

J. E. Pennington, G. B. Pier

Pseudomonas aeruginosa-Immunglobulin bei experimenteller Pneumonie

Zusammenfassung: An einem Meerschweinchenmodell der experimentellen *Pseudomonas aeruginosa*-Pneumonie wurden die Faktoren untersucht, die die Wirksamkeit einer passiven Immunisierung mit Psomaglobin^{®N}*, einem i.v. *Pseudomonas*-Immunglobulin, beeinflussen. Tiere, die 2 Stunden nach Infektion mit einer einmaligen intravenösen Infusion von Psomaglobin^{®N} in einer Dosis von 500 mg/kg behandelt wurden, wiesen eine Überlebensrate von 33% auf. Geringere Dosen waren weniger wirksam. Keines der mit Albumin behandelten Kontrolltiere überlebte. Die Therapie mit Psomaglobin^{®N} war wirksam, wenn sie 2 Stunden oder 8 Stunden nach der Infektion einsetzte. Begann sie erst 24 Stunden nach der Infektion, so zeigte sie dagegen keine Wirkung mehr. Neutropenische Tiere (vorangegangene Cyclophosphamid-Behandlung) überlebten nach alleiniger Behandlung mit Psomaglobin^{®N} nicht. Bei kombinierter Therapie mit Psomaglobin^{®N} und Tobramycin stieg die Überlebensrate im Vergleich zu einer alleinigen Tobramycin-Behandlung jedoch signifikant auf 86% gegenüber 43% ($p < 0,05$). Diese Befunde erlauben den Schluß, daß die Gabe von Psomaglobin^{®N} eine wirksame Therapie der *P. aeruginosa*-Pneumonie sein könnte.

Summary: *Pseudomonas aeruginosa* Immunglobulin in Experimental Pneumonia. A guinea pig model of experimental *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia was used to evaluate factors affecting the efficacy of passive immune therapy with Psomaglobin^{®N}, a hyperimmune *P. aeruginosa* globulin. Animals treated 2 h after infection with a single intravenous infusion of Psomaglobin^{®N}, 500 mg/kg, demonstrated 33% survival. Lower dosages were less effective and no survivors occurred among albumin-treated controls. Treatment with Psomaglobin^{®N} was effective if given 2 h or 8 h after infection but not if delayed until 24 h after infection. Animals rendered neutropenic with cyclophosphamide did not survive if treated with Psomaglobin^{®N} alone. However, when Psomaglobin^{®N} was added to tobramycin treatment, a significant increase in survival occurred (86%) as compared to that observed with tobramycin alone (43%) ($p < 0.05$). We conclude that Psomaglobin^{®N} may offer a useful therapeutic option in management of *P. aeruginosa* pneumonia.

Einleitung

Unter den gramnegativen bakteriellen Pneumonien weisen Pneumonien durch *Pseudomonas aeruginosa* eine besonders hohe Letalität auf. Dies gilt sowohl für Infektionen intubierter Patienten auf Intensivstationen (1–3) als auch für immunsupprimierte Patienten (4, 5). Obwohl zahlreiche hochwirksame Antibiotika für die Behandlung von *P. aeruginosa*-Pneumonien entwickelt wurden, gibt es keinen überzeugenden Beweis dafür, daß diese Medikamente die Mortalität damit behandelter Patienten wesentlich beeinflussen (6). Neue und wirksamere Behandlungsmethoden für die Therapie solcher respiratorischer Infektionen sind daher erforderlich.

