

Können Antibiotika auf intrazelluläre Bakterien wirken?

H. Hof, Mannheim

Intrazelluläre Bakterien entziehen sich der direkten Exposition von denjenigen Antibiotika, die nicht in der Lage sind, die Wand der Wirtszelle zu überwinden, also zum Beispiel Beta-Lactamantibiotika. Dagegen können andere Antibiotika, wie Makrolide, Chinolone und Rifampicin, intrazellulär stark angereichert werden; die Transportwege und -mechanismen können von Substanz zu Substanz recht unterschiedlich sein. Der Transport in der Zelle kann durch Exportmechanismus wieder aufgehoben werden. Die intrazelluläre Präsenz eines Antibiotikums in die Wirtszelle ist Voraussetzung, aber allein noch keine Garantie für eine Wirkung auf intrazelluläre Erreger, denn nur wenn beide Partner auch im selben Zellkompartiment landen, kommt eine Wirkung zustande. Ist jedoch das lokale Milieu nicht günstig, so bleibt ein antimikrobieller Effekt aus. Eventuell ist aber auch der intrazelluläre Keim in einem physiologischen Zustand, wo er gegen Antibiotika vulnerabel ist. Kurzum, eine antibiotische Therapie von Infektionen mit intrazellulären Keimen ist schwer, selbst wenn der Keim selbst eine gute Empfindlichkeit gegenüber dem Medikament aufweist.

Schlüsselwörter: Import, Export, Akkumulation, Makrolide, Chinolone, Rifampicin

Intracellular bacteria are protected in this privileged niche from the action of those antibiotics which are unable to penetrate into host cells such as betalactams. On the other hand, there are some other antibiotics, for example macrolides, quinolones and rifampicin, which are even accumulated intracellularly. The transport systems across the eukaryotic cell membrane may vary depending on the substance. Furthermore, export pumps may counteract the import mechanisms. The mere intracellular location of an antibiotic is not yet a sufficient guarantee for efficiency. First, both partners have to come together at the same site, i. e. either the cytosol or the phagosome; second, the local milieu should be favorable. Third, the intracellular pathogen may be rendered into a stage of low vulnerability to a given antibiotic. Briefly, antibiotic therapy of infections with intracellular bacteria may become difficult even if the germ itself is in principle highly susceptible to the drug.

Keywords: Import, export, accumulation, macrolides, quinolones, rifampicin

Die intrazelluläre Lagerung von Bakterien hat Einfluss auf die Wirksamkeit von Antibiotika

In-vitro-Empfindlichkeit

Die Wahl eines Antibiotikums für die Therapie einer Infektion hängt in erster Linie von der direkten antimikrobiellen Aktivität der Substanz ab. Diese wird im allgemeinen durch die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) in vitro mit Hilfe von standardisierten Methoden definiert. Eine zusätzliche Information liefert die Bestimmung der minimalen bakteriziden Konzentration (MBK). Dabei hat das Antibiotikum freien Zugang zu den Bakterien, die

in einer geringen Anzahl, in wässrigem Milieu, unter idealen Wachstumsbedingungen, d. h. bei ausreichenden Nährstoffen, bei optimalem pH, Ionenkonzentrationen und Sauerstoffbedingungen, sich rasch vermehren. Kurzum, bei diesen gewählten Bedingungen sind die Bakterien sehr vulnerabel und somit die Antibiotika im Vorteil. Ganz außergewöhnlich vorteilhaft ist auch die gleichbleibende Konzentration der Antibiotika über eine lange Zeit hinweg, nämlich definitionsgemäß über 18 bis 24 Stunden.

Diese künstliche In-vitro-Simulation schafft günstige Voraussetzungen für die Wirkung eines Antibiotikums und imitiert keineswegs die Situation in vivo. Während der Infektion eines Wirtes dagegen wer-

den nämlich manche Bakterien in dem oft unwirtlichen Milieu in ein refraktäres Stadium übergehen; wenn also die Keimvermehrung in einem infizierten Gebiet zum Stillstand kommt, werden automatisch die Beta-Lactamantibiotika nicht mehr optimal wirken können. Die Porine der gramnegativen Bakterien werden sich womöglich unter anderen Ionenkonzentrationen schließen und so den Zugang der Antibiotika an ihren eigentlichen Wirkort behindern. Noch weitere Milieuveränderungen am Infektionsort werden die Aktivität von Antibiotika beeinflussen, d.h. meistens abschwächen. Eigentlich ist es erstaunlich, daß überhaupt eine Korrelation zwischen MHK einerseits und therapeutischem Effekt andererseits besteht [1].

Pharmakologische Einflüsse auf den therapeutischen Effekt

Außer diesen mikrobiologischen Aspekten sind in vivo auch noch pharmakologische Bedingungen anders als in vitro. Wenn die Antibiotika fest an die Serum- und Gewebsproteine gebunden sind, können sie nicht mehr so gut auf die Bakterien einwirken. Weiterhin ist der therapeutische Effekt eines Antibiotikums abhängig vom Serumspiegel und von der Halbwertszeit, welche die eigentlichen Konzentrationen am Wirkort bedingen. Die Gewebsverteilung der Antibiotika ist sehr unterschiedlich; die Diffusion einer Substanz in die infizierten Stellen hängt weitgehend von den strukturellen Besonderheiten der Gewebe ab; so ist das Gehirn durch eine funktionstüchtige Blut-Hirn-Schranke abgeschottet [2]; die

Prof. Dr. H. Hof, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Fakultät für Klinische Medizin Mannheim der Universität Heidelberg, Theodor Kutzer Ufer, 68167 Mannheim

Tab. 1. Intrazelluläre Aufenthaltsorte von Mikroorganismen

Aufenthaltsort	Keim
I. Vakuole mit einer Membran vom Zytoplast getrennt	
a) Komplette Hemmung der Fusion der Lysosomen, neutraler pH	Toxoplasmen, Mykobakterien, Chlamydien, Legionellen
b) Partielle Hemmung der Fusion der Lysosomen und verzögerte Ansäuerung	Salmonellen
c) Fusion der Lysosomen, aber dennoch nur geringe Ansäuerung	Mykobakterien
d) Fusion der Lysosomen mit dem Phagosom, niedriger pH	Rickettsien, Francisella Listerien, Leishmanien
II. Zytoplast	
a) Ummantelt von einer Schicht von Wirtszellprotein, z. B. Aktin	Listerien, Shigellen
b) Nackt im Zytoplast	Staphylococcus aureus (small colony variants)
III. Zellkern	
	Listerien

Prostata ist für die meisten Substanzen nicht so leicht zugänglich. Daraus folgt, daß die Lokalisation einer Infektion ganz wesentlich den therapeutischen Effekt eines Antibiotikums beeinflusst.

Im Zuge einer Entzündungsreaktion in einem infizierten Gebiet kann sich jedoch die Permeabilität der Gefäßwände ändern, und auch die nachfolgende Diffusion durch infizierte, ödematös oder eitrig veränderte Gewebe ist stark gestört. Wenn Abszesse, Granulome oder Nekrosen die normale Architektur grundlegend ändern, wird auch der Zugang von Antibiotika sich ändern, was schlechthin bedeutet, daß er erschwert wird. Folglich kann man davon ausgehen, daß an dem Ort, wo die Bakterien sich im infizierten Gebiet aufhalten, die Konzentration der meisten Medikamente und ihre Wirkungsbedingungen weit unter den optimalen Verhältnissen der In-vitro-Studien liegen.

