ausstattung.....	17
Tabelle 5: Software.....	18
Tabelle 6: MHK-Werte von <i>Escherichia coli</i>	38
Tabelle 7: MHK-Werte	39
Tabelle 8: MHK-Werte	39
Tabelle 9: Zusammenfassung der Schwärmversuche	50
Tabelle 10: Zusammenfassung der Schwärmversuche	50
Tabelle 11: Hemmung der durch Typ 1-Fimbrien verursachten Agglutination	51

Danksagung

Erster Dank gilt an dieser Stelle meinem Doktorvater Priv.-Doz. Dr. med. Giuseppe Magistro für die Überlassung dieses interessanten Promotionsthemas, sowie die außerordentliche fachliche und freundschaftliche Betreuung.

Des Weiteren möchte ich mich ganz herzlich bei Prof. Dr. Sören Schubert für die Möglichkeit zu forschen, das Bereitstellen der Laborräume, sowie die wertvollen Ratschläge während und nach meiner Laborzeit bedanken.

Großer Dank gilt allen Mitglieder der Forschungsgruppe Schubert des Max von Pettenkofer-Instituts, die auch in schwierigeren Zeiten mit Unterstützung und guter Laune zur Stelle waren.

Abschließend möchte ich mich ganz besonders bei meinen Eltern bedanken, die mir diesen Weg mit ausgeprochen viel Geduld und Hilfsbereitschaft so selbstverständlich ermöglicht haben. Sie standen mir von Anfang an unermüdlich durch alle Höhen und Tiefen meines Studiums und meiner Promotion mit Rat und Tat zur Seite.



Dekanat Medizinische Fakultät
Promotionsbüro



Eidesstattliche Versicherung

Götz, Mathias

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema
**Antivirulenz-Therapie: Identifizierung und Charakterisierung neuer
antimikrobieller Verbindungen zur Behandlung/Prophylaxe von
Harnwegsinfektionen**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 10.03.2025

Ort, Datum

Mathias Götz

Unterschrift Mathias Götz