Bisherige Berichte legen die Vermutung nahe, daß eine passive Immunisierung in der Therapie der nicht-respiratorischen *P. aeruginosa*-Sepsis möglicherweise von Nutzen ist (7–9). Intramuskuläre Injektionen von Immunglobulin bei neutropenischen Hunden mit experimenteller *P. aeruginosa*-Pneumonie zeigten jedoch nur eine geringe Wirksamkeit (10). Die kürzliche Entwicklung von Psomaglobin^{®N}, einer für die intravenöse Infusion geeigneten, hochtitrigen Zubereitung von *P. aeruginosa*-Immunglobulin G (11), bietet die Möglichkeit einer sicheren und schnellen Übertragung großer Mengen typspezifischer Antikörper zur Behandlung von *P. aeruginosa*-Pneumonien. Wie Pennington et al. zeigen konnten, ist Psomaglobin^{®N} wirksam in der Therapie der experimentellen *P. aeruginosa*-Pneumonie bei nicht-neutropenischen Meerschweinchen (12, 13). Die vorliegende Untersuchung erweitert diese Studien. Der Verlauf einer *P. aeruginosa*-Pneumonie bei passiv immunisierten Tieren korrelierte danach mit folgenden Faktoren:

1. Konzentration der typspezifischen Antikörper im Serum,
2. Zeitintervall zwischen Infektion und Behandlungsbeginn,
3. Anzahl der zirkulierenden Neutrophilen.

Material und Methoden

Tiere: Hartley-Meerschweinchen (400 g) stammten vom Charles River Breeding Laboratories, Inc., Wilmington, Massachusetts. Die Tiere wurden in Standard-Käfigen gehalten und erhielten Pelletfutter für Meerschweinchen (Ralston-Purina, St. Louis, Missouri).

Bakterien: Zur Auslösung der experimentellen Pneumonie diente *P. aeruginosa* 220. Dieses klinische Isolat entspricht dem

* vorgesehenes Warenzeichen, Troponwerke Vertrieb Cutter, Köln

Prof. J. E. Pennington, M.D. Assoc. Prof., G. B. Pier, M.D. Assoc. Prof., Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital und Harvard Medical School, Boston, Massachusetts 02115, U.S.A.

Fisher-Immuntyp 1 (IT-1) nach der Fisher-Devlin-Gnabasik-Typisierung (14), die der gesamten Studie zugrunde liegt. Eine detaillierte Darstellung der Eigenschaften des Stammes 220 findet sich an anderer Stelle (15). Kultur und Herstellung der Erregerstämme für experimentelle Infektionen sind ebenfalls anderweitig beschrieben (15, 16).

Antikörperpräparate: Psomaglobin[®]N (Charge PR3011), angereichert mit Antikörpern gegen LPS der Immuntypen 1, 2, 4 und 6 und Polyglobin[®]N (Charge PR 2948) polyvalentes Immunglobulin (in den USA als Gamimune[®]N im Handel) stammten von Cutter Laboratories, Berkeley, Kalifornien. Diese zur intravenösen Infusion geeigneten Zubereitungen enthalten 5% Protein in 10%iger Maltoselösung, eingestellt auf einen pH-Wert von 4,25. Einzelheiten zur Auswahl der Plasmaspender und zu den immunologischen Eigenschaften dieser Präparate sind anderweitig dargestellt (11).

Serologische Bestimmung: Die Antikörperkonzentrationen gegen das Antigen von *P. aeruginosa* IT-1 wurden durch einen Radioimmun-Antigenbindungstest bestimmt, der an anderer Stelle ausführlich beschrieben ist (17). Die Ergebnisse wurden als µg Antikörper pro ml Serum ausgedrückt.

Experimentelle Pneumonie und Untersuchungsaufbau: Die Methode zur Auslösung einer experimentellen *P. aeruginosa*-Pneumonie bei Meerschweinchen ist anderweitig beschrieben (15, 16). Die Tiere wurden mit Pentobarbital intraperitoneal anästhesiert und die Trachea durch einen kurzen medianen Halschnitt dargestellt. Anschließend wurden 0,5 ml einer Suspension von *P. aeruginosa* in isotonischer Kochsalzlösung über eine Kanüle in den Tracheobronchialbaum instilliert. Der Halschnitt wurde genäht und die Tiere innerhalb von 2 Stunden bis 3 Stunden geweckt. Das kleinste Inokulum, welches bei nicht neutropenischen Meerschweinchen regelmäßig zu einer tödlichen Pneumonie führte, betrug nach vorangegangenen Untersuchungen 5×10^6 koloniebildende Einheiten (KBE) des Stammes 220. In gesonderten Untersuchungen wurden Meerschweinchen durch eine einwöchige Gabe von Cyclophosphamid (Cytosan[®], Mead Johnson Laboratories, Evansville, Indiana) neutropenisch gemacht, wie anderweitig beschrieben (18). Die durchschnittlichen Granulozytenzahlen betragen bei normalen Tieren $2,16 \pm 0,23 \times 10^3/\text{mm}^3$, bei Cyclophosphamid-behandelten Tieren $0,27 \pm 0,06 \times 10^3/\text{mm}^3$ ($p < 0,01$). Das minimale letale Inokulum von *P. aeruginosa* bei neutropenischen Tieren lag bei 5×10^4 KBE.