Die intrazelluläre Lagerung

Eine ganz spezielle Situation wird durch die Lagerung von Bakterien innerhalb von Wirtszellen bedingt. Dabei ist zu bedenken, daß die verschiedenen intrazellulären Bakterien ganz unterschiedliche Strategien entwickelt haben, um in diesem besonderen Milieu zu überleben. Einige Erreger können allenfalls passiv von professionellen Phagozyten internalisiert werden, andere dagegen können aktiv in verschiedene parenchymale Zellen, Hepatozyten, Neuronen [3] und anderes mehr eindringen. Einige Spezialisten, wie die Bartonel-

len, sind sogar in Erythrozyten zu finden.

Wird ein Partikel, etwa ein Bakterium, von einer Wirtszelle intrazellulär aufgenommen, so geschieht dies durch einen Vorgang der aktiven oder der induzierten Phagozytose, d. h. daß die Keime sich nicht ein Loch durch die Zellmembran bohren und ins Zytoplasma gelangen, sondern daß sie zunächst in einer membranumgebenen Vakuole innerhalb des Zelleibs liegen. Professionelle Phagozyten, wie Granulozyten und Makrophagen, vor allem wenn sie mit Hilfe von Zytokinen wie Interferon- γ aktiviert sind, werden danach sofort mit der Produktion von Sauerstoffradikalen beginnen, die in diese Phagozytosevakuole entlassen werden; weiterhin beginnt unmittelbar danach eine Protonenpumpe in der Vakuolenmembran, welche H^+ -Ionen in die Vakuole pumpt, wodurch in kürzester Zeit der pH auf Werte um 4 sinkt. Zusätzlich werden die Lysosomen mit ihrem antimikrobiellen Arsenal an Defensinen, anderen Oligopeptiden und Enzymen verschmelzen [4]. Die Wirkungsbedingungen für Antibiotika werden sich also an dem unmittelbaren Sitz der Bakterien gewaltig verändern. Die Vermehrung und die physiologischen Zustände der Bakterien ändern sich ebenfalls.

In parenchymalen und mesenchymalen Zellen sind die Verhältnisse aber durchaus anders, so daß eine Verallgemeinerung problematisch wird. Gut gerüstete pathogene Bakterien können zumindest eine Zeit lang diesen zellulären Angriffen widerstehen, wenn sie zum Beispiel

eine widerstandsfähige Oberfläche besitzen. Pathogene Neisserien, aber auch Staphylokokken können so kurzfristig widerstehen. Diese zellulären Prozesse werden aber auch durch bakterielle Eigenschaften gesteuert. Plasmidtragende pathogene Salmonellen können intrazellulär überleben und sich sogar innerhalb der Phagozytosevakuole einer Wirtszelle vermehren, indem sie unter bestimmten Bedingungen die Ansäuerung der Vakuole um Stunden verzögern [5]. Andere intrazelluläre Bakterien, wie etwa Legionella pneumophila [6], Chlamydien und Mycobacterium tuberculosis, unterbinden die Ansäuerung ganz. Manche Bakterien, darunter die Rickettsien, haben Mechanismen entwickelt, wie sie sogar in einer sauren Vakuole noch vegetieren können. Wieder anderen intrazellulären Bakterien gelingt es, aus dieser feindlichen Vakuole zu entweichen und durch die Vakuolenmembran hindurch ins weniger aggressive Zytoplasma zu entweichen (Tab. 1). Sogar im Zellkern einer Wirtszelle können gelegentlich Bakterien gefunden werden [3]. Die Einteilung in die verschiedenen Kompartimente der Wirtszelle ist in manchen Fällen akademisch, da in der Natur ein einzelner Keim in verschiedenen Stellen zu finden ist und im Verlaufe einer Infektion mehrere Stellen durchwandert.

Die Lipiddoppelschicht, welche die Membranen der Wirtszelle bilden, stellen für manche Antibiotika ein unüberwindliches Hindernis dar. Dagegen können andere antimikrobielle Substanzen diese Barrieren mühelos überwinden, entweder durch passive Diffusion oder durch aktiven Transport (Abb. 1). In der Tat erreichen einige Antibiotika intrazellulär höhere Konzentrationen als in der extrazellulären Flüssigkeit. Eine hohe intrazelluläre Konzentration bedeutet an sich jedoch noch keine Garantie für eine gute intrazelluläre Wirksamkeit, denn vielleicht wird das Medikament in einem Kompartiment gespeichert, das vom Erreger gar nicht besucht wird. Weiterhin ist es prinzipiell möglich, daß das lokale Milieu für die Aktivität des Antibiotikums unvorteilhaft ist, zum Beispiel ein niedriger pH oder falsche Ionenkonzentrationen. Folglich ist es

einsichtig, daß mehrere Voraussetzungen erfüllt sein müssen, bevor man annehmbare therapeutische Erfolge bei der Antibiotikatherapie von Infektionen mit intrazellulären Keimen erzielt, obwohl aufgrund von In-vitro-Testen eine gute antibakterielle Wirksamkeit vorausgesagt wird (Tab. 2).

Transport von Antibiotika über Zellmembranen hinweg

Import

Diffusion

Im Prinzip ist eine Biomembran, die als eine Lipiddoppelschicht aufgebaut ist, eine Diffusionsbarriere für Antibiotika in der extrazellulären Flüssigkeit. Einige Substanzen sind dennoch durchaus zur Diffusion in der Lage. Das Ausmaß hängt ab von der elektrischen Ladung, von der Lipidlöslichkeit und in vivo zumindest von der Bindung an Serumproteine, zum Beispiel Albumin. Die Nitroimidazole, wie etwa Metronidazol, sollen angeblich frei durch diese Grenze diffundieren [7]. Auch fettlösliche Antibiotika, wie zum Beispiel Chloramphenicol, Rifampicin [8], Trimethoprim oder Brodimoprim [9] gehen durch die Membranen von lebenden sowie auch von toten Zellen, so daß also kein Anhalt für einen aktiven Transport gegeben ist. Sogar Penicillinderivaten gelingt dies, zumindest in ihrer ionisierten Form, wenn sie sich wie schwache organische Säuren verhalten, obwohl doch nur in recht geringem Umfang, so daß die absoluten Mengen, die so transportiert werden, gering bleiben. Polare Moleküle dagegen, wie die meisten Beta-Lactam-Antibiotika, penetrieren fast gar nicht.

