



Technische Universität München

Fakultät für Medizin

Klinik und Poliklinik für Innere Medizin II

Klinikum rechts der Isar der TUM

(Direktor: Prof. Dr. Roland M. Schmid)

**Mikrobiologische Keimspektrum-Analyse intraduktaler Pankreas-Stents  
in Abhängigkeit der in-vivo Liegedauer**

Philipp Kurt Schenk

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Ernst J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. Andreas Weber
2. Prof. Dr. Helmut Friess

Die Dissertation wurde am 03.09.2018 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 12.06.2019 angenommen.



# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	6
Tabellenverzeichnis .....	7
1. Einleitung.....	8
1.1. Indikationen und Durchführung der Stent-Therapie.....	9
1.1.1. Pankreasgangstenosen .....	9
1.1.2. Pankreasgangsteine .....	10
1.1.3. Pankreasgangleckage .....	10
1.1.4. Pseudozysten.....	11
1.1.5. Sphinkterotomie.....	11
1.1.6. Post-ERCP-Pankreatitis .....	12
1.2. Komplikationen der Stent-Therapie.....	13
1.2.1. Frühkomplikationen.....	13
1.2.2. Spätkomplikationen .....	13
1.3. Mikrobielles Milieu im Bereich des Pankreas .....	16
1.3.1. Bakterien des oberen Gastrointestinaltrakts .....	16
1.3.2. Mikrobielle Abwehrmechanismen des Pankreas .....	17
2. Zielsetzung.....	19
3. Material und Methodik .....	20
3.1. Studienmodell .....	20
3.2. Studieneinschluss.....	20
3.3. Datenerhebung .....	22
3.3.1. Basisdaten .....	22
3.3.2. Patientenkollektiv .....	22
3.3.3. Pankreas-Stents .....	23

3.4. Endoskopische Intervention.....	24
3.4.1. Pankreas-Stent-Einlage.....	24
3.4.2. Pankreas-Stent-Bergung .....	25
3.5. Mikrobiologische Analyse.....	27
3.5.1. Stent-Aufbereitung.....	27
3.5.2. Inkubation .....	28
3.5.3. Analyseverfahren .....	28
3.6. Auswertung.....	30
3.6.1. Datenbank .....	30
3.6.2. Auswertungsgruppen .....	30
3.6.3. Gliederung der Mikroorganismen.....	31
3.6.4. Statistische Methode .....	32
4. Ergebnisse.....	33
4.1. Gesamtanzahl der Mikroorganismen und Anzahl der besiedelten Stents.....	33
4.1.1. Aerobe, grampositive Bakterien .....	34
4.1.2. Aerobe, gramnegative Bakterien .....	35
4.1.3. Anaerobe Bakterien .....	36
4.1.4. Pilze .....	37
4.2. Anzahl der Mikroorganismen in Abhängigkeit von der Liegedauer .....	38
4.2.1. Aerobe, grampositive Bakterien .....	39
4.2.2. Aerobe, gramnegative Bakterien .....	40
4.2.3. Anaerobe Bakterien .....	41
4.2.4. Pilze .....	42
4.3. Besiedlung der Stents in Abhängigkeit von der Liegedauer.....	43
4.3.1. Aerobe, grampositive Bakterien .....	44

4.3.2. Aerobe, gramnegative Bakterien .....	45
4.3.3. Anaerobe Bakterien .....	46
4.3.4. Pilze .....	47
5. Diskussion.....	48
6. Zusammenfassung .....	59
7. Vorveröffentlichungen.....	60
8. Literaturverzeichnis .....	61
9. Danksagung .....	77
10. Eidesstattliche Erklärung .....	78

## Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
bzw.	Beziehungsweise
ca.	Circa
cm	Zentimeter
ERCP	Endoskopische retrograde Cholangiopankreatikographie
ESWL	Extrakorporale Stoßwellenlithotripsie
et al.	Et alii (und andere)
Fr	Englisch: French, Maßeinheit: 1 Fr = 1/3 mm
KL	Kurze Liegedauer
LL	Lange Liegedauer
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation
mm	Millimeter
TOF	Englisch: time of flight

# Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Alter und Geschlechterverteilung der Studienteilnehmer.....	22
Tabelle 2: Ätiologie der Pankreas-Stent-Therapie.....	23
Tabelle 3: Stent-Eigenschaften .....	23
Tabelle 4: Gesamtanzahl Mikroorganismen und Anzahl besiedelter Stents .....	33
Tabelle 5: Anzahl aerober, grampositiver Bakterien und Anzahl besiedelter Stents	34
Tabelle 6: Anzahl aerober, gramnegativer Bakterien und Anzahl besiedelter Stents	35
Tabelle 7: Anzahl anaerober Bakterien und Anzahl besiedelter Stents.....	36
Tabelle 8: Anzahl Pilze und Anzahl besiedelter Stents .....	37
Tabelle 9: Anzahl Mikroorganismen in Abhängigkeit von der Liegedauer .....	38
Tabelle 10: Anzahl aerober, grampositiver Bakterien in Abhängigkeit von der Liegedauer .....	39
Tabelle 11: Anzahl aerober, gramnegativer Bakterien in Abhängigkeit von der Liegedauer .....	40
Tabelle 12: Anzahl anaerober Bakterien in Abhängigkeit von der Liegedauer .....	41
Tabelle 13: Anzahl Pilze in Abhängigkeit von der Liegedauer.....	42
Tabelle 14: Anzahl besiedelter Stents in Abhängigkeit von der Liegedauer.....	43
Tabelle 15: Anzahl besiedelter Stents mit aeroben, grampositiven Bakterien in Abhängigkeit von der Liegedauer.....	44
Tabelle 16: Anzahl besiedelter Stents mit aeroben, gramnegativen Bakterien in Abhängigkeit von der Liegedauer.....	45
Tabelle 17: Anzahl besiedelter Stents mit anaeroben Bakterien in Abhängigkeit von der Liegedauer .....	46
Tabelle 18: Anzahl besiedelter Stents mit Pilzen in Abhängigkeit von der Liegedauer .....	47

# 1. Einleitung

Die Pankreas-Stent-Therapie ist ein endoskopisches Verfahren zur Prävention und Therapie verschiedener benignen und malignen Erkrankungen der Bauchspeicheldrüse (Shah and Martin 2000, Testoni 2007, Avula and Sherman 2010, Deviere 2011, Fan, Qian et al. 2015). Stents sind rohrförmige Prothesen zum Offenhalten von Hohlorganen, die im Rahmen einer endoskopischen retrograden Cholangiopankreatikographie (ERCP) in den Pankreasgang eingelegt werden können (Ambekar and Nanda 2013). Grundprinzip der Pankreas-Stent-Therapie ist die Drainage und suffiziente Ableitung von Pankreassekret (Mangiavillano, Pagano et al. 2015). Ein fehlender oder erschwelter Abfluss kann zu einem intraduktalen und intraparenchymalen Druckanstieg führen, das Pankreasparenchym schädigen und Schmerzen verursachen (Putzke, Jonas et al. 1982, Ebbehøj, Borly et al. 1990, Karanjia, Widdison et al. 1994, Dumonceau, Deviere et al. 1996, Reber, Patel et al. 1999). Die Ursachen des gestörten Sekretabflusses können sehr unterschiedlich sein. Hierzu zählen entzündliche Erkrankungen, Steinleiden, Tumore aber auch ärztliche Interventionen an Pankreas oder Leber können einen Einfluss haben (Mangiavillano, Pagano et al. 2015). Unterschiedliche Indikationen der Stent-Therapie sind mit unterschiedlichen Therapiedauern verbunden. So kann die Stent-Therapie zwischen wenigen Tagen oder mehreren Wochen variieren (Dumonceau, Delhaye et al. 2012, Yin, Wu et al. 2016).

Die folgenden Kapitel gehen auf die wichtigsten Indikationen und die Durchführung der Stent-Therapie ein, geben einen Überblick über die unterschiedlichen Therapiedauern und zeigen die Relevanz in der klinischen Praxis.



## 1.1. Indikationen und Durchführung der Stent-Therapie

### 1.1.1. Pankreasgangstenosen

Als Pankreasgangstenose bezeichnet man eine Verengung des Pankreasgangs (Delhaye, Matos et al. 2003). Ursache einer Pankreasgangverengung können unter anderem inflammatorische Prozesse im Rahmen einer chronischen Pankreatitis, Pankreasgangsteine, Gallengangsteine, Pseudozysten oder Tumorerkrankungen sein (Tandan and Nageshwar Reddy 2013, Gao, Ma et al. 2014, Mangiavillano, Pagano et al. 2015). Therapeutisch erfolgt eine Dilatation des stenotischen Gangabschnitts mit anschließender Pankreas-Stent-Einlage. Zur Dilatation werden Bougies, Ballondilatatoren oder *Soehendra Stent Retriever* verwendet (Ziebert and DiSario 1999). Um eine dauerhafte Gangerweiterung zu gewährleisten, erfolgt die Einlage eines Stents (Single-Stenting) oder mehrerer Stents (Multi-Stenting) (Costamagna, Bulajic et al. 2006, Oza and Kahaleh 2013). Häufig werden Stents mit einem Durchmesser zwischen 5 Fr und 10 Fr verwendet, wobei die Größe von verschiedenen Faktoren, wie zum Beispiel der Stenose-Weite oder der Stenose-Härte, abhängt (Seicean and Vultur 2015).