Für die Untersuchung wurden die Tiere mit minimalen letalen Inokula infiziert und anschließend zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion durch intravenöse Infusion von Psomaglobin[®]N oder 5%igem Albumin (Kontrollgruppe) in die Vena jugularis externa behandelt. Die Infusionsvolumina betragen unabhängig von der Dosis konstant 5 ml. Darüber hinaus erhielten ausgewählte Tiere in getrennten Untersuchungen zusätzlich Tobramycinsulfat (Nebcin[®], Eli Lilly und Co., Indianapolis, Indiana). Die Dosis von Tobramycin wurde so gewählt, daß Serumkonzentrationen oberhalb der MHK von *P. aeruginosa* 220 gewährleistet waren (19). Die Tiere wurden nach der Infektion vier Tage lang beobachtet. Überlebten sie in dieser Zeit, so wurden sie als „überlebend“ eingestuft (12).

Statistische Auswertung: Unterschiede der Überlebensraten wurden mit dem Chi-Quadrat-Test mit Korrektur nach Yates analysiert. Alle Zählgrößen wurden mit Hilfe des t-Tests nach Student untersucht.

Ergebnisse

Zwischen den nach der Behandlung gemessenen Serumkonzentrationen der Antikörper gegen IT-1 LPS-Antigen und dem Grad der Schutzwirkung gegen eine Pneumonie durch *P. aeruginosa* IT-1 bestand eine klare Beziehung (Tabelle 1). Ein Einfluß auf den Ausgang der Pneumonie war auch für die zwischen der Infektion und dem Behand-

Tabelle 1: Einfluß der Serumkonzentration von Antikörpern gegen IT-1 LPS-Antigen auf den Verlauf der Pneumonie durch *Pseudomonas aeruginosa*.

Behandlungsgruppe Dosis in mg/kg ¹	Antikörperkonzentration ²		Überlebende Tiere/total (%)	
	1 h	24 h		
Albumin, 500	<1,0	<1,0	0/16	(0)
Psmaglobin [®] N, 100	<1,0	<1,0	0/8	(0)
Psmaglobin [®] N, 250	1,38	<1,0	0/8	(0)
Polyglobin [®] N, 500	1,80	<1,0	1/16	(6)
Psmaglobin [®] N, 500	2,69	1,66	8/24 ³	(33)

¹ Psomaglobin[®]N = i. v. *Pseudomonas*-Immunglobulin; Polyglobin[®]N = polyvalentes Immunglobulin (Troponwerke Vertrieb Cutter, Köln; Charge PR 2948; in den USA als Gamimune[®]N im Handel);

² Serumkonzentrationen in µg/ml, 1 h bzw. 24 h nach intravenöser Infusion. Angegeben sind die Mittelwerte für jeweils 3 Meerschweinchen pro Gruppe;

³ Größer als in den mit Albumin bzw. Psomaglobin[®]N (100 und 200 mg/kg) behandelten Gruppen ($p < 0,01$).

Tabelle 2: Einfluß der zwischen Infektion und Behandlungsbeginn verstrichenen Zeit auf den Verlauf der Pneumonie durch *Pseudomonas aeruginosa*.