Carriersysteme

Aber auch wenn passive Diffusion nicht stattfinden kann, gibt es darüber hinaus im Prinzip noch mehrere andere Möglichkeiten, wie chemische Substanzen, darunter eben auch Antibiotika, internalisiert werden (Abb. 1). Einige Cephalosporine, wie Cefitibuten, werden aktiv über einen Carrier transportiert, der eigentlich für lebensnotwendige Nährstoffe,

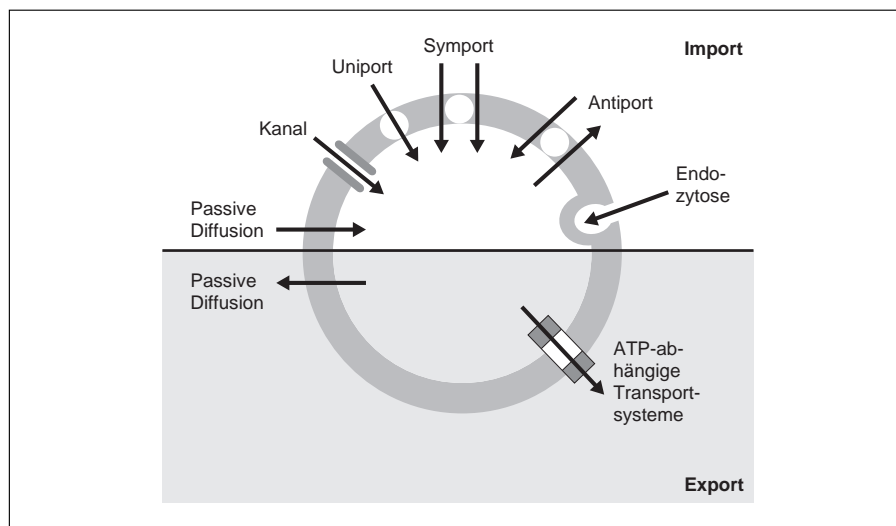


Abb. 1. Schematische Darstellung der Transportsysteme von Chemikalien über Biomembranen hinweg. Im Prinzip geht dieser Stoffaustausch in beiden Richtungen; es gibt also Import und Export. Die meisten Systeme beruhen auf aktiven Transportmechanismen, die eigentlich für ein mehr oder weniger enges Spektrum von Substanzen reserviert sind, die nun von Antibiotika mißbraucht werden.

wie Dipeptide, geschaffen ist [10]. Dieser kompetitive Mechanismus ist recht effizient, denn innerhalb weniger Minuten ist die Aufnahme begonnen und erreicht. Allerdings ist dieser Weg in der Tat nur für ganz wenige, spezielle Antibiotika offen, denn andere, dem Cefitibuten ganz nah verwandte Cephalosporine, werden darüber nicht bewegt.

Transportwege, die eigentlich für natürliche Substrate angelegt sind, werden auch von anderen Antibiotika mitbenutzt. Clindamycin nießnutzt dasselbe Transportsystem wie Nukleoside [11]. Diese Transportkanäle werden in gleicher Weise auch von den Makroliden, den Azaliden und den Ketoliden mitbenutzt. Dieser Aufnahmemechanismus ist ziemlich günstig, denn bereits in wenigen Minuten ist ein Maximum an intrazellulärer Konzentration erreicht, zumindest bei den Makroliden [12, 13], weniger bei den Azaliden, wo die Konzentration kontinuierlich über Stunden weiter ansteigt

[11]. Allerdings ist die Effizienz von Zellart zu Zellart unterschiedlich, und selbst innerhalb einer Zellart kann die Bereitschaft zur Aufnahme von Antibiotika schwanken, was vom Grad der Aktivität der Zelle abhängig ist. Im Rahmen des physiologischen Vorgangs der Phagozytose werden auch diese Makrolide verstärkt internalisiert [11]. Die Aufnahme in Makrophagen von Rauchern ist höher als in die von Nichtrauchern [13]. Auch weitere Faktoren von außen können diesen Vorgang beeinflussen. Der extrazelluläre Ca^{2+} -Gehalt bestimmt den Einstrom von Antibiotika, und anorganische Calcium-Kanalblocker, wie Ni^{2+} und La^{2+} , behindern die Aufnahme von Makroliden in die Wirtszellen [14].

Pinozytose

Obwohl dies häufig falsch dargestellt wird, können sogar Aminoglykoside aktiv in die Wirtszellen aufgenommen werden. Dies geschieht je-

Tab. 2. Voraussetzungen für eine gute antibakterielle Aktivität von Antibiotika auf intrazelluläre Keime

I	Gute Empfindlichkeit der Mikroorganismen gegenüber dem Antibiotikum in vitro
II	Penetration und möglichst Akkumulation in der Wirtszelle, damit dort hohe Konzentrationen erreicht werden
III	Verteilung auf das richtige Zellkompartiment, nämlich dorthin, wo der Erreger residiert
IV	Günstiges Milieu (pH, Ionenkonzentration), damit sich die Aktivität des Antibiotikums voll entfalten kann
V	Ansprechen der Erreger auf eine Substanz unter den gegebenen Bedingungen; eine rasche Vermehrung der Keime bei günstigen Nährstoffbedingungen erhöht die Chance einer antibakteriellen Wirkung; ruhende Keime werden nur schwer erfaßt

doch über einen völlig anderen Transportmechanismus, nämlich über Fluid-Phase-Pinozytose. Dabei entstehen an der Wirtszelloberfläche ständig winzige Einschnürungen, die sich dann nach innen von der Membran in Form von kleinen Vesikeln absondern. Dabei wird die Extrazellulärlüssigkeit mit allen Inhaltsstoffen, darin gegebenenfalls auch Antibiotika, internalisiert. Obwohl die Menge der Pinozytosevesikel in manchen Zellarten erstaunlich hoch sein kann, ist die absolute Menge an aufgenommenen Antibiotika aber insgesamt nur recht gering. Dennoch muß man damit rechnen, daß bei einer langen Exposition, das heißt, wenn ein Patient über Tage hinweg mit Aminoglykosiden behandelt wird – vor allem wenn keine Einmaldosis, sondern fälschlicherweise Mehrfachgaben pro Tag erfolgt –, kann die absolute Menge der transportierten Antibiotika beachtlich sein [7] und die intrazelluläre Konzentration in toxische Bereiche klettern, was dann zu Nierenzellschädigung und Hörnervenschädigung führt.

Endozytose

Viele Zellen stellen noch einen anderen Aufnahmeweg zur Verfügung, um Antibiotika aus der extrazellulären in die intrazelluläre Flüssigkeit zu geleiten, nämlich die Rezeptor-vermittelte Endozytose [15]. Dabei binden Makromoleküle an entsprechende Zellrezeptoren, zusammen mit diesen Rezeptoren werden sie zunächst in Clathrin umhüllten Gruben landen, bevor diese Molekülkomplexe dann in das Zellinnere gelangen. Solche Wege sind natürlich für selektive Anreicherung von Substanzen im Zellinnern geeignet, auch wenn diese in der extrazellulären Flüssigkeit nur in geringer Konzentration vorkommen. Das Antimykotikum Amphotericin B nutzt den Rezeptor für das LDL (low density lipoprotein), um mit hoher Effizienz in Wirtszellen zu gelangen [16]. Diese hohe intrazelluläre Akkumulation von Amphotericin B ist der Grund für sein hohes Verteilungsvolumen, das 15 l/kg beträgt. Mit Hilfe solcher Vehikel können manche Substanzen gezielt in eine Zelle transportiert werden. So hat man Para-Aminosalicylsäure (PAS), welche zur Behandlung von intrazellulären

Mykobakterien eingesetzt wird, an maleyliertes Rinderserumalbumin gekoppelt; dieser Komplex wird dann in hohem Maße internalisiert, weil es mit dem Albumincarrier sich an den Carrier-spezifischen Oberflächenrezeptor gebunden hat. Sobald dieser Komplex in der Wirtszelle angekommen ist, wird dann durch Hydrolyse das aktive Antibiotikum wieder vom Carrier freigesetzt [17]. Ein weiteres Beispiel dafür ist Allopurinolribosid, welches zur Behandlung von intrazellulären Leishmanien taugt; wird diese Substanz an einen synthetischen, glykosylierten Träger gekoppelt, so bindet dieser Komplex an einen Mannose-Fucose-Rezeptor an der Oberfläche von Makrophagen und wird verstärkt aufgenommen; die Wirkung des komplexierten Medikaments auf die intrazellulären Leishmanien ist 50mal stärker als die der freien Substanz [18].