Die Stent-Einlage gelingt bei 70 % bis 100 % der durchgeführten Interventionen (Oza and Kahaleh 2013). Die Therapiedauer kann sehr variabel sein. Es gibt Therapieprotokolle die einen elektiven Prothesenwechsel im definierten Intervall oder, erst nach Wiederauftreten von Beschwerden, durchführen (Gupta and Reddy 2011). Elektive Wechselintervalle liegen in der Regel bei drei Monaten und sollen Komplikationen vorbeugen, die mit einer Stent-Okklusion verbunden sind (Farnbacher, Muhldorfer et al. 2006, Dumonceau, Delhaye et al. 2012).

Als Therapieerfolg gilt eine signifikante Schmerzreduktion (Dumonceau, Delhaye et al. 2012). Zu Therapiebeginn ist die Erfolgsrate hoch und liegt bei Patienten mit chronischer Pankreatitis zwischen 70 % und 94 %. Die Erfolgsquote nimmt jedoch im Langzeitverlauf häufig ab (Oza and Kahaleh 2013). Im Vergleich zu chirurgischen Interventionen, wie der Pankreasresektion oder der Pankreasdrainage, scheinen die Langzeitergebnisse der Stent-Therapie der chirurgischen Therapie daher unterlegen zu sein (Dite, Ruzicka et al. 2003, Cahen, Gouma et al. 2007, Ahmed Ali, Pahlplatz et al. 2015).

### **1.1.2. Pankreasgangsteine**

Pankreasgangsteine sind eine häufige Komplikation der chronischen Pankreatitis und zeigen sich bei 22 % bis 60 % der Patienten (Drake and Fry 1989). Sie verhindern, ebenso wie Pankreasgangstenosen, den Abfluss des Pankreassekret und werden häufig durch Schmerzen im Abdomen symptomatisch (Choi and Lehman 2012). Neben chirurgischen Therapieverfahren hat sich die endoskopische Steinbergung und die extrakorporale Stoßwellenlithotripsie (ESWL) etabliert (Chen, He et al. 2004, Choi and Kim 2006). Die Wahl des Verfahrens hängt von der Größe und der Lokalisation der Steine ab (Tandan, Reddy et al. 2010).

Die Pankreas-Stent-Therapie im Rahmen der endoskopischen Steinbergung hat ihren Stellenwert bei post-stenotischer Steinlage und zur Therapiesicherung. Bei Pankreasgangsteinen die distale einer Pankreasgangstenose liegen, kann eine Stenosendilatation, wie im vorherigen Kapitel beschrieben, durchgeführt werden um einen ausreichenden Zugang für die Steinbergung zu schaffen (Maydeo, Soehendra et al. 2007). Um einen sicheren Abfluss des Pankreassekrets nach Steinbergung zu gewährleisten, kann die Stent-Einlage in den Pankreasgang erfolgen (Delhaye, Vandermeeren et al. 1992, Tandan, Reddy et al. 2010).

### **1.1.3. Pankreasgangleckage**

Als Leckage wird der Austritt von Flüssigkeit aus dem Pankreasgangsystem bezeichnet. Diagnostisch zeigt sich dies durch einen sichtbaren Austritt von Kontrastmittel im Rahmen der ERCP (Telford, Farrell et al. 2002). Häufig wird dies bei Patienten mit einer akuten oder chronischen Pankreatitis, nach Operationen, Unfällen oder bei Tumorerkrankungen beobachtet (Hiramoto, Kuroki et al. 2011, Varadarajulu, Rana et al. 2013, Kawahara, Maeda et al. 2014, Jagielski, Smoczynski et al. 2017).

Die Stent-Einlage hat sich als effektive Behandlungsmaßnahme etabliert (Das, Papachristou et al. 2016). Das Stenting soll die Heilung des Gangepithels unterstützen, indem das Pankreassekret an der Verletzung vorbei geleitet und das Leck abgedichtet wird (Mangiavillano, Pagano et al. 2015). Stents, die die Verletzung direkt

überbrücken zeigen mit 92 % Heilungsrate das beste klinische Ergebnis (Telford, Farrell et al. 2002).

Häufig beobachtete Komplikationen, die durch den Austritt von Pankreassekret entstehen sind Pseudozysten, Aszites, interne und externe Fisteln. Sie scheinen ebenfalls gut auf die endoskopische Stent-Therapie anzusprechen (Kochhar, Goenka et al. 1995, Cicek, Parlak et al. 2006, Shrode, Macdonough et al. 2013).

#### **1.1.4. Pseudozysten**

Pseudozysten sind flüssigkeitsgefüllte Hohlräume, die nicht mit Epithel ausgekleidet sind. 20 % bis 40 % der Patienten die an einer chronischen Pankreatitis leiden entwickeln Pseudozysten, aber auch Patienten mit akuter Pankreatitis oder nach pankreatischem Trauma können betroffen sein (Cucu, Cornila et al. 2003, Andren-Sandberg and Dervenis 2004).

Therapeutisch hat sich die transpapilläre und die transmurale Stent-Einlage zur Pseudozystendrainage etabliert (Binmoeller, Seifert et al. 1995). Hauptsächlich erfolgt die ultraschallgestützte endoskopische Drainage mit Stent-Einlage von transmural, entweder transgastrisch oder transduodenal (Yasuda, Iwata et al. 2009). Besteht jedoch eine Verbindung der Pseudozyste mit dem Pankreashauptgang im Bereich des Kopfes oder Corpus, so kann die Drainage auch transpapilläre erfolgen. Hierzu erfolgt die Stent-Einlage über die Papilla Vateri bis in die Pseudozyste (Catalano, Geenen et al. 1995, Teoh, Dhir et al. 2016).

Vergleicht man die endoskopische Pseudozystendrainage mit alternativen chirurgischen Therapieverfahren, so scheinen bei ähnlichem klinischem Outcome, aufgrund geringerer Kosten und einer niedrigeren Hospitalisierungsdauer, die endoskopischen Verfahren aktuell präferierte zu werden (Zhao, Feng et al. 2016).

#### **1.1.5. Sphinkterotomie**

Stents werden häufig zur Durchführung als Hilfsmittel oder zur Prävention von Komplikationen im Rahmen einer pankreatischen Sphinkterotomie verwendet (Cha,

Leung et al. 2013). Eine Sphinkterotomie kann therapeutisch zum Beispiel bei der chronischen Pankreatitis, beim Pankreas divisum oder auch als Hilfsmittel bei endoskopischen Interventionen zur erleichterten Einführung von Instrumenten in den Pankreasgang verwendet werden (Joo, Yoon et al. 2009). Die Sphinkterotomie kann nach dem *Pull-Typ* oder dem *Needle-Knife* Verfahren durchgeführt werden (Varadarajulu and Wilcox 2006). Beim *Needle-Knife* Verfahren wird zu Beginn endoskopisch ein Stent in den Pankreasgang eingelegt. Der Stent dient als Führungshilfe beim anschließenden Eröffnen des Sphinkters mit dem *Needle-Knife* (Buscaglia and Kalloo 2007).

Bei schwieriger Infiltration des Gallengangs kann zunächst ein Stent oder ein Führungsdraht in den Pankreasgang eingelegt werden, um im Anschluss eine Sondierung des Gallengangs zu erleichtern (Ito, Fujita et al. 2008).

Durch die Manipulation am Sphinkter kann sich ein Papillenödem entwickeln, das den Pankreassekretabfluss behindert und die Entstehung einer Post-ERCP Pankreatitis begünstigt (Nakahara, Okuse et al. 2014). Um den Sekretabfluss trotz Ödem zu gewährleisten kann für wenige Tage ein Pankreasstent eingelegt werden (Sherman, Lehman et al. 1991, Elton, Howell et al. 1998).

#### **1.1.6. Post-ERCP-Pankreatitis**

Zur Prävention einer Post-ERCP-Pankreatitis hat sich die endoskopische Pankreasstent-Einlage bewährt (Dumonceau, Andriulli et al. 2010). Die Post-ERCP-Pankreatitis gilt als die am häufigsten beobachtete Komplikation im Rahmen der ERCP. Durchschnittlich tritt sie bei 5 % bis 15 % aller Patienten auf, bei Hochrisikopatienten liegt die Rate bei bis zu 40 % (Kahaleh and Freeman 2012, Lee and Park 2014). Häufig verläuft die Pankreatitis milde, seltener aber auch mittel, schwer oder tödlich. Als Hochrisikopatienten gelten unter anderem junge Patienten, Frauen, Patienten mit einer Sphinkterdysfunktion, Patienten mit bereits stattgehabter Pankreatitis, Patienten mit vielen Ganginterventionen und Patienten nach versehentlicher Injektion von Kontrastmittel in den Pankreasgang (Hauser, Milosevic et al. 2015).

Vor allem bei Hochrisikopatienten hat sich eine prophylaktische Stent-Einlage in den Pankreasgang bewährt und konnte die Inzidenz der Post-ERCP-Pankreatitis deutlich senken (Afghani, Akshintala et al. 2014). Der optimale Zeitpunkt der Stent-Einlage, die Stent-Größe und die Therapiedauer sind jedoch noch Gegenstand aktueller Diskussionen (Shi, Ning et al. 2014).