Behandlungsgruppe Dosis in mg/kg	Behandlungsbeginn nach Infektion		
	2 h	8 h	24 h
Albumin, 500	0/12 ¹	0/12	0/12
Psmaglobin [®] N, 500	4/12	3/12	0/12

¹ Anzahl überlebender Tiere/Anzahl infizierter Tiere.

Tabelle 3: Einfluß einer Neutropenie bzw. der Gabe von Tobramycin auf den Verlauf der Pneumonie durch *Pseudomonas aeruginosa* mit oder ohne Therapie mit Psomaglobin[®]N.

Behandlungsgruppen ¹	Überlebende Tiere/infizierte Tiere	
	Nicht neutropenische Meerschweinchen	Neutropenische Meerschweinchen
Albumin	0/16	0/14
Psmaglobin [®] N	4/16	0/14
Tobramycin	8/16	6/14 ³
Psmaglobin [®] N plus Tobramycin	13/16 ²	12/14 ⁴

¹ Dosis von Albumin und Psomaglobin[®]N jeweils 500 mg/kg 2 h nach Infektion. Dosis von Tobramycin 1,7 mg/kg i.m. alle 8 h über einen Zeitraum von 72 h; erste Dosis 6 h nach Infektion;

² Größer als bei alleiniger Gabe von Tobramycin ($p < 0,05$) oder Psomaglobin[®]N ($p < 0,01$);

³ Größer als bei alleiniger Gabe von Albumin oder Psomaglobin[®]N ($p < 0,05$);

⁴ Größer als bei alleiniger Gabe von Tobramycin ($p < 0,05$).

lungsbeginn verstrichene Zeit festzustellen (Tabelle 2). Bei normalen Meerschweinchen bot die alleinige Infusion von Psomaglobin[®]N eine gewisse Schutzwirkung gegen die *P. aeruginosa*-Pneumonie, bei den neutropenischen Versuchstieren erwies sie sich dagegen als wirkungslos (Tabelle 3). Die alleinige Gabe von Tobramycin erhöhte die Überlebensquoten sowohl der normalen als auch der neutropenischen Tiere (Tabelle 3). Die kombinierte Behandlung mit Psomaglobin[®]N und Tobramycin führte jedoch – trotz Wirkungslosigkeit der alleinigen Gabe von Psomaglobin[®]N – zu erheblich höheren Überlebensquoten der neutropenischen Tiere als bei ausschließlicher Tobramycin-Therapie (Tabelle 3). Dieser additive Effekt von Psomaglobin[®]N und Antibiotikum war auch bei den nicht neutropenischen Tieren zu beobachten (Tabelle 3).

Diskussion

Die Möglichkeit, Lösungen von humanem Immunglobulin G zur schnellen, hochdosierten intravenösen Infusion aufzubereiten, sowie mit spezifischen Antikörpern gegen infektiöse Erreger angereicherte Lösungen von Immunglobulin herzustellen, bietet eine interessante therapeutische Möglichkeit der Infektionsbehandlung. Die Wahl von *P. aeruginosa* als einem wichtigen Erreger für eine solche Immuntherapie erscheint rational angesichts der mit hohen Mortalitätsraten einhergehenden derzeitigen

Antibiotika-Therapie von *P. aeruginosa*-Infektionen (6). Die hier vorgestellten Untersuchungen bestätigen frühere Erfahrungen, wonach eine Behandlung mit Psomaglobin[®]N die Überlebensrate bei experimentellen Pneumonien durch *P. aeruginosa* erhöht (12). Die vorliegenden Befunde weisen überdies darauf hin, daß eine solche Behandlung mit der höchsten tolerierten Dosis durchgeführt werden sollte. Nach Auffassung der meisten Autoren liegen 500 bis 1000 mg/kg i.v. Immunglobulin im Bereich der maximalen sicheren Dosis beim Menschen (20). Die vorliegenden Ergebnisse deuten auch darauf hin, daß schnelle diagnostische Methoden, wie z. B. die Verwendung monoklonaler Antikörper, bei Infektionen mit *P. aeruginosa* eingesetzt werden sollten, um sicherzustellen, daß eine Therapie mit Psomaglobin[®]N so bald wie möglich eingeleitet werden kann.