Phagozytose

Kolloidale Träger, wie Liposomen und Nanopartikel, gelangen zumindest in professionelle Phagozyten durch Phagozytose. Mehrfach sind solche Vehikel zum Transport von Antibiotika in Makrophagen und Granulozyten eingesetzt worden [19, 20].

Aus dieser kurzen Übersicht kann man die Schlußfolgerung ziehen, daß Antibiotika nicht nur durch einen einzigen Weg in die Wirtszellen gelangen. Wie dies nun geschieht, ist einerseits abhängig von der Zellart und ihrem physiologischen Zustand; so ist anzunehmen, daß in vivo in einer infizierten Wirtszelle die Bedingungen anders sind als in Zellkulturen, die unter künstlichen Verhältnissen gehalten werden; eine Übertragung von Laborergebnissen auf klinische Verhältnisse ist also nur bedingt möglich. Andererseits ist die intrazelluläre Konzentration von der Chemie des Antibiotikums beeinflusst; dabei gibt es erhebliche Abweichungen auch bei feinen strukturellen Unterschieden.

Export

Diffusion

Solche Substanzen, die passiv von außen nach innen gelangen, können im Prinzip auch wieder vom Zellin-

neren zurückdiffundieren, sobald im extrazellulären Milieu die Konzentration abnimmt. Dies trifft für die Nitroimidazole sowie für die Beta-Lactam-Antibiotika zu [7].

Carriersysteme

Aber auch aktive Transportwege können bidirektional genutzt werden. Makrolide werden aktiv aus den intrazellulären Depots fast ebenso schnell wieder exportiert wie importiert [12]; die Exportrate hängt allerdings noch zusätzlich von der Dissoziation von den intrazellulären Bindungsstellen ab [12]; während Erythromycin, Roxithromycin und Josamycin nur lose an solche Bindungsstellen anhaften, sitzt Azithromycin – übrigens auch die Ketolide – recht fest, so daß die Ausscheidung aus den Zellen sich über Stunden hinzieht [21]. Dieser stabile intrazelluläre Pool trägt damit ganz wesentlich zur langen Halbwertszeit von Azithromycin bei, welche mehrere Tage beträgt.

Auch Aminoglykoside, wenn sie erst einmal intrazellulär aufgenommen sind, werden in dauerhaften intrazellulären Reservoiren gespeichert, aus denen sie nur nach und nach freigesetzt werden. Nach einer längeren Therapiedauer mit diesen Antibiotika werden dann aus diesen Depots noch über viele Tage hinweg niedrige, aber meßbare Serumspiegel gespeist [22]. Bis heute wird noch wenig beachtet, daß solche andauernden subinhibitorischen Antibiotikakonzentrationen einen Selektionsdruck auf eine Keimpopulation ausüben können.

Pumpen

Einige Zellen im Körper wehren sich wirkungsvoll vor dem Eindringen externer Substanzen dadurch, daß sie eine Molekülpumpe anschalten. Diese Eigenschaft ist genetisch kodiert und beinhaltet ein Protein, das P-Glykoprotein, welches mehrere extrazelluläre, transmembranöse und intrazelluläre Domänen besitzt. Auf der intrazellulären Seite findet man ein hochkonserviertes Motiv, welches ATP bindet, so daß man auch diese Pumpe zu den sogenannten ABC-(ATP Binding Cassette)-Transportern zählt. Diese Exportpumpe wirkt wie ein Staubsauger, der eine Substanz sofort wieder nach außen

befördert, sobald sie an anderer Stelle durch die Membran eingedrungen ist. Zellen mit dieser Eigenschaft sind somit gegen eine Vielzahl von Stoffen resistent, was als Multi Drug Resistance (MDR) bezeichnet wird. Auffällig werden solche Zellen dadurch, daß sie gegen Zytostatika resistent sind, die eben eliminiert werden, bevor sie an ein intrazelluläres Target binden können [23]. Kürzlich konnte gezeigt werden, daß auch antimikrobiell wirksame Antibiotika, speziell fast alle Makrolide, aber in unterschiedlichem Ausmaß, von diesem Exportsystem erfaßt werden [24]. Da aber eben nicht nur manche Tumorzellen solche Gene konstitutiv exprimieren, sondern auch ganz normale Zellen in bestimmten Geweben diese Eigenschaft besitzen, kann diesem Phänomen klinische Relevanz zukommen (Abb. 2). Da speziell die Endothelzellen der Kapillaren im Gehirn MDR-positiv sind, dürften sie bei der Entstehung der Blut-Hirn-Schranke mitbeteiligt sein. Somit wäre erklärlich, warum Spiramycin nicht ins Gehirn gelangt [25] und folglich für die Therapie einer Toxoplasma-Enzephalitis ungeeignet erscheint. Andere Gewebe, die normalerweise als MDR-negativ gelten, können aber durch äußere Einflüsse zur Expression dieser Pumpe induziert werden [23]. Mit Hilfe von spezifischen Blockern dieser Exportpumpen kann man aber den Import von Medikamenten erzwingen. So wird durch Verapamil oder PSC 333 die intrazelluläre Wirkung von Erythromycin wieder restituiert [24]. Die Rolle solcher Exportpumpen dürfte in der Natur eine erhebliche Bedeutung haben, denn es existieren mehrere davon, die ganz unterschiedliche Spektren von Substanzen transportieren. So soll angeblich das Multidrug Resistance related Protein (MRP) am Export von Chinolonen, zum Beispiel Difloxacin, beteiligt sein [26]. Wenn in der Galle und in der Darmschleimhaut die Chinolone aktiv eliminiert werden, so könnte dies eventuell eine Folge davon sein.

Intrazelluläre Akkumulation

Viele Antibiotika sind im Prinzip in der Lage, in Wirtszellen einzudrin-

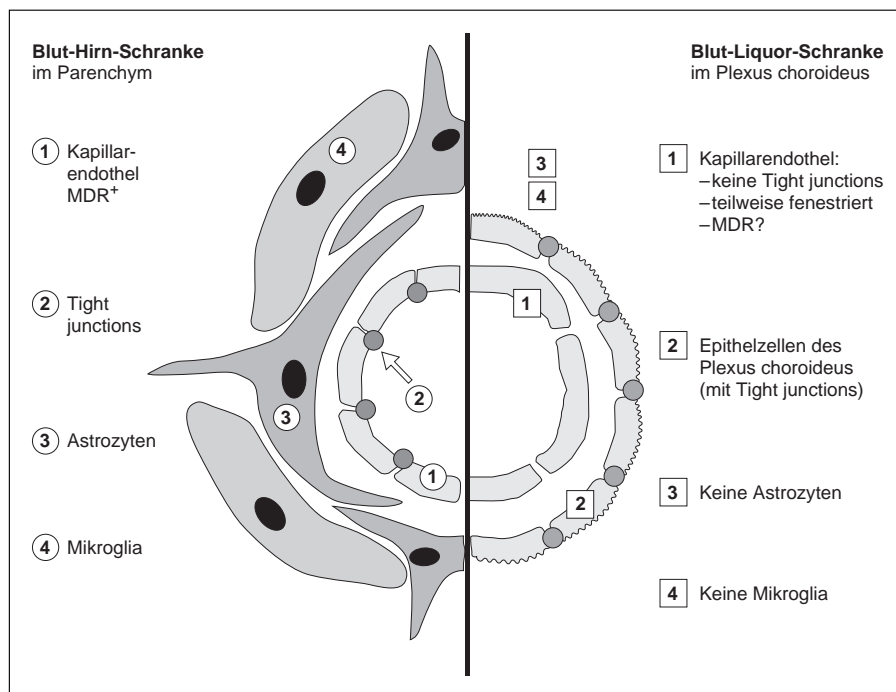


Abb. 2. Schematische Darstellung der Blut-Hirn-Schranke und der Blut-Liquor-Schranke