## **1.2. Komplikationen der Stent-Therapie**

Die Pankreas-Stent-Therapie birgt neben interventionsspezifischen Risiken des Eingriffes auch Komplikationen, die sich erst im Verlauf der Therapie durch die Anwesenheit des Stents entwickeln (Johanson, Schmalz et al. 1992, Ikenberry, Sherman et al. 1994, Sherman, Hawes et al. 1996). Im Folgenden wird auf die typischen Früh- und Spät komplikationen eingegangen, die besonders häufig beobachtet werden und eine Limitation der Therapie darstellen können.

### **1.2.1. Frühkomplikationen**

Als Frühkomplikationen im Rahmen einer Pankreas-Stent-Therapie gelten Beschwerden, die unmittelbar während oder nach der ERCP Intervention auftreten. Diese lassen sich vor allem auf das interventionsspezifische Risiko des Eingriffes zurückführen. Hierzu zählen unter anderem die akute Pankreatitis, Blutung, Cholangitis, Cholezystitis, Perforation und der Tod des Patienten (Wang, Li et al. 2009). Die Komplikationsrate liegt im Schnitt zwischen 5 % und 10 % (Freeman 2002). Trotz alledem gilt die ERCP als sichere Methode in Bezug auf den therapeutischen Nutzen (Kostrzewska, Baniukiewicz et al. 2011).

### **1.2.2. Spät komplikationen**

Zu den Spät komplikationen zählen Beschwerden, die in Zusammenhang mit der Stent-Einlage stehen. Hierzu zählen vor allem die regelmäßig beobachtete Stent-Okklusion und eine damit verbundene Stent-Dysfunktion, die stentinduzierten Pankreasgangveränderungen und die Stent-Migration.

Die Stent-Okklusion ist ein häufig beobachtetes Phänomen, ungefähr 50 % aller Stents sind nach sechs Wochen bereits okkludiert (Ikenberry, Sherman et al. 1994). Nach drei Monaten zeigen nahezu alle Stents einen Verschluss auf (Farnbacher, Radespiel-Troger et al. 2006). Die Ursache der Stent-Okklusion scheint multifaktoriell bedingt zu sein. Bakterien, Enzyme, Proteine, Kohlenhydrate und Calciumkarbonatpräzipitate sammeln sich im Inneren des Stents an und verschließen ihn (Provansal-Cheylan, Bernard et al. 1989, Farnbacher, Voll et al. 2005). Vor allem die Anwesenheit von Bakterien und deren Fähigkeit einen widerstandsfähigen Biofilm zu produzieren, scheint einen wichtigen Einfluss auf die Stent-Okklusion zu haben (Guaglianone, Cardines et al. 2010). Der Biofilm der Bakterien schützt sie vor Umwelteinflüssen und beschleunigt durch die enthaltenen Enzyme eine Anlagerung von organischen und anorganischen Stoffen (Speer, Cotton et al. 1988, Hall-Stoodley and Stoodley 2009).

Weitere Risikofaktoren, die einen Verschluss beschleunigen, konnten identifiziert werden. Hierzu zählt unter anderem eine Stent-Länge größer 8 cm oder eine exokrine Pankreasinsuffizienz (Farnbacher, Radespiel-Troger et al. 2006). Um ein Wiederauftreten von Beschwerden durch den Stent-Verschluss zu vermeiden, empfehlen viele Autoren einen regelmäßigen Stent-Wechsel (Farnbacher, Berner et al. 2011). Obwohl nahezu alle Stents nach mehreren Monaten verschlossen sind, zeigen jedoch nur wenige Patienten wiederkehrende Beschwerden, die in Zusammenhang mit einer Stent-Okklusion stehen könnten (Smits, Badiga et al. 1995, Morgan, Smith et al. 2003).

Die Stent-Therapie kann zu morphologischen Veränderungen des Pankreasgangs und Pankreasparenchyms führen (Sherman, Hawes et al. 1996). Die Veränderungen entsprechen dabei häufig denen, die auch bei Patienten mit einer chronischen Pankreatitis beobachtet werden, wie zum Beispiel Gangerweiterungen oder Verengungen (Kozarek 1990). Die Inzidenz scheint mit dem Stent-Durchmesser zu korrelieren. Kleinere Stents (3 Fr bis 4 Fr) führen seltener zu Veränderungen als größere Stents (5 Fr bis 6 Fr) (Rashdan, Fogel et al. 2004). In circa zwei Dritteln der Fälle sind die Veränderungen jedoch reversibel (Smits, Badiga et al. 1995). Häufig bleiben sie asymptomatisch, können aber auch zu schweren, anhaltenden Schäden am Pankreas führen, die ebenfalls therapeutische Interventionen notwendig machen (Alvarez, Robert et al. 1994, Bakman, Safdar et al. 2009).

Die Stent-Migration ist eine häufig beobachtete Komplikation, bei der ca. 5 % der Stents nach distal und ca. 8 % nach proximal in den Pankreasgang dislozieren (Johanson, Schmalz et al. 1992). Eine distale Migration ist selten mit Komplikationen verbunden, da die Stents spontan über den Gastrointestinaltrakt ausgeschieden werden oder endoskopisch aus dem Duodenum geborgen werden können. Proximal dislozierte Stents zu bergen ist schwieriger. Zum einen kann die Bergung durch den geringen Pankreasgangdurchmesser erschwert sein, zum anderen kann ein abknickender Verlauf des Gangs oder Stenosen bzw. Steine distal des dislozierten Stents eine Bergung deutlich erschweren (Matsumoto, Katanuma et al. 2014). Die endoskopische Bergungsquote der nach innen dislozierten Stents liegt bei 80 %, bei den restlichen 20 % kann eine chirurgische Intervention notwendig werden (Lahoti, Catalano et al. 1998). Nicht geborgene Stents können Infektionen, Perforationen, Gangveränderungen und Blutungen begünstigen, sodass eine Bergung angestrebt werden sollte (Bhandari, Sharma et al. 2016).

### **1.3. Mikrobielles Milieu im Bereich des Pankreas**

Bei der Frage der mikrobiellen Besiedlung von Pankreas-Stents sind vor allem die den Pankreas umgebenden Organe besonders interessant, die für ihre natürliche, hohe mikrobielle Kolonisation bekannt sind. Hierzu zählen unter anderem die Abschnitte des oberen Gastrointestinaltrakts Magen, Duodenum und Jejunum. Im Folgenden wird auf die natürliche Flora dieser Kompartimente und auf den anatomischen Bezug von Pankreas und Gastrointestinaltrakt, sowie auf natürliche Schutzmechanismen des Pankreas gegenüber einer mikrobiellen Besiedlung eingegangen.

#### **1.3.1. Bakterien des oberen Gastrointestinaltrakts**

Der Gastrointestinaltrakt des Menschen ist mit einer Vielzahl an Mikroorganismen besiedelt (Baba, Samson et al. 2008). Die Besiedlung ist einem fortlaufenden Wandel unterworfen. So zeigen sich unterschiedliche Besiedlungsmuster und dominante Arten in Abhängigkeit des Alters, der Ernährung und des Lebensraums (Caspar, Kist et al. 2006, Hollister, Riehle et al. 2015, Heiman and Greenway 2016). Außerdem können Erkrankungen die Darmflora verändern oder umgekehrt durch eine veränderte Darmflora Erkrankungen ausgelöst werden (Kushak, Winter et al. 2016, Rogers, Narkewicz et al. 2016). Ebenso scheint die Einnahme von Medikamenten, wie zum Beispiel Antibiotika oder Protonenpumpeninhibitoren einen großen Einfluss zu haben (Dial 2009, Jandhyala, Talukdar et al. 2015). Allgemeingültige Aussagen zur mikrobiellen Besiedlung des Gastrointestinaltrakts sind daher schwierig zu treffen (Ye, Shen et al. 2016).

Bekannt ist jedoch, dass die beiden Stämme Firmicutes und Bacteroides in der Regel den größten Anteil an Bakterien im gesamten Gastrointestinaltrakt ausmachen. Ihre Anteile an allen Darmkeimen liegen zwischen 60 % bis 80 % bzw. zwischen 15 % bis 30 % (Ringel-Kulka, Cheng et al. 2013). Die Anzahl und Vielfalt an Mikroorganismen ist in den einzelnen Darmabschnitten sehr unterschiedlich. So finden sich in der Regel nur 10 Bakterienkulturen pro Gramm im Magen, jedoch bis zu  $10^{12}$  Kulturen im Kolon (O'Hara and Shanahan 2006). Ursächlich hierfür sind unter anderem die unterschiedlichen Lebensbedingungen in den einzelnen Abschnitten des Gastrointestinaltrakts.



Die mikrobielle Besiedlung des Magens und des Duodenums sind vor allem durch die Anwesenheit von Magensaft, Pankreassekret und Gallensäure gekennzeichnet (O'Hara and Shanahan 2006). Lange Zeit galt der Magen als steriles Organ, da der Magensaft mit den enthaltenden Enzymen und dem niedrigen pH-Wert eine natürliche Barriere gegen Mikroorganismen darstellt (Martinsen, Bergh et al. 2005). Seit der Entdeckung des Bakterium *Helicobacter pylori*, das oft auch den größten Anteil der Mikroorganismen im Magen ausmacht, sind weitere Arten identifiziert worden (Yang, Nell et al. 2013). Hierzu zählen Bakterien der Stämme Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes und Fusobacteria sowie in vermehrter Anzahl die Gattungen *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Veillonella* und *Prevotella* (Bik, Eckburg et al. 2006, Dicksved, Lindberg et al. 2009).