Im Hinblick auf die Resultate vorangegangener Untersuchungen (10) überraschte es nicht, daß neutropenische Tiere auf eine passive Immunisierung mit Psomaglobin[®]N weniger ansprachen. Im Gegensatz zu früheren Studien mit geringeren Dosen von i.m. injiziertem Immunglobulin (10) ergab sich jedoch in der vorliegenden Untersuchung nach schneller Infusion von hochtitrigem Psomaglobin[®]N in Kombination mit einem Antibiotikum auch bei neutropenischen Tieren ein zusätzlicher therapeutischer Effekt.

Literatur

1. Stevens, R. M., Teres, D., Skillman, J. J., Feingold, D. S.: Pneumonia in an intensive care unit: a 30-month experience. Arch. Intern. Med. 134 (1974) 106–111.
2. Bryan, C. S., Reynolds, K. L.: Bacteremic nosocomial pneumonia. Analysis of 172 episodes from a single metropolitan area. Am. Rev. Respir. Dis. 129 (1984) 668–671.
3. Graybill, J., Marshall, L., Charache, P., Wallace, C., Melvin, V.: Nosocomial pneumonia – a continuing major problem. Am. Rev. Respir. Dis. 108 (1973) 1130–1140.
4. Pennington, J. E., Reynolds, H. Y., Carbone, P. P.: Pseudomonas pneumonia: a retrospective study of 36 cases. Am. J. Med. 55 (1973) 155–160.
5. Iannini, P. B., Claffey, T., Quintiliani, R.: Bacteremic pseudomonas pneumonia. J. Am. Med. Ass. 230 (1974) 558–561.
6. Young, L. S., Wenzel, R. P., Sabath, L. D., Pollack, M., Pennington, J. E., Platt, R.: The outlook for prevention and treatment of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*. Rev. Infect. Dis. 6 (Suppl.) (1984) S769–S774.
7. Feller, I., Pierson, C.: *Pseudomonas* vaccine and hyperimmune plasma for burned patients. Arch. Surg. 97 (1968) 225–229.
8. Jones, C. E., Alexander, J. W., Fisher, M. W.: Clinical evaluation of *Pseudomonas* hyperimmune globulins. J. Surg. Res. 14 (1973) 87–96.
9. Alexander, J. W., Fisher, M. W.: Immunization against *Pseudomonas* in infection after thermal injury. J. Infect. Dis. 130 (1974) 5152–5158.
10. Kazmierowski, J. A., Reynolds, H. Y., Kauffman, J. C., Durbin, W. A., Graw, R. G., Devlin, H. B.: Experimental pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa* in leukopenic dogs: prolongation of survival by combined treatment with passive antibody to pseudomonas and granulocyte transfusions. J. Infect. Dis. 135 (1977) 438–446.
11. Collins, M. S., Roby, R. E.: Protective activity of an intravenous immune globulin (human) enriched in antibody against lipopolysaccharide antigens of *Pseudomonas aeruginosa*. Am. J. Med. 76 (1984) 168–174.
12. Pennington, J. E., Pier, G. B., Small, G.: Efficacy of intravenous immune globulin for treatment of experimental *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. J. Critical Care 1 (1986) 4–10.
13. Pennington, J. E., Pier, G. B., Sadoff, J. C., Small, G. J.: Active and passive immunization strategies for *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. Rev. Infect. Dis. 8 (Suppl. 4) (1986) S426–S433.
14. Fisher, M. W., Devlin, H. B., Gnabasiak, F. J.: New immunotype schema for *Pseudomonas aeruginosa* based on protective antigens. J. Bacteriol. 98 (1969) 835–836.
15. Pennington, J. E., Miller, J. J.: Evaluation of a new polyvalent *Pseudomonas* vaccine in respiratory infections. Infect. Immun. 25 (1979) 1029–1034.
16. Cutter Biological, U. S. Patent 4, 396, 608, August 2, 1982.
17. Pennington, J. E., Small, G. J., Lostrom, M. E., Pier, G. B.: Polyclonal and monoclonal antibody therapy for experimental *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. Infect. Immun. 54 (1986) 239–244.
18. Pennington, J. E.: Differential effects of cyclophosphamide and cortisone acetate on bronchioalveolar phagocytic cell populations. Am. Rev. Respir. Dis. 118 (1978) 319–324.
19. Pennington, J. E., Johnson, C. E.: Comparative activities of N-formimidoyl thienamycin, ticarcillin, and tobramycin against experimental *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. Antimicrob. Agents Chemother. 22 (1982) 406–408.
20. Pirofsky, B.: Intravenous immune globulin therapy in hypogammaglobulinemia. A review. Am. J. Med. 76 (1984) 53–60.