gen, aber doch in recht unterschiedlichem Ausmaß (Tab. 3). Während eben einige nur in geringer Konzentration intrazellulär vorliegen, d.h. in niedrigerer Konzentration als in der extrazellulären Flüssigkeit, besitzen andere geradezu einen Tropismus für das intrazelluläre Milieu und reichern sich dort an. Einige erreichen dabei extreme Werte: Azithromycin erzielt das 200- bis 300fache der extrazellulären Werte, zumindest unter günstigen Bedingungen und in einigen Zellarten. So werden die höchsten intrazellulären Werte in polymorphkernigen Granulozyten beobachtet, in Monozyten dagegen wurden nur die 6fach höheren Werte festgestellt, und in Erythrozyten war keine Akkumulation nachweisbar [21]. Aber auch innerhalb einer Zellpopulation existieren doch heterogene Aktivitätsgrade, so daß die aufgenommene Menge von Zelle zu Zelle schwankt.

Der aktuelle intrazelluläre Gehalt eines Antibiotikums resultiert aus verschiedenen, zum Teil auch gegenteiligen Prozessen von Import und Export. Wie schon oben ausgeführt, ist die Transportkapazität für die einzelnen Antibiotika unterschiedlich. Folglich ist die Zeitdauer, in der eine Zelle einem Antibiotikum exponiert ist, von großer Bedeutung, was oft vergessen wird; so sind die Angaben in der Literatur über die intrazel-

lulären Spiegel von Aminoglykosiden recht widersprüchlich, was eben allein dadurch erklärt werden kann, daß bei kurzer Exposition von Minuten und wenigen Stunden, wie dies meistens bei Versuchen mit Zellkulturen geübt wird, kein oder nur ein geringer intrazellulärer Gehalt festgestellt wird, während in vivo bei tagelanger Therapie erhebliche Mengen nach innen gelangen. Auf der anderen Seite sind die Transportkapazitäten für Makrolide beträchtlich, so daß die intrazellulären Lager innerhalb von wenigen Minuten bereits maximal gefüllt sind [12, 13], so daß auch bei anhaltender Exposition im Extrazellulärraum kein weiterer Anstieg zu vermenden ist. Azithromycin unterscheidet sich von den anderen Makroliden darin, daß es zunächst wie alle Makrolide ins Zytosol aufgenommen und in diesem ersten Speicher zunächst zwischengelagert wird. Als schwache Base wird es aber dann in einem zweiten Schritt, der einige Zeit länger dauert, allmählich in die Lysosomen aufgenommen und in diesem zweiten Speicher endgelagert, was dann letztlich zu den extrem hohen intrazellulären Werten führt [13].

Im Körper spielen noch andere Faktoren eine Rolle für den erreichten intrazellulären Wert, nämlich neben der Dosis auch die pharmakodynamischen und pharmakokinetischen

Tab. 3. Aufnahme von Antibiotika in Wirtszellen und ihre intrazelluläre Verteilung

Antibiotika	Intrazelluläre Verteilung auf:	
	Zytoplasma	Lysosomen
Gruppe I (Verhältnis intra-/extrazellulär >10)		
Makrolide (Erythromycin, Roxithromycin, Azithromycin, Spiramycin)	+	+
Ketolide	KA	KA
Clindamycin	+	+
Streptogramin (RP 59500)	KA	KA
Rifapentin	+	KA
Coumermycin	KA	KA
Gruppe II (Verhältnis intra-/extrazellulär 1-10)		
Chinolone (Ofloxacin, Ciprofloxacin, CI 934)	+	(+)
Rifampicin	+	+
Tetracyclin	KA	KA
Chloramphenicol	KA	KA
Vancomycin	KA	KA
Teicoplanin	^a	-
Fosfomycin	KA	KA
Gruppe III (Verhältnis intra-/extrazellulär <1)		
Penicillin	+	-
Ampicillin	+	-
Cephalosporine	+	-
Imipenem	+	-
Aminoglykoside (Gentamicin, Netilmicin, Amikacin)	-	+

+ = starke Akkumulation; (+) = geringe Akkumulation; - = keine Akkumulation; KA = keine Angaben, ^a bleibt an der Innenseite der Zellmembran haften

Eigenschaften eines Antibiotikums, denn diese bestimmen den Serumspiegel, den Gewebstropismus und den daraus resultierenden Gewebsflüssigkeitsspiegel.

Daraus folgt, daß es immer willkürlich ist, wenn man absolute oder auch nur relative Konzentrationen von Antibiotika in Zellen angibt, wie das oft getan wird, denn in der Realität ist dieses Ranking einer Vielzahl von variablen Größen unterworfen (Tab. 3).

Ein weiterer Aspekt der intrazellulären Antibiotika sollte noch kurz erwähnt werden. Wenn Granulozyten sich mit Makroliden angereichert haben, können sie als Vehikel dafür dienen. Nachdem sie gemäß ihrer Funktion als Entzündungszellen in einen Infektionsherd einwandern, können sie dann dort ihre Ladung freisetzen [21], so daß an dem Ort, wo die meiste Hilfe benötigt wird, auch just die höchste Konzentration eines Wirkstoffes vorkommt.

Die intrazelluläre Verteilung auf verschiedene Kompartimente

Das Schicksal der Antibiotika in der Zelle nach der Penetration ist recht unterschiedlich je nach der chemi-

schen Komposition. Selten sind die Substanzen gleichmäßig über die ganze Zelle verteilt; vielmehr findet eine Sortierung und Verteilung in einzelne Zellkompartimente statt. Und dies hat natürlich Auswirkungen auf die Therapie.

Lysosomen

Zunächst nimmt die Art der Penetration Einfluß auf das weitere Schicksal. So werden generell Materialien, die durch Fluidphase- oder Rezeptorvermittelte Endozytose importiert wurden, in den lysosomalen Pathway eingeschleust. Dies gilt gleichermaßen für partikuläre Stoffe, etwa Liposomen und Nanopartikel – unabhängig vom Antibiotikum, das sie beinhalten –, die durch Phagozytose internalisiert werden.