Über die mikrobielle Besiedlung des Duodenums ist bisher nur wenig bekannt, da sich die Probengewinnung als deutlich schwieriger erweist als im restlichen Gastrointestinaltrakt (Wang and Yang 2013). Vor allem Proteobacteria machen hier mit fast 40 % den größten Anteil aus, wobei die Gruppen *Acinetobacter* und *Prevotella* dominant zu sein scheinen (Li, Yang et al. 2015). Die Besiedlung, beziehungsweise die Fehlbesiedlung des Duodenums scheint einen engen Zusammenhang mit der Entwicklung von Krankheiten wie zum Beispiel Autismus, Zöliakie oder dem Dünndarmfehlbesiedlungssyndrom zu zeigen (Erdogan, Rao et al. 2015, Caminero, Galipeau et al. 2016, Kushak, Winter et al. 2016).

Der an das Duodenum sich anschließende proximale Teil des Jejunums ist vor allem mit den Mikroorganismen *Streptococcus* (insbesondere der Viridansgruppe), *Veillonella parvula*, *Actinomyces*, *Haemophilus*, *Corynebacterium* und *Candida albicans* besiedelt (Justesen, Nielsen et al. 1984).

### **1.3.2. Mikrobielle Abwehrmechanismen des Pankreas**

Das Pankreas liegt sekundär retroperitoneal im Oberbauch (Hollender and Bahnini 1988). Über seinen Ausführungsgang, den Ductus pancreaticus, besteht eine direkte Verbindung zum Gastrointestinaltrakt. Dieser zieht vom Schwanz durch den Corpus und den Kopf des Pankreas bis ins Duodenum. Dort mündet er gemeinsam mit dem

Ductus choleduchus in einer Schleimhautfalte, der Papilla Vateri, in den Gastrointestinaltrakt ein (Sobotta 1916).

Das Pankreas und der Pankreasgang sind physiologisch steril (Gregg 1977). Hauptsächlich sind hierfür folgende zwei Mechanismen verantwortlich.

Die Papilla Vateri wird aus Binde- und Muskelgewebe gebildet. Der muskuläre Anteil, der vom Musculus Sphinkter Oddi gebildet wird, umschließt den Ausgang des Pankreasgangs ringförmig. Hierüber kann das Gangsystem verschlossen, oder bei Bedarf Pankreassekret in das Duodenum abgegeben, werden (Tanaka 2010). Der Reflux von Duodenalsekret und eine Kontamination mit Mikroorganismen soll durch diesen Verschlussmechanismus verhindert werden (Woods, Mawe et al. 2005).

Einen weiteren Schutzmechanismus stellt das Pankreassekret dar. Es enthält viele verschiedene Verdauungsenzyme und wirkt antibakteriell (Minelli, Benini et al. 1996, Del Piano, Strozzi et al. 2008). Bei bestimmten Erkrankungen, wie zum Beispiel einer chronischen Pankreatitis, scheint diese Schutzfunktion jedoch herabgesetzt zu sein (Marotta, Tajiri et al. 1997).

## 2. Zielsetzung

Ziel dieser prospektiven Studie war es, die mikrobielle Besiedlung von Pankreas-Stents in Abhängigkeit der in-vivo Liegedauer zu untersuchen.

Welche Mikroorganismen die Stents besiedeln können und in welchem Ausmaß dies geschieht, ist bisher nur wenig erforscht. Vor allem Daten zur mikrobiellen Besiedlung bei Pankreas-Stents mit einer mehrwöchigen Liegedauer liegen nur wenige vor.

Eine mikrobielle Kolonisation im Inneren von Stents kann möglicherweise Komplikationen wie zum Beispiel eine Stent-Okklusion oder eine Infektion begünstigen. Da eine genaue Kenntnis des mikrobiellen Milieus und mögliche Veränderungen der Keimzusammensetzung bei unterschiedlicher Therapiedauer zu einem besseren Verständnis der Relevanz dieser Besiedlung beitragen kann, ist die vorliegende prospektive Arbeit diesem Thema gewidmet.

Es wurden 40 Pankreas-Stents mit einer Liegedauer von wenigen Tagen bis mehreren Wochen untersucht. Dabei wurden die Art, die Anzahl und die Nachweishäufigkeit von Mikroorganismen bestimmt. Die Auswertung erfolgte abhängig von der Liegedauer durch die Zuordnung der Stents in drei verschiedene Gruppen (Gesamtkollektiv, Gruppe der *kurzen Liegedauer*, Gruppe der *langen Liegedauer*).

Zur mikrobiologischen Untersuchung wurde ein Verfahren verwendet, das durch spezielle labortechnische Vorbereitungsschritte bei der Stent-Analyse eine möglichst hohe Nachweisquote und genaue Artenidentifikation gewährleisten sollte. Das Besondere an dieser Studie war die hohe Anzahl an Stents mit einer mehrwöchigen Liegedauer und das mikrobiologische Analyseverfahren.

## **3. Material und Methodik**

### **3.1. Studienmodell**

Die vorliegende prospektive Studie wurde an der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin II des Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München in Zusammenarbeit mit dem Institut für Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene der Technischen Universität München durchgeführt.

Über einen Zeitraum von 13 Monaten, der zwischen November 2012 und Dezember 2013 lag, wurden 40 Pankreas-Stents mikrobiologisch untersucht, die zur Prophylaxe oder Therapie von Erkrankungen des Pankreas verwendet worden sind.

Durch die tägliche Auswertung des Therapiemanagementsystems der Klinik (SAP Healthcare, Deutschland) wurden jene Patienten eingeschlossen, für die eine elektive oder notfallmäßige Bergung des Pankreas-Stents bevorstand. Bei Einwilligung zur Studienteilnahme begann nach der endoskopischen Extraktion des Stents noch am gleichen Tag die mikrobiologische Analyse.

### **3.2. Studieneinschluss**

Eine Studienteilnahme fand erst nach ausführlicher Aufklärung des Probanden statt. Diese umfasste die Erläuterung des Studienprotokolls, den Nutzen und die Risiken der Studie sowie datenschutzrechtliche Aspekte. Die Teilnahme hatte keinen Einfluss auf die Behandlung oder den Behandlungsverlauf des Probanden. Die Stent-Extraktion erfolgte ausschließlich auf Grundlage der Entscheidung des behandelnden Arztes, unabhängig von einer Studienteilnahme. Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung hatten zudem keinen Einfluss auf die weitere Behandlung des Patienten. Alle Daten wurden anonymisiert erhoben, sodass keine Rückschlüsse von etwaigen Studienergebnissen auf den einzelnen Probanden möglich waren. Die Einwilligung erfolgte schriftlich. Alle Patienten die im Rahmen der Studie während ihres Krankenhausaufenthalts kontaktiert worden sind, stimmten der Teilnahme zu. Die Aufklärung und die Einwilligung erfolgte mindestens einen Tag vor der geplanten Extraktion des Pankreas-Stents, sodass stets ausreichend Bedenkzeit für die Studienteilnahme bestand.

Folgende Ein- und Ausschlusskriterien wurden im Vorfeld definiert:

**Einschlusskriterien:**

- Pankreas-Stent-Therapie begonnen am Klinikum rechts der Isar
- Alter mindestens 18 Jahre
- Therapie mit einem Polyethylen-Stent

**Ausschlusskriterien:**

- Ablehnung der Studienteilnahme durch den Probanden
- Therapiebeginn nicht sicher feststellbar
- Stent-Typ unbekannt
- Radiologisch bereits dislozierter Stent
- Liegender Metallstent

### 3.3. Datenerhebung

#### 3.3.1. Basisdaten

Im Rahmen des Studieneinschlusses wurden folgende Daten im Interview, aus Arztbriefen und dem Therapiemanagementsystem (SAP Healthcare, Deutschland) der Klinik erhoben:

- Alter, Geschlecht
- Indikation der Pankreas-Stent-Einlage
- Zeitpunkt der Pankreas-Stent-Einlage
- Art, Länge und Durchmesser des Pankreas-Stents

#### 3.3.2. Patientenkollektiv

An der Studie nahmen zwischen November 2012 und Dezember 2013 insgesamt 25 Patienten teil, 12 (48 %) männliche und 13 (52 %) weibliche. Das Mindestalter für die Studienteilnahme betrug 18 Jahre, dabei war der jüngste Teilnehmer 22 Jahre und der älteste Teilnehmer 91 Jahre alt. Das Alter der Probandengruppe betrug im Median 63 Jahre.

In *Tabelle 1* werden die Basisdaten der Studienteilnehmer zusammengefasst.

Studienteilnehmer	Anzahl (%)	
Gesamt	25	(100 %)
männliche Teilnehmer	12	(48 %)
weibliche Teilnehmer	13	(52 %)
	Medianes Alter (Spanne) in Jahren	
Alter der Studienteilnehmer	63	(22 – 91)

**Tabelle 1: Alter und Geschlechterverteilung der Studienteilnehmer**

Sieben verschiedene Indikationen lagen der Stent-Therapie der Studienteilnehmer zugrunde. Die häufigste Ätiologie der Therapie waren Beschwerden im Rahmen einer chronischen Pankreatitis, die bei insgesamt 14 (56 %) Teilnehmern vorlagen. Vier (16 %) Patienten litten an Gallengangsstrikturen, ausgelöst durch einen Pankreastumor, und drei (12 %) an einer biliären Pankreatitis. Jeweils ein (4 %) Patient

litt an einem Adenom der Papilla Vateri, an einer Pankreasgangstriktur nach einem abdominellen Trauma, an einer Anastomosenstriktur nach Lebertransplantation und an Gallengangsteinen, die eine Pankreas-Stent-Einlage notwendig machten. *Tabelle 2* fasst die verschiedenen Ätiologien und die jeweilige Anzahl daran erkrankter Patienten zusammen.