Diskussion

Rietschel: Sie erwähnten gerade, daß eine LPS-Vakzine eine gute Wirkung zeigte. Welches Zeitschema gab es für die Impfung? Haben Sie eine serotypspezifische Schutzwirkung nach Gabe der LPS-Vakzine beobachtet oder war es eine Kreuzimmunität, die vielleicht im Zusammenhang mit dem Phänomen einer unspezifischen Resistenz stand?

Pennington: Wir brauchten zwei Wochen, um eine gute Schutzwirkung bei der Aktivimmunisierung zum Schutz zu erzielen. Wir injizierten 3 ml wöchentlich für die Dauer von zwei Wochen, und vor Ablauf dieser Zeitspanne hatten wir keine gute Antikörperreaktion. Die Schutzwirkung war im allgemeinen serotypspezifisch. Wir fanden eine leichte, aber statistisch nicht signifikante kreuzreagierende Schutzwirkung. Dann zeigte sich für den homologen Stamm eine hochsignifikante Schutzwirkung. Es schien also so zu sein, daß die Immunreaktion überwiegend O-Ketten-spezifisch ist.

Brade: Sie zeigten, daß nach Immunglobulinbehandlung ca. 66% der Versuchstiere geschützt wurden. Ist das dosisabhängig? Können Sie durch Erhöhung der Dosis die Überlebensrate erhöhen?

Pennington: Ja, wir haben tatsächlich nachgewiesen, daß die Immunschutzwirkung von der Dosis abhängt. Wenn wir die Immunglobulindosis auf weniger als 500 mg/kg reduzieren, entsteht kein Schutz. Erhöht man den Antikörper jedoch weiter, beobachtet man vermehrten Schutz. Ich muß Ihnen allerdings sagen, daß die jetzige Empfehlung lautet, am Menschen nicht höhere Dosen als 1000 mg/kg Immunglobulin anzuwenden. Tatsächlich würden die meisten Menschen mit geringeren Dosen auskommen, um einen sicheren Schutz zu erhalten. Mit 500 mg/kg sind wir daher schon auf einer sehr hohen Dosis und ich glaube nicht, daß es nutzbringend wäre, viel höher zu gehen; aber wenn man es könnte, wäre die Schutzwirkung größer. Das haben wir gezeigt.

Belohradsky: Ich möchte Ihnen zu diesen sehr gekonnten Experimenten gratulieren. Haben Sie versucht, Ihr Antiserum an den Fisher-Typ 1 zu adsorbieren, um zu sehen, ob Sie die Schutzwirkung noch spezifischer unterdrücken können?

Pennington: Ja, das haben wir getan. Wir haben darüber eine Arbeit, „Polyclonal and Monoclonal Antibody Therapy for Experimental *Pseudomonas aeruginosa* Pneumonia“ die im Oktober in „*Infection and Immunity*“ veröffentlicht werden soll, und wir adsorbierten die Antiseren an durch Hitze abgetötete Bakterien und hoben die Schutzwirkung auf. Obgleich wir wissen, daß Antitoxin A-Antikörper in diesem Immunglobulin enthalten sind, hatten wir keine Schutzwirkung zu verzeichnen, nachdem wir die Antiseren an den homologen Stamm adsorbiert hatten, und experimentell eine Infektion erzeugt. Die Schutzwirkung wurde dadurch völlig aufgehoben.