Zytosol

Natürlich kontrolliert auch die chemische und physikochemische Struktur eines Antibiotikums, wie die Größe, die Hydrophobizität, die Polarität und die elektrische Ladung, seine intrazelluläre Verteilung. So erklärt sich die relative Verteilung von Azithromycin zunächst im Zytosol und danach über ein Ion-trapping der schwachen Base in die Lysosomen [13]. Solche schwachen Laugen sind zunächst bei neutralem pH mem-

brängig; wenn sie dann in das saure Milieu der Lysosomen geraten, ändern sie ihre Ladung und können dann nur schwer wieder die Membranen rückwärts passieren. Sie sind also in den Lysosomen wie in einer Falle. Auf diese Art und Weise gelangen übrigens auch die Aminoglykoside nach einiger Zeit in diese Zellorganellen, wo sie sich hauptsächlich anreichern [7]. Auch die Chinolone sind primär im Zytosol und können von dort nach und nach in andere Kompartimente, auch in die Lysosomen, verteilt werden. Die Membran der Phagozytosevakuole ist ein spezielles Hindernis für Stoffe aus dem Zytosol. Die intrazellulären Erreger, die in den Vakuolen überleben, regulieren obendrein noch ganz aktiv den Stoffaustausch (Tab. 1). Toxoplasma gondii gestattet Poren in dieser Membran den Übertritt von Molekülen bestimmter Größe, nämlich unter 1 900 Da, während Chlamydien nicht einmal dies zulassen [27].

Beta-Lactame findet man ausschließlich im Zytosol. Unklar ist, an welche Strukturen und wie fest sie da gebunden sind.

Zellwand

Dagegen bleibt Teicoplanin, das einen hydrophilen und einen hydrophoben Molekülrest besitzt, mit dem letzteren Teil in der Lipiddoppelschicht der Wirtszellmembran hängen, bleibt also an die Zellmembran fixiert [28].

Undefiniert

Bis heute ist allerdings die exakte intrazelluläre Lokalisation für die meisten Antibiotika noch nicht genau bekannt [24]. Nur eine grobe Einteilung ist derzeit möglich (Tab. 3).

Die klinische Bedeutung der ungleichmäßigen Verteilung von Antibiotika auf intrazelluläre Kompartimente beruht darin, daß es somit möglich ist, daß Antibiotikum und Erreger jeweils in ein ganz unterschiedliches Kompartiment in einer Wirtszelle geraten. Dies erklärt in manchen Fällen ein Therapieversagen trotz eigentlich guter In-vitro-Wirksamkeit. Eine intrazelluläre Anreicherung allein ist noch keine Garantie für eine gute therapeutische Wirkung gegen intrazelluläre Keime.

Intrazelluläre Aktivität von Antibiotika

Exogene Antibiotika

Nicht nur die Konzentration eines Antibiotikums, sondern auch die Verhältnisse in der Zelle bestimmen die therapeutische Wirkung. Substanzen, die über den endozytotischen Pathway aufgenommen werden, erleben während des Weges vom *early endosome* über das *late endosome* bis hin zum Lysosom einen ständig sinkenden pH-Wert, was eben durch die Aktivität der Protonenpumpe bedingt ist [15]. Werden also zum Beispiel Aminoglykoside schlußendlich in diese Lysosomen geschleppt, so nehmen sie eine ganz neue Konfiguration an; sie werden nämlich protoniert und in dieser Form sind sie völlig unwirksam [7].

Makrolide verlieren ebenfalls bei saurem pH graduell ihre Aktivität. Dies trifft auch für die Chinolone zu. Folglich kann man davon ausgehen, daß auch in angesäuerten Phagozytosevakuolen, in die die meisten Bakterien nach Phagozytose geraten und auch bleiben, die allermeisten Antibiotika höhere MHK-Werte haben als bei den neutralen Verhältnissen auf Müller-Hinton-Agar *in vitro*. Nur wenige antimikrobielle Stoffe, wie etwa Rifampicin, erreichen gerade erst unter diesen sauren Bedingungen ihre optimale Wirkung. Wenig ist bekannt, welche anderen lokalen Milieuviationen die intrazelluläre Wirkung der Antibiotika beeinflussen.

Die intrazellulären Wirkungsbedingungen ändern sich unter anderem auch allein durch eine Infektion mit intrazellulären Keimen. Legionellen sowie Chlamydien hemmen die Fusion der Lysosomen mit der Phagozytosevakuole, was andere phagozytierte Keime, die weniger an diese Situation adaptiert sind, nicht so gut können (Tab. 1) [6]. Folglich bleibt der pH im neutralen Bereich, so daß manche Antibiotika wieder eine gewisse Chance haben zu wirken. Ob Salmonellen eventuell auch den pH in der Vakuole regulieren, ist umstritten. Während früher behauptet wurde, daß diese pathogenen intrazellulären Bakterien die Ansäuerung der Phagozytosevakuole verzö-

gern und auch sonst in einer anderen, geräumigeren Vakuole liegen [5], wird dies in neueren Arbeiten bestritten [29, 30].

Eine weitere Einflußnahme geschieht dadurch, daß im Gegenzug zum Transport einer Substanz, also auch von Antibiotika, durch eine Membran andere, nicht verwandte Agenzien transportiert werden können, entweder in der gleichen Richtung (Symport) oder in der Gegenrichtung (Antiport) (Abb. 1). Spezielle Ionen wie H^+ , Na^+ , K^+ und Ca^{2+} oder Cl^- und HCO_3^- werden gleichzeitig im intrazellulären Milieu mitbewegt, wodurch sich die Wirkungsbedingungen der Antibiotika in einem bestimmten Milieu radikal ändern [28].

Die Aktivität von intrazellulären Antibiotika kann auch durch fremde Medikamente beeinflußt werden, die gleichzeitig mit der Antibiotikatherapie einem infizierten Patienten verabreicht werden. Strophanthin oder auch Amilorid hemmen die Protonenpumpe in einer Zelle und verhindern eine übermäßige Ansäuerung und verändern damit die Wirkungsbedingungen. „Lysosomotrope“ Substanzen, das sind eben schwache Laugen, wie Chloroquin und Amantadin, akkumulieren in diesen Zellorganellen und erhöhen den pH-Wert in den Lysosomen [31]. So wird die Wirkung von Doxycyclin auf intrazelluläre Rickettsien durch die gleichzeitige Gabe von Chloroquin bzw. Amantadin wesentlich verbessert, weil der pH in den sonst recht sauren Phagozytosevakuolen, in denen die Rickettsien liegen, ansteigt [32]. Carboxische Ionophore, wie Monensin, wirken ganz anders, indem sie sich in Membranen der Wirtszelle integrieren und Kanäle für monovalente Kationen schaffen; H^+ -Ionen in einer Phagozytosevakuole können so gegen K^+ -Ionen im Zytosol ausgetauscht werden, die dort in exzessiver Menge vorhanden sind, so daß der pH in der Phagozytosevakuole dadurch ansteigt, was die Wirkung einiger Antibiotika begünstigt.

Aus diesen wenigen Beispielen geht hervor, daß Antibiotika mitnichten die gleiche Aktivität in einer Zelle wie außerhalb einer Zelle haben. So ist die erforderliche Hemmkonzentration von Makroliden in Wirtszellen deutlich höher als in

in vitro [13], was den Effekt der starken Akkumulation dieser Substanzen etwas relativiert.