Ätiologie	Anzahl (%)	
Chronische Pankreatitis	14	(56 %)
Biliäre Striktur bei Pankreaskarzinom	4	(16 %)
Biliäre Pankreatitis	3	(12 %)
Adenom der Papilla Vateri	1	(4 %)
Pankreasgangstriktur nach abdominellen Trauma	1	(4 %)
Anastomosenstriktur nach Lebertransplantation	1	(4 %)
Gallengangsteine	1	(4 %)

**Tabelle 2: Ätiologie der Pankreas-Stent-Therapie**

### 3.3.3. Pankreas-Stents

In die Studie wurden ausschließlich Stents der Firma Peter Pflugbeil GmbH (Deutschland) oder der Firma Cook Incorporation (Irland) eingeschlossen. Es wurden ausnahmslos Polyethylen-Stents untersucht, um eine möglichst gleichbleibende Oberflächenbeschaffenheit im Inneren der Stents zu gewährleisten. Metallstents wurde in der vorliegenden Studie nicht berücksichtigt. Die Länge der Stents betrug im Median 8 cm (6 cm bis 14 cm), bei einem medianen Durchmesser von 7 Fr (5 Fr bis 10 Fr). Die Stents hatten eine intraduktale Verweildauer von 3 bis 93 Tagen bevor sie geborgen und untersucht wurden. Die mediane Liegedauer betrug 50,5 Tage. Insgesamt wurden 40 Pankreas-Stents im Rahmen der ERCP geborgen und zur Untersuchung in die Studie eingeschlossen.

Stent-Eigenschaften	Median	(Spanne)
Durchmesser	7 Fr	(5 Fr bis 10 Fr)
Länge	8 cm	(6 cm bis 14 cm)
Liegedauer	50,5 Tage	(3 Tage bis 93 Tage)

**Tabelle 3: Stent-Eigenschaften**

### **3.4. Endoskopische Intervention**

Am Tag nach dem Studieneinschluss fand in der Regel die endoskopische Bergung des Pankreas-Stents an der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin II des Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München statt. Alle Patienten die an der Studie teilnahmen, hatten ihre Pankreas-Stent-Therapie ebenfalls in dieser Klinik begonnen. Die Stent-Bergung konnte durchgeführt werden, wenn die Therapie beendet werden sollte oder wenn ein elektiver oder notfallmäßiger Prothesenwechsel (meist aufgrund einer vermuteten Stent-Okklusion) bevorstand. Die endoskopischen Interventionen wurden von verschiedenen Interventionalisten der Klinik durchgeführt, jedoch erfolgten diese nach einem standardisierten Vorgehen. Im Folgenden wird das Vorgehen der Interventionalisten bei der endoskopischen Stent-Einlage sowie der Stent-Bergung beschrieben.

#### **3.4.1. Pankreas-Stent-Einlage**

Die Patienten wurden zu Beginn der Untersuchung meist auf dem Bauch oder in Linksseitenlage gelagert. Eine Analgosedierung mit Propofol und Midazolam fand immer statt. Als Endoskop wurde ein Standardvideoendoskop TJF-160VR der Firma Olympus (Olympus Corporation, Deutschland) verwendet. Nach Eintreten einer ausreichenden Narkosetiefe erfolgte das Vorspiegeln mit dem Endoskop bis ins Duodenum. Die Papilla Vateri wurde mit der Seitblickoptik dargestellt. Anschließend folgte standardmäßig die Durchführung einer Papillotomie, um unter anderem einen besseren Zugang zum Pankreasgang zu erhalten. Nur in seltenen Fällen wurde hierauf verzichtet. Für die Papillotomie wurde ein Papilltom der Firma Olympus (Olympus Corporation, Deutschland) verwendet. Über einen flexiblen Terumodraht (Terumo Corporation, Tokyo, Japan) wurde der Pankreasgang zunächst sondiert. Anschließend fand die Papillotomie des Sphinkter Oddi statt und ermöglichte nun dem Interventionalisten weitere Untersuchungsapparaturen in den Pankreasgang einzuführen.

Zur Darstellung von gangmorphologischen Veränderungen wie, zum Beispiel Strikturen, Stenosen oder Steine, erfolgte als nächstes die Injektion von Kontrastmittel



über das Papillotom oder einen ERCP-Katheter in den Pankreasgang. Eine nativradiologische Durchleuchtung konnte im Anschluss den Pankreasgang darstellen.

Bei der Darstellung von Stenosen erfolgte die Sondierung der Engstelle zunächst mit einem Führungsdraht, anschließend die vorsichtige Dilatation mit einem Bougie oder einem Ballondilatator. Zur Sicherung der Dilatation wurde, je nach gangmorphologischer Gegebenheit und Dilatationsergebnis, ein 5 Fr bis 10 Fr Polyethylen-Stent eingelegt.

Bei der Darstellung von Steinen wurden diese entweder direkt mit einem Dormiakorb oder mit einem Ballonkatheter geborgen, oder bei großem Kaliber zunächst mittels extrakorporale Stoßwellenlithotripsie (Lithstar U, Siemens AG, Deutschland) zerkleinert. Selten waren mehrere ESWL Sitzungen nötig. Um ein ungehindertes Abfließen des Pankreassekrets im Anschluss an die Steinbergung zu gewährleisten, erfolgte auch hier eine Stent-Einlage. Die Stent-Kaliber lagen in diesem Fall ebenfalls zwischen 5 Fr und 10 Fr.

Erfolgte eine prophylaktische Stent-Einlage zum Beispiel um das Risiko einer Post-ERCP-Pankreatitis zu senken, wurde standardmäßig ein 5 Fr Stent verwendet.

Alle Stents wurden transpapillär eingelegt. Dies bedeutet, dass der proximale Teil des Stents im Pankreasgang lag und der distale Teil über die Papilla Vateri hinaus wenige Zentimeter in das Lumen des Duodenums hineinragte.

### **3.4.2. Pankreas-Stent-Bergung**

Das initiale Vorgehen erfolgte zunächst analog zur Pankreas-Stent-Einlage. Nach Vorspiegeln bis ins Duodenum erschien der Stent, mit seinem distalen Anteil in das Darmlumen hineinragend, in der Seitblickoptik. Über den Arbeitskanal des Endoskops wurde eine sterile Faszange bis ins Duodenum eingeführt. Das Ende des Pankreas-Stents wurde mit der Zangenspitze gefasst und durch ein sanftes Ziehen und Drehen des Endoskops aus der Papille gelöst. Durch den Arbeitskanal des Videoendoskops konnten Stents mit einem Durchmesser bis 7 Fr mit der Greifzange geborgen werden. Größere Kaliber wurden nach Erfassen mit der Zange zusammen mit dem Endoskop extrahiert. Hierbei erfolgte die Passage durch das Duodenum, den Magen, die Speiseröhre und den Mund-Rachenraum ohne Schutz vor weiterer Kontamination. Die

Stents wurden mit sterilen Kompressen bedeckt und in autoklavierte Transportboxen gelegt. An dieser Stelle konnte die Stent-Therapie beendet oder bei bestehender Indikation weiter fortgesetzt werden. Eine Fortführung konnte in der gleichen ERCP Sitzung durch eine erneute Stent-Einlage erfolgen.

Selten waren Stents bei der Bergung bereits spontan aus dem Pankreasgang disloziert und befanden sich vollständig außerhalb der Papille im Duodenum. Da in diesem Fall die tatsächliche intraduktale Liegedauer nicht sicher eruiert werden konnte und eine mögliche Kontamination mit weiteren Darmkeimen gegeben war, wurden diese Stents nicht in der Studie berücksichtigt.

### **3.5. Mikrobiologische Analyse**

Extrahierte Pankreasgang-Stents wurden unmittelbar nach ihrer Bergung in das nur wenige Minuten entfernte Institut für Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene der Technische Universität München transportiert. Hier begann direkt im Anschluss die mikrobiologische Analyse, die sich aus den drei Arbeitsprozessen Stent-Aufbereitung, Inkubation und Keimanalyse zusammensetzte.

#### **3.5.1. Stent-Aufbereitung**

Das bakterielle Milieu sollte möglichst wenig extrakorporalen Einflüssen ausgesetzt werden, sodass in der Regel die mikrobiologische Analyse innerhalb von 5 Minuten nach Stent-Extraktion begann. Alle Arbeitsschritte wurden unter Berücksichtigung steriler Kautelen durchgeführt. Dies beinhaltete neben einer sauberen labortechnischen Arbeit auch die Verwendung steriler Instrumente, Behälter und Reagenzgläser.

Nicht alle Stents die in dieser Studie untersucht wurden, konnten durch den Arbeitskanal des Endoskops geborgen werden. Durch die folgende spezielle Präparation der Stents sollte eine mögliche Kontamination, durch den vorausgegangen endoskopischen Bergprozess, reduziert und die mikrobielle Nachweisgenauigkeit erhöht werden.