Bauernfeind: Ich habe sehr gern gehört, daß LPS-Antikörper für klinisch relevant befunden wurden, daß eine Serotypspezifität besteht und daß Sie darüber hinaus Fisher-Typ 1 auswählten, der nach unseren Ergebnissen dem häufigsten Serotyp bei Sepsis entspricht. Sie hatten eine Mortalitätsrate von 10%, als Sie eine Kombination

von Immunglobulin und Tobramycin einsetzten. Glauben Sie, daß eine zusätzliche Wirkung erreicht werden könnte durch Hinzufügung von beispielsweise Ticarcillin oder einer anderen möglicherweise synergistisch wirkenden Kombination?

Pennington: Wir haben das versucht, beobachteten aber keinen Anstieg.

Brade: Ich möchte auch zu der synergistischen Wirkung einer Kombinationsbehandlung mit Antibiotika und Immunglobulin Stellung nehmen. Ich glaube, es ist eine neuere Auffassung, daß ein Bakterium, das von Antikörpern angegriffen wird, besser auf Antibiotika anspricht. Meine Frage in diesem Zusammenhang lautet: Wenn man die Tobramycin-Dosis auf eine Menge reduziert, die normalerweise eine Infektion nicht beeinflußt, würden Sie diese synergistische Wirkung immer noch sehen?

Pennington: Ja, wir fragten, ob subinhibitorische Konzentrationen von Antibiotika die Oberfläche oder Form der Bakterien verändern, um die Phagozytose zu verbessern. Wir versuchten dies mit radioaktiv markierten Bakterien und fanden keinen Unterschied in der Phagozytoseleistung, wenn unter der MHK liegende Mengen von Tobramycin und Ticarcillin angewandt wurden.

Rietschel: Sie sagten, Sie können die Schutzwirkung durch Bakterien adsorbieren. Wenn dem so ist, wäre es dann nicht viel besser, diese adsorbierten Seren statt Albumin zur Kontrolle zu verwenden?

Pennington: In den Adsorptionsversuchen verglichen wir nichtadsorbiertes Immunglobulin mit adsorbiertem Immunglobulin als Kontrolle im Tiermodell, und wir fanden keine Überlebenden nach Verwendung des adsorbierten Immunglobulins.

Hinsichtlich der möglichst genauen Identifizierung dessen, was wir adsorbieren, erhebt sich die Frage: Adsorbieren wir nur O-Seitenketten oder Lipoid A?

Wir haben dies nicht im einzelnen analysiert, aber wir untersuchten einen O-Ketten-spezifischen monoklonalen Antikörper, der sich als außerordentlich protektiv erwies. Ich glaube also, daß die O-Seitenketten-Aktivität in diesem Modell wichtig ist.

Döring: Sie zeigten, daß die Schutzwirkung der Immunglobulin-Präparation im Tiermodell nach Adsorption an den Pseudomonas-Stamm, der zur experimentellen Infektion benutzt wurde, verloren ging. Mit diesem Verfahren eliminieren Sie LPS, aber keine Exotoxin A-Antikörper. Impliziert dies, daß Exotoxin A kein Virulenzfaktor in Ihrem Modell ist?

Zweitens: Wissen Sie, ob der zur experimentellen Infektion eingesetzte Stamm in hohem Maße fähig ist, Exotoxin A zu synthetisieren?

Pennington: Ja, wir verwandten Stamm 220, der dafür bekannt ist, in hohem Maße sowohl Exotoxin A als auch Elastase zu synthetisieren. Ich glaube daher, daß er für diese Analyse geeignet war; ich weiß nicht, ob Exotoxin A ein Virulenzfaktor ist oder nicht, aber es scheint nicht der Hauptvirulenzfaktor in diesem Modell akuter Pneumonie zu sein.