Aber auch aus ganz anderen Gründen kann man die Hemmkonzentrationen *in vitro* und in einer Wirtszelle nicht direkt miteinander vergleichen. Die Vulnerabilität eines Bakteriums ändert sich nämlich im Verlaufe seines intrazellulären Schicksals. Die Multiplikationsrate von *Listeria monocytogenes* in einer permissiven Wirtszelle ist recht unterschiedlich, aber auf alle Fälle geringer als unter Testbedingungen *in vitro* [33]. Daraus folgt zwangsläufig, daß die meisten Antibiotika, speziell aber die Beta-Lactame, schlechter wirken. Dazu kommt noch, daß die raffinierten Bakterien, die sich an ein Leben im Zytosol adaptiert haben, sich dort mit einer dicken Schicht von zelleigenen Proteinen, dem polymeren Aktin, umgeben [33], was ein weiterer Schutz vor dem Antibiotikum sein kann. Andere Keime, wie etwa die *small colony variants* von *Staphylococcus aureus*, liegen an privilegierten intrazellulären Orten und ruhen über lange Zeit [34, 35] und sind so refraktär gegenüber den meisten Antibiotika.

Andererseits sollte man jedoch bedenken, daß Antibiotika auch noch in subinhibitorischen Konzentrationen antimikrobielle Effekte haben, die therapeutische Wirkungen haben können. So ändert sich die Architektur der Zellwand schon, bevor eine Hemmung der Vermehrung eintritt [36], wodurch die Anfälligkeit der intrazellulären Erreger gegen die Verdauung durch die Wirtszelle womöglich steigt. In subinhibitorischen Konzentrationen wird aber bereits auch die Produktion mancher Virulenzfaktoren reduziert, was auf das Verhalten der Keime in der Wirtszelle Einfluß haben kann [37].

Endogene Antibiotika

An dieser Stelle sollte man kurz die Rolle der endogenen Antibiotika streifen. In den verschiedenen Zellkompartimenten trifft ein pathogener Keim auf natürliche antimikrobielle Oligopeptide und Proteine: Defensine, Protegrine, BPI-Protein, Lysozym und andere Stoffe mehr sind in den Lysosomen einer Zelle gespeichert [38], dagegen Histone [39],

Calprotectin [40] und noch andere im Zytosol [38]. In der Tat können nur solche Keime intrazellulär in den Geweben mit hohen Konzentrationen solcher endogenen Antibiotika überleben, die in der Lage sind, sich gegenüber diesen antimikrobiellen Stoffen zu wehren [41]. Diese Stoffe wirken allein und im Verbund mit den oxidativen und nicht-oxidativen Abwehrmechanismen einer Wirtszelle [38] und verstärken somit die therapeutische Wirksamkeit exogener Antibiotika.

Welche Auswirkungen hat die intrazelluläre Speicherung von Antibiotika auf die Wirtszelle?

Ein ideales Antibiotikum trifft ausschließlich das Bakterium und nicht die Wirtszelle. Aber leider existiert noch kein Mittel, das diesen Ansprüchen genügt. Über die modulierende Wirkung von Antibiotika auf die Funktion der Wirtszellen ist vielfach berichtet worden. Verständlicherweise sind hauptsächlich solche Antibiotika dazu in der Lage, die intrazellulär angereichert werden. Die massive intrazelluläre Speicherung von Aminoglykosiden in den Lysosomen der Tubuluszellen der Nierenrinde bzw. in den Haarzellen des Innenohres, die bei langanhaltender Therapie eintritt, schädigt diese Organellen, was die Nephro- und Ototoxizität bedingt [7]. Andere Effekte, zum Beispiel auf die Lokomotion, Phagozytose, intrazelluläre Verdauung, Zytokinproduktion von Leukozyten ist diskreter [42].

Diese pleiotropen Effekte von Antibiotika können sowohl hilfreiche wie auch nachteilige Auswirkungen auf eine Infektion haben. Derzeit sind diese Phänomene aber so wenig charakterisiert, daß man keine Ratschläge für die Praxis daraus ziehen kann; so ist derzeit eine immunmodulatorische Funktion von Antibiotika noch kaum in die richtige Richtung zu steuern.

Praktische Bedeutung der Antibiotika für die Behandlung von Infektionen mit intrazellulären Erregern

Einige der intrazellulär vermehrungsfähigen Erreger sind eigentlich nur für abwehrgeschwächte Personen gefährlich; gerade dann ist der Patient auf die externe Hilfe von Antibiotika angewiesen, wenn die körpereigene Abwehr insuffizient ist. Die intrazellulären Keime sind jedoch in geschützten Nischen versteckt und für die meisten Antibiotika nicht erreichbar; nur eine kleine Liste der bekannten Antibiotika ist in einer solchen Situation hilfreich (Tab. 3). Nur mit Hilfe von wirksamen intrazellulären Antibiotika können solche Herde kuriert werden, denn sonst droht eine Exazerbation nach Beendigung der Therapie.

Andererseits sollte man aber bedenken, daß bei Infektionen mit fakultativ intrazellulären Bakterien, etwa bei der Tuberkulose aber auch bei der Listeriose [24], ein gewisser Anteil der Bakterien - zumindest in einer bestimmten Phase der Infektion - extrazellulär liegt und so auch für andere Antibiotika als nur für die intrazellulär angereicherten erreichbar ist, d.h. daß bei Infektionen mit sogenannten intrazellulären Erregern viele Antibiotika eine Wirkung haben, obwohl sie nicht in die Wirtszellen eindringen.

Die meisten Bewegungen erfolgen aufgrund von aktiven Prozessen, die nicht nur von Antibiotika, sondern auch in gleicher Weise von anderen fremden oder auch von physiologischen Stoffen genutzt werden.

Literatur

1. Schentag JJ. Correlation of pharmacokinetic parameters to efficacy of antibiotics: relationships between serum concentrations, MIC values, and bacterial eradication in patients with gram-negative pneumonias. *Scand J Infect Dis* 1991; 74 (Suppl):218-34.
2. Hof H. Management of listeriosis. In: Pechère JC, editor. *Intracellular bacterial infections*. Worth: Cambridge Medical Publications, 1996:137-44.