Es wurden zunächst jeweils 1,5 cm des proximalen und distalen Endes des Stents entfernt und anschließend die äußere Oberfläche mit Ethanol (70 %) gereinigt. Eine mögliche mikrobielle Kontamination im Rahmen des Bergprozesses sollte hierdurch reduziert werden.

Das innere Lumen war bei allen Stents mit Sekret gefüllt. Das Sekret diente als Ausgangsmaterial der mikrobiellen Untersuchungen. Um es zu gewinnen wurde der Stent mit einem Skalpell in Längsrichtung eröffnet.

Der Stent wurde anschließend in einen sterilen Behälter (Lock&Lock®, Bandelin, Deutschland) gelegt und mit 60 ml Ringerlösung bedeckt. Der Behälter mit dem Stent wurde den folgenden drei Arbeitsschritten unterzogen.

1. 30 Sekunden Vortex-Mischung (Reagenzglas Schüttler)

2. 60 Sekunden Ultraschallbad (BatcoSonic®, Bandelin, Deutschland) bei 40 kHz
3. 30 Sekunden Vortex-Mischung

Die nun entstandene Suspension aus Ringerlösung und Stent-Sekret wurde abpipettiert, 20 ml wurden in ein Reagenzglas gegeben und der Rest verworfen. Bei 3000 G wurde die Suspension 10 Minuten lang zentrifugiert. Dabei setzte sich ein Sediment am Boden des Reagenzglases ab. Der Überstand wurde verworfen und das Sediment zur weiteren Untersuchung verwendet.

### **3.5.2. Inkubation**

Es wurden die folgenden Nährböden (BD Diagnostics, Deutschland) zur Beimpfung mit dem gewonnenen Sediment und der anschließenden Kultivierung verwendet:

- Columbia-Agar mit 5 % Schafblut
- Kochblutagar
- McConkey Agar
- Schaedler Agar, anaerob
- Schaelder KV Agar, anaerob
- Sabouraud Agar

Alle Nährböden wurden unter aeroben sowie anaeroben Bedingungen bei 37 °C für 48 Stunden inkubiert.

### **3.5.3. Analyseverfahren**

Die Analyse der Mikroorganismen fand mittels MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation - time of flight, Bruker Corporation, Billerica, U.S.A.) und MALDI Biotyper (Bruker Corporation, Billerica, USA) statt. Diese Analyseverfahren erfolgten nach folgendem Prinzip:

Zunächst wurden die Mikroorganismen zusammen mit einer Matrixlösung auf eine spezielle Probenplatte pipettiert. Die Probe wurde anschließend mit einem Laserstrahl beschossen und verdampft, wobei die Proteine der Mikroorganismen in einen

ionisierten Zustand überführt wurden. Unter Anlegung einer elektrischen Spannung wurden die Proteine beschleunigt und ihre Flugzeiten im Vakuum gemessen (MALDI-TOF). Anhand der gemessenen Zeiten ergaben sich für unterschiedliche Mikroorganismen unterschiedliche Verteilungsmuster von Proteinflugzeiten, die mit großen Datenbanken abgeglichen wurden (MALDI Biotyper). Dieser Datenbankabgleich ermöglichte die spezifische Identifizierung der Mikroorganismen aufgrund ihres typischen Verteilungsmusters (Wieser, Schneider et al. 2012).

## **3.6. Auswertung**

### **3.6.1. Datenbank**

Als Datenbank wurde eine Microsoft Excel Tabelle (Microsoft Office 2007, Microsoft Corporation, Redmond, USA) verwendet. Alle Daten wurden anonymisiert erfasst und in numerische Datensätze überführt, um eine sorgfältige Auswertung zu gewährleisten. In die Datenbank wurden alle bereits ermittelten Daten über die Patienten, ihrer Therapie und den Stent-Eigenschaften (Länge, Durchmesser, Typ) eingearbeitet. Nach Abschluss der mikrobiologischen Analyse mit dem MALDI-TOF und dem MALDI Biotyper wurden die Ergebnisse der mikrobiologischen Analyse ebenfalls ergänzt.

### **3.6.2. Auswertungsgruppen**

Es wurde die mikrobiologische Besiedelung der untersuchten Stents nach Art, Anzahl und Nachweishäufigkeit der ermittelten Mikroorganismen erfasst. Zur Auswertung in Abhängigkeit der Liegedauer der Stents wurden drei Gruppen gebildet:

Die erste Auswertungsgruppe umfasste alle Stents ( $n_{\text{Stents}} = 40$ ) unabhängig ihrer intraduktalen Liegedauer und bildete das gesamte nachgewiesene Keimspektrum ab.

Die zweite Gruppe umfasste Stents mit einer Liegedauer von 3 bis 13 Tagen und wurde als Gruppe der „kurzen Liegedauer“ (*KL*) bezeichnet.

Der dritten Gruppe wurden Stents mit einer Liegedauer von 29 bis 93 Tagen zugeordnet und erhielt die Bezeichnung „lange Liegedauer“ (*LL*) Gruppe.

Die Gruppe *KL* umfasste 11 Stents, die Gruppe *LL* umfasste 29 Stents.

### 3.6.3. Gliederung der Mikroorganismen

Zur besseren Übersicht wurden Mikroorganismen nach dem folgenden Schema sortiert und miteinander verglichen:

- Aerobe Mikroorganismen
  - Aerobe grampositive Bakterien
    - Familie oder Gattung
      - ggf. Gattung bzw. Art
  - Aerobe gramnegative Bakterien
    - Familie oder Gattung
      - ggf. Gattung bzw. Art
- Anaerobe Mikroorganismen
  - Anaerobe Bakterien
    - Familie oder Gattung
      - ggf. Gattung bzw. Art
  - Pilze
    - Familie oder Gattung
      - ggf. Gattung bzw. Art

Diese Gliederung orientierte sich zunächst am Stoffwechselverhalten der Mikroorganismen. Zur besseren Übersicht, aufgrund der großen Anzahl an aeroben Keimen, erfolgt anschließend in dieser Kategorie die Einteilung nach ihrem Gramverhalten. Da deutlich weniger anaerobe Keime nachgewiesen wurden, erfolgte hier keine weitere Einteilung in grampositive oder gramnegative, sondern lediglich die Einteilung in anaerobe Bakterien und Pilze. Innerhalb der einzelnen Gruppen wurden die Mikroorganismen ihren übergeordneten Familien oder Gattungen, abhängig ihrer Häufigkeit, zugeordnet. Bei geringer Anzahl wurden Bakterien aufgrund ihrer Gattung einer Familie zugeordnet. Bei großem Vorkommen einzelner Arten erfolgte die Ausweisung entsprechend ihrer jeweiligen Gattung. Mikroorganismen die nur sehr selten nachgewiesen werden konnten, wurden unter der Kategorie „Andere“ zusammengefasst.

#### 3.6.4. Statistische Methode

Die statistische Auswertung erfolgte mit IBM SPSS Statistics® (Version 22.0, IBM). Es wurde die Anzahl und die prozentuale Häufigkeit der einzelnen Mikroorganismen erfasst, sowie ihr Verteilungsmuster innerhalb der im vorherigen Kapitel beschriebenen Gruppen.

Da häufig ein Stent jeweils mit mehreren Mikroorganismen besiedelt war, wurde außerdem die mediane Anzahl der Keime pro Stent in allen drei Gruppen berechnet.

Darüber hinaus wurde bestimmt, wie viele Stents mit welchen Mikroorganismengruppen besiedelt waren, um eine Aussage zum typischen Besiedlungsmuster der Stents treffen zu können.

Die Gruppen *KL* und *LL* wurden hinsichtlich der Häufigkeit der Stent-Besiedlung mit bestimmten Mikroorganismen miteinander verglichen. Hierzu wurden mit dem *Chi-Quadrat-Test nach Pearson* und dem *Exakten Test nach Fisher* p-Werte ermittelt, um signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zu identifizieren. Es galt ein zweiseitiges 5% Signifikanzniveau ( $p < 0,05 = \text{signifikant}$ ).



## 4. Ergebnisse

### 4.1. Gesamtanzahl der Mikroorganismen und Anzahl der besiedelten Stents

Es wurden 40 Pankreas-Stents (100 %) mikrobiologisch untersucht. 39 Stents (97,5 %) waren mit mindestens einem Mikroorganismus besiedelt. Lediglich ein Stent, der auch die kürzeste Liegezeit hatte (3 Tage), wies keine Kolonisation auf. In Summe wurden 246 Mikroorganismenkulturen auf den untersuchten Stents nachgewiesen. Im Median war ein Stent mit je 3,5 verschiedenen Mikroorganismen besiedelt, wobei die Anzahl unterschiedlicher Keime pro Stent zwischen null und maximal elf lag. Es wurden insgesamt 182 aerobe Bakterienkulturen, 40 anaerobe Bakterienkulturen und 24 Pilzkulturen im Inneren der untersuchten Stents nachgewiesen. Dies entspricht jeweils einem Anteil von 74 %, 16 % und 10 %. Der Anteil der grampositiven und gramnegativen Bakterien unter allen Keimen betrug 43 % bzw. 31 %.

Unter Berücksichtigung der Anzahl der Stents auf denen die Mikroorganismen nachgewiesen wurden, ergab sich folgendes Bild: 38 Stents (95 %) wiesen eine Besiedlung mit aeroben, grampositiven Bakterien auf, 32 Stents (80 %) mit aeroben, gramnegativen Bakterien, 23 Stents (58 %) mit Pilzen und 22 Stents (55 %) mit anaeroben Bakterien. Eine Darstellung der Daten findet sich in *Tabelle 4*.

Mengen und Prozentangaben in den folgenden Kapiteln (4.1. - 4.1.4.) beziehen sich immer auf die Gesamtmenge ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=246$ ) der nachgewiesenen Mikroorganismen oder der untersuchten Stents ( $n_{\text{Stents}}=40$ ).

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%)	
	Mikroorganismen	Stents
	246 (100 %)	40 (100 %)
Aerobe, grampositive Bakterien	106 (43 %)	38 (95 %)
Aerobe, gramnegative Bakterien	76 (31 %)	32 (80 %)
Anaerobe Bakterien	40 (16 %)	22 (55 %)
Pilze	24 (10 %)	23 (58 %)

**Tabelle 4: Gesamtanzahl Mikroorganismen und Anzahl besiedelter Stents**

#### 4.1.1. Aerobe, grampositive Bakterien

Die größte Gattung der aeroben, grampositiven Bakterien waren Streptokokken ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=46$ ; 19 %), gefolgt von Enterokokken ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=27$ ; 11 %) und Staphylokokken ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=10$ ; 4 %). Andere seltene grampositive Bakterien hatten einen Anteil von 23 % ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=9$ ). Streptokokken wurden auf 27 Stents (68 %), Enterokokken auf 22 Stents (55 %) und Staphylokokken auf zehn Stents (25 %) nachgewiesen. Die häufigste Art der aeroben, grampositiven Bakterien war der *Streptococcus anginosus* ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=21$ ; 9 %), gefolgt vom *Enterococcus faecalis* ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=19$ ; 8 %), dem *Staphylococcus aureus* ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=6$ ; 2 %) und dem *Enterococcus faecium* ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=5$ ; 2 %). Weitere aerobe, grampositive Arten und deren Anzahl bzw. Häufigkeit sind in *Tabelle 5* zusammengefasst.

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%)		Anzahl (%)	
	Mikroorganismen		Stents	
	246	(100 %)	40	(100 %)
Aerobe grampositive Bakterien	106	(43 %)	38	(95 %)
Enterokokken	27	(11 %)	22	(55 %)
<i>Enterococcus faecium</i>	5	(2 %)	5	(18 %)
<i>Enterococcus faecalis</i>	19	(8 %)	19	(48 %)
Andere Enterokokkenarten	3	(1 %)	3	(8 %)
Streptokokken	46	(19 %)	27	(68 %)
Streptococcus viridans Gruppe	46	(19 %)	27	(68 %)
<i>Streptococcus anginosus</i>	21	(9 %)	21	(53 %)
Andere S. viridans Arten	25	(10 %)	17	(43 %)
Staphylokokken	10	(4 %)	10	(25 %)
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	(2 %)	6	(15 %)
Koagulase-negative Staphylokokken	4	(2 %)	4	(10 %)
Andere aerobe grampositive Bakterien	23	(9 %)	17	(43 %)

**Tabelle 5: Anzahl aerober, grampositiver Bakterien und Anzahl besiedelter Stents**

#### 4.1.2. Aerobe, gramnegative Bakterien

Die aeroben, gramnegativen Bakterien bildeten mit 31 % ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=76$ ) die zweitgrößte Gruppe der Mikroorganismen. Hier dominierte vor allem die Familie der Enterobacteriaceae mit 60 nachgewiesenen Keimkulturen und einem Anteil von 24 % am Gesamtspektrum. Die Familie der Enterobacteriaceae enthielt in absteigender Häufigkeit die Gattungen Klebsiella ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=19$ ; 8 %), Escherichia ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=16$ ; 7 %), Enterobacter ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=9$ ; 4 %), Citrobacter ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=7$ ; 3 %), Proteus ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=5$ ; 2 %), Serratia ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=1$ ; < 1%) und drei weitere seltene Gattungen (1 %). Insgesamt 32 Stents (80 %) waren mit mindestens einer aeroben, gramnegativen Bakterienart besiedelt. Bakterien der Familie der Enterobacteriaceae befanden sich dabei auf 28 Stents (70 %). Jeweils 16 Stents (40 %) waren mit Bakterien der Escherichia bzw. Klebsiella Gattung besiedelt. Enterobacter fanden sich auf neun Stents (23 %), Citrobacter auf sechs Stents (15 %), Proteus auf fünf Stents (13 %) und Serratia auf einem Stent (3 %). Pseudomonas wurde ebenfalls nur auf einem Stent nachgewiesen. 13 Stents waren darüber hinaus mit weiteren seltenen aeroben, gramnegativen Bakterien einmalig besiedelt (33 %). *Tabelle 6* stellt genannte und weitere aerobe, gramnegative Bakterien und ihr Verteilungsmuster innerhalb der untersuchten Stent-Gruppe dar.

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%)		Anzahl (%)	
	Mikroorganismen		Stents	
	246	(100 %)	40	(100 %)
Aerobe gramnegative Bakterien	76	(31 %)	32	(80 %)
Enterobacteriaceae	60	(24 %)	28	(70 %)
Escherichia	16	(7 %)	16	(40 %)
Klebsiella	19	(8 %)	16	(40 %)
Citrobacter	7	(3 %)	6	(15 %)
Proteus	5	(2 %)	5	(13 %)
Enterobacter	9	(4 %)	9	(23 %)
Serratia	1	(< 1 %)	1	(3 %)
Andere Enterobacteriaceae	3	(1 %)	3	(8 %)
Nichtfermentierende Bakterien	1	(< 1 %)	1	(3 %)
Pseudomonas	1	(< 1 %)	1	(3 %)
Andere, aerobe gramnegative Bakterien	15	(6 %)	13	(33 %)

**Tabelle 6: Anzahl aerober, gramnegativer Bakterien und Anzahl besiedelter Stents**

### 4.1.3. Anaerobe Bakterien

Die drittgrößte Gruppe bildeten anaerobe Bakterien. Hier fanden sich 40 Mikroorganismen die einen Anteil von 16 % an den 246 nachgewiesenen Keime hatten. Mit großem Abstand gegenüber anderen Anaerobiern wurden 25-mal Bakterien (10 %) der Prevotella Gattung identifiziert. Weitere fünfmal wurden die Gattungen Bacteroides (2 %), gefolgt von der Gattung Veillonella ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=4$ ; 2 %) nachgewiesen. Die Gattungen Clostridium ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=1$ ; < 1 %), Fusobacterium ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=1$ ; < 1 %) und Propionibacterium ( $n_{\text{Mikroorganismen}}=1$ ; < 1 %) sowie weitere drei Gattungen wurden nur einmal isoliert und waren somit allesamt selten.

Gut die Hälfte aller Stents ( $n_{\text{Stents}}=22$ ; 55 %) wies eine Besiedlung mit anaeroben Bakterien auf. Prevotella als häufigste Gattung der Anaerobier wurde auf 18 Stents (45 %) nachgewiesen, Veillonella auf vier Stents (10 %) und Bacteroides auf drei Stents (8 %). Alle anderen Gattungen wurden nur jeweils auf einem Stent (3 %) entdeckt.

Weitere anaerobe Bakterienspezies und deren Häufigkeit finden sich in *Tabelle 7*.

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%)		Anzahl (%)	
	Mikroorganismen		Stents	
	246	(100 %)	40	(100 %)
Anaerobe Bakterien	40	(16 %)	22	(55 %)
Bacteroides	5	(2 %)	3	(8 %)
Prevotella	25	(10 %)	18	(45 %)
Fusobacterium	1	(< 1 %)	1	(3 %)
Veillonella	4	(2 %)	4	(10 %)
Clostridium	1	(< 1 %)	1	(3 %)
Propionibacterium	1	(< 1 %)	1	(3 %)
Andere anaerobe Bakterien	3	(1 %)	3	(8 %)

**Tabelle 7: Anzahl anaerober Bakterien und Anzahl besiedelter Stents**

#### 4.1.4. Pilze

In der Kategorie der Pilze wurden ausschließlich *Candida* nachgewiesen. Diese waren mit 10 % der nachgewiesenen Keime am Gesamtspektrum die kleinste Gruppe. Insgesamt wurden 24 *Candida* Kulturen laborchemisch nachgewiesen. Die häufigste Art war *Candida albicans* (7 %), gefolgt von *Candida glabrata* (1 %) und *Candida krusei* (< 1 %). Sie konnten jeweils 16, drei, bzw. einmal identifiziert werden. Weitere vier *Candida*arten wurden jeweils einmalig (2 %) registriert.

Insgesamt waren 23 Stents (58 %) mit *Candida* Arten besiedelt und damit etwas häufiger vertreten als anaerobe Bakterien ( $n_{\text{Stents}}=22$ ; 55 %).

Eine Übersicht zur Pilzbesiedlung findet sich in *Tabelle 8*.