3. Schlüter D, Chahoud S, Lassmann H, Schumann A, et al. Intracerebral targets and immunomodulation of murine *Listeria monocytogenes* meningoencephalitis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996;55:14-24.
4. Haegele B, Mersch-Sundermann V, Kretschmar M, Hof H. Antimikrobiell wirksame Oligopeptide - ein wichtiger Teil der unspezifischen Infektabwehr. *Immun Infekt* 1995;23:205-8.
5. Alpuche-Aranda CM, Swanson JA, Loomis WP, Miller SI. Salmonella typhimurium activates virulence gene transcription within acidified macrophage phagosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:10079-83.
6. Horwitz MA. Formation of a novel phagosome by the Legionnaire's disease bacterium (*Legionella pneumophila*) in human monocytes. *J Exp Med* 1983;158:1319-31.
7. Tulkens PM. The intracellular pharmacokinetics and activity of antibiotics. In: Neu HC, editor. *New antibacterial strategies*. Frontiers of infectious diseases. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1990:243-61.
8. Acocella G, Carlone NA, Cuffini AM, Cavallo G. The penetration of rifampicin, pyrazinamide, and pyrazinoic acid into mouse macrophages. *Am Rev Respir Dis* 1985;132:1268-73.
9. Braga PC, Dal Sasso M, Maci S, Bondiolotti G, et al. Penetration of brodimoprim into human neutrophils and intracellular activity. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:2392-8.
10. Muranushi N, Horie K, Masuda K, Hirano K. Characteristics of ceftibuten uptake into Caco-2 cells. *Pharm Res* 1994;11:1761-5.
11. Hand WL, Hand DL. Influence of pentoxifylline and its derivative on antibiotic uptake and superoxide generation by human phagocytic cells. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1574-9.
12. Laufen H, Wildfeuer A. Kinetics of uptake of antimicrobial agents by human polymorphonuclear leucocytes. *Drug Res* 1989;39:233-5.
13. McDonald PJ, Prүүл H. Phagocyte uptake and transport of azithromycin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1991;10:828-33.
14. Mtairag EM, Abdelghaffar H, Douhet C, Labro MT. Role of extracellular calcium. In vitro uptake and intraphagocytic location of macrolides. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1676-82.
15. Mellman I, Fuchs R, Helenius A. Acidification of the endocytic and exocytic pathways. *Ann Rev Biochem* 1986;55:663-700.
16. Brajtburg J, Bolard J. Carrier effects on biological activity of amphotericin B. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:512-31.
17. Majumdar S, Basu SK. Killing of intracellular *Mycobacterium tuberculosis* by receptor-mediated drug delivery. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:135-40.
18. Nègre E, Chance ML, Hanboula SY, Monsigny M, et al. Antileishmanial drug targeting through glycosylated polymers specifically internalized by macrophage membrane lectins. *Antimicrob Agents Chemo-*

- ther 1992;36:2228-32.
19. Bakker-Woudenberg IAJM, Lokerse AF, ten Kate MT, Melissen PMB, et al. Liposomes as carriers of antimicrobial agents or immunomodulatory agents in the treatment of infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993;12(Suppl 1):61-7.
 20. Kreuter J. Liposomes and nanoparticles as vehicles for antibiotics. *Infection* 1991; 19 (Suppl 4):224-8.
 21. Wildfeuer A, Laufen H, Zimmermann T. Uptake of azithromycin by various cells and its intracellular activity under in vivo conditions. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:75-9.
 22. Schentag JJ, Jusko WJ, Plaut ME, Cumbo TJ, et al. Tissue persistence of gentamicin in man. *J Am Med Assoc* 1977;238:327-9.
 23. Gottesman MM, Pastan I. Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter. *Ann Rev Biochem* 1993;62:385-427.
 24. Hof H, Nichterlein T, Kretschmar M. Management of listeriosis. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:345-57.
 25. Schondermark-van de Ven E, Galama J, Camps W, Vree T, et al. Pharmacokinetics of spiramycin in the rhesus monkey: transplacental passage and distribution in tissue in the fetus. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:1922-9.
 26. Gollapudi S, Thadepalli F, Kim CH, Gupta S. Difloxacin reverses multidrug resistance in HL-60/AR cells that overexpress the multidrug resistance-related protein (MRP) gene. *Oncol Res* 1995;7:213-25.
 27. Hirsch JG. Bactericidal action of histone. *J Exp Med* 1958;108:925-44.
 28. Hof H. Intracellular microorganisms: a particular problem for chemotherapy. *Infection* 1991;19(Suppl 4):193-4.
 29. Oh YK, Alpuche-Aranda C, Berthiaume E, Jinks T, et al. Rapid and complete fusion of macrophage lysosomes with phagosomes containing *Salmonella typhimurium*. *Infect Immun* 1996;64:3877-83.
 30. Raoult D. Treatment of Q fever. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:1733-6.
 31. Raoult D, Drancourt M, Vestris G. Bactericidal effect of doxycycline associated with lysosomotropic agents on *Coxiella burnetii* in P 388D1 cells. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:1512-4.
 32. Rathman M, Sjaastad MD, Falkow S. Acidification of phagosomes containing *Salmonella typhimurium* in murine macrophages. *Infect Immun* 1996;64:2765-73.
 33. Sheehan B, Kocks C, Dramsi S, Gouin E, et al. Molecular and genetic determinants of the *Listeria monocytogenes* infectious process. In: Dangl JL, editor. *Bacterial pathogenesis of plants and animals*. *Curr Topics Microbiol Immunol* 1994;192:187-216.
 34. Balwit JM, van Langevelde P, Vann JM, Proctor RA. Gentamicin-resistant menadione and hemin auxotrophic *Staphylococcus aureus* persist within cultured endothelial cells. *J Infect Dis* 1994;170:1033-7.
 35. Bayles KW, Wesson CA, Liou LE, Fox LK, et al. Intracellular *Staphylococcus aureus* escapes the endosome and induces apoptosis in epithelial cells. *Infect Immun* 1998;66:336-42.
 36. Lorian V, Gemmel CG. Effect of low antibiotic concentrations on bacteria: effects on ultrastructure, virulence, and susceptibility to immunodefenses. In: Lorian V, editor. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. London: Williams and Wilkins, 1991:493-555.
 37. Nichterlein T, Domann E, Kretschmar M, Bauer M, et al. Subinhibitory concentrations of β -lactams and other cell-wall antibiotics inhibit listeriolysin production by *Listeria monocytogenes*. *Int J Antimicrob Agents* 1996;7:75-81.
 38. Elsbach P, Weiss J. Phagocytic cells: oxygen-independent antimicrobial systems. In: Gallin JI, Goldstein IM, Snyderman R, editors. *Inflammation: Basic principles and clinical correlates*. New York: Raven Press, 1988:445-70.
 39. Heinzen RA, Hackstedt T. The *Chlamydia trachomatis* parasitophorous vacuolar membrane is not passively permeable to low-molecular-weight compounds. *Infect Immun* 1997;65:1088-94.
 40. Sohnle PG, Collins-Lech C, Wiesner JH. Antimicrobial activity of an abundant calcium-binding protein in the cytoplasm of human neutrophils. *J Infect Dis* 1990;163:187-92.
 41. Groisman EA. How bacteria resist killing by host-defense peptides. *Trends Microbiol* 1994;2:444-9.
 42. Labro MT, El Benna J. Effects of anti-infectious agents on polymorphonuclear neutrophils. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;10:124-31.

Zum Titelbild von Chemotherapie Journal Nr. 2/1998:

Leider wurden bei der Umsetzung des Titelbildes aus der Grafik eines Beitrages dieses Heftes die Grenzen Deutschlands falsch dargestellt.

Aus dem Zusammenhang des Artikels, dem die Abbildung entnommen ist, geht eindeutig hervor, daß die Bakterienstämme analysiert wurden, die die Verfasserin noch vor der Wende aus der damaligen DDR erhalten hatte. Bei der Ausbreitung von

humanpathogenen Bakterien spielt der Wirt eine wesentliche Rolle, und die Befunde bestätigten diese Annahme: die aus der früheren DDR stammenden Bakterienstämme waren, wenn überhaupt, mit Isolaten verwandt, die aus anderen osteuropäischen Ländern, zum Beispiel Ungarn stammten, während die in Westberlin und der damaligen Bundesrepublik isolierten Stämme eine

Verwandtschaft zu westeuropäischen Stämmen aufwiesen. Die Abbildung und das Titelbild beziehen sich allein auf diesen Befund und haben natürlich mit der heutigen Situation nichts zu tun.

Für Mißverständnisse, die aus dieser Darstellung resultieren, bitten wir um Entschuldigung