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%)		Anzahl (%)	
	Mikroorganismen		Stents	
	246	(100 %)	40	(100 %)
Candida Spezies	24	(10 %)	23	(58 %)
<i>Candida albicans</i>	16	(7 %)	16	(40 %)
<i>Candida glabrata</i>	3	(1 %)	3	(8 %)
<i>Candida krusei</i>	1	(< 1 %)	1	(3 %)
Andere Candida Spezies	4	(2 %)	4	(10 %)

**Tabelle 8: Anzahl Pilze und Anzahl besiedelter Stents**

## 4.2. Anzahl der Mikroorganismen in Abhängigkeit von der Liegedauer

Stents wurden abhängig von ihrer Liegedauer in die Gruppe der *kurzen Liegedauer* (KL, 3 bis 13 Tage) und der *langen Liegedauer* (LL, 29 bis 93 Tage) eingeteilt. In die Gruppe KL wurden elf Stents eingeschlossen. Zehn von elf Prothesen (91 %) waren mikrobiologisch besiedelt. Auf einem Stent konnten keine Keime nachgewiesen werden. Dieser Stent hatte jedoch nur eine Liegedauer von drei Tagen. Insgesamt waren die Stents der Gruppe KL mit 50 Mikroorganismenkulturen besiedelt. Die Anzahl der verschiedenen Keime pro Stent lag dabei zwischen null und elf, im Mittel bei vier.

Die Gruppe der *langen Liegedauer* umfasste 29 Stents, wobei auf allen Prothesen eine Keimbesiedlung nachgewiesen wurde. Insgesamt konnten 196 Mikroorganismenkulturen identifiziert werden. Die Anzahl der Keime pro Stent war im Median mit sieben höher als in der Gruppe KL. Die Spanne erstreckte sich hierbei von drei bis maximal elf verschiedenen Keimen pro Stent.

Am häufigsten wurden in beiden Gruppen aerobe Keime (KL 78 % vs. LL 73 %) isoliert, gefolgt von anaeroben Bakterien (KL 8 % vs. LL 18 %) und Pilzen (KL 14 % vs. LL 9 %). Aerobe, grampositive Keime hatten einen größeren Anteil in der Gruppe KL (KL 54 % vs. LL 40 %), wohingegen aerobe, gramnegative Keime in der Gruppe LL (KL 24 % vs. LL 33 %) etwas häufiger vorkamen. Anaerobe Bakterien waren etwa doppelt so häufig (KL 8 % vs. LL 18 %) in der Gruppe LL nachweisbar. Pilze hingegen waren nur etwa 1/3 häufiger (KL 14 % vs. LL 9 %) in der Gruppe KL nachweisbar.

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%) Mikroorganismen Gruppe KL	Anzahl (%) Mikroorganismen Gruppe LL
	50 (100 %)	196 (100 %)
Aerobe Mikroorganismen	39 (78 %)	143 (73 %)
Aerobe, grampositive Bakterien	27 (54 %)	79 (40 %)
Aerobe, gramnegative Bakterien	12 (24 %)	64 (33 %)
Anaerobe Mikroorganismen	11 (22 %)	37 (27 %)
Anaerobe Bakterien	4 (8 %)	36 (18 %)
Pilze	7 (14 %)	17 (9 %)

**Tabelle 9: Anzahl Mikroorganismen in Abhängigkeit von der Liegedauer**

#### 4.2.1. Aerobe, grampositive Bakterien

Die häufigste Gattung der aeroben, grampositiven Bakterien war in beiden Gruppen die Streptokokken Spezies (*KL* 20 % vs. *LL* 18 %). Innerhalb dieser Gattung zeigten sich jedoch Unterschiede bei den vorherrschenden Arten. Während *Streptococcus anginosus* vorherrschend und mehr als doppelt so häufig in der Gruppe *LL* war (*KL* 4 % vs. *LL* 10 %), zeigten sich vor allem viele unterschiedliche Streptokokkenarten in der Gruppe *KL* (*KL* 16 % vs. *LL* 8 %). *Staphylococcus aureus* (*KL* 0 vs. *LL* 3 %) konnte ausschließlich auf Stents mit einer langen Liegedauer nachgewiesen werden, wohingegen koagulase negative Staphylokokken (*KL* 8 % vs. *LL* 0 %) sich bei Stents mit einer kurzen Liegedauer zeigten.

Weitere Unterschiede in der Besiedlung stellt *Tabelle 10* dar.

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%)		Anzahl (%)	
	Mikroorganismen Gruppe <i>KL</i>		Mikroorganismen Gruppe <i>LL</i>	
	50	(100 %)	196	(100 %)
Aerobe grampositive Bakterien	27	(54 %)	79	(40 %)
Enterokokken	5	(10 %)	22	(11 %)
<i>Enterococcus faecium</i>	1	(2 %)	4	(2 %)
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	(6 %)	16	(8 %)
Andere Enterokokkenarten	1	(2 %)	2	(1 %)
Streptokokken	10	(20 %)	36	(18 %)
Streptococcus viridans Gruppe	10	(20 %)	36	(18 %)
<i>Streptococcus anginosus</i>	2	(4 %)	19	(10 %)
Andere <i>S. viridans</i> Arten	8	(16 %)	17	(8 %)
Staphylokokken	4	(8 %)	6	(3 %)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	(0 %)	6	(3 %)
Koagulase-negative Staphylokokken	4	(8 %)	0	(0 %)
Andere aerobe, grampositive Bakterien	8	(16 %)	15	(8 %)

**Tabelle 10: Anzahl aerober, grampositiver Bakterien in Abhängigkeit von der Liegedauer**

#### 4.2.2. Aerobe, gramnegative Bakterien

Aerobe, gramnegative Bakterien waren in beiden Gruppen am zweithäufigsten nachweisbar (*KL* 24 % vs. *LL* 33 %). Die Familie der Enterobacteriaceae stellte mit jeweils 14 % (*KL*) bzw. 27 % (*LL*) den größten Anteil der aeroben, gramnegativen Bakterien dar. Hierbei ist vor allem die Gattung der Enterobacter hervorzuheben, die ausschließlich auf Stents der *langen Liegedauer* (*KL* 0 % vs. *LL* 9 %) nachweisbar waren. Gleiches galt für die Gattung Proteus (*KL* 0 % vs. *LL* 3 %), wobei diese mit nur fünf Nachweisen lediglich halb so häufig waren wie Enterobacter. Serratia und Pseudomonas waren zwar nur in der Gruppe *KL* (*KL* 2 % vs. *LL* 0 %) nachweisbar, mit nur einmaligem Nachweis aber sehr seltene Keime.

Weitere Arten und deren Häufigkeit sind in *Tabelle 11* zusammengefasst.

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%) Mikroorganismen Gruppe <i>KL</i>		Anzahl (%) Mikroorganismen Gruppe <i>LL</i>	
	50	(100 %)	196	(100 %)
Aerobe gramnegative Bakterien	12	(24 %)	64	(33 %)
Enterobacteriaceae	7	(14 %)	53	(27 %)
Escherichia	2	(4 %)	14	(7 %)
Klebsiella	2	(4 %)	17	(9 %)
Citrobacter	2	(4 %)	5	(3 %)
Proteus	0	(0 %)	5	(3 %)
Enterobacter	0	(0 %)	9	(5 %)
Serratia	1	(2 %)	0	(0 %)
Andere Enterobacteriaceae	0	(0 %)	3	(2 %)
Nichtfermentierende Bakterien	1	(2 %)	0	(0 %)
Pseudomonas	1	(2 %)	0	(0 %)
Andere aerobe, gramnegative Bakterien	4	(8 %)	11	(6 %)

**Tabelle 11: Anzahl aerober, gramnegativer Bakterien in Abhängigkeit von der Liegedauer**



### 4.2.3. Anaerobe Bakterien

Anaerobe Bakterien waren etwa doppelt so häufig nachweisbar in der Gruppe *LL* (*KL* 8 % vs. *LL* 18 %) als in der Gruppe *KL*. Vor allem *Prevotella* zeigte mit 12 % die höchste Inzidenz, gegenüber 4 % in der Gruppe *KL*. Die Gattungen *Bacteroides* (*KL* 0 % vs. *LL* 3 %), *Veillonella* (*KL* 0 % vs. *LL* 2 %) und *Propionibacterium* waren nur in der Gruppe *LL* nachweisbar, *Clostridium* hingegen nur in der Gruppe *KL*. Die Anzahl der nachgewiesenen Mikroorganismen dieser Gattungen war jedoch allesamt sehr gering.

*Tabelle 12* stellt weitere seltene Gattungen dar.

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%)		Anzahl (%)	
	Mikroorganismen Gruppe <i>KL</i>		Mikroorganismen Gruppe <i>LL</i>	
	50	(100 %)	196	(100 %)
Anaerobe Bakterien	4	(8 %)	36	(18 %)
<i>Bacteroides</i>	0	(0 %)	5	(3 %)
<i>Prevotella</i>	2	(4 %)	23	(12 %)
<i>Fusobacterium</i>	0	(0 %)	1	(< 1%)
<i>Veillonella</i>	0	(0 %)	4	(2 %)
<i>Clostridium</i>	1	(2 %)	0	(0 %)
<i>Propionibacterium</i>	0	(0 %)	1	(< 1%)
Andere anaerobe Bakterien	1	(2 %)	2	(1 %)

**Tabelle 12: Anzahl anaerober Bakterien in Abhängigkeit von der Liegedauer**

#### 4.2.4. Pilze

Pilze wurden etwas häufiger (*KL* 14 % vs. *LL* 8 %) in der Gruppe der *kurzen Liegedauer* als in der Gruppe der *langen Liegedauer* registriert. Die größte Art, *Candida albicans*, war jedoch in beiden Gruppe etwa gleich häufig (*KL* 8 % vs. *LL* 6 %) vertreten.

Weitere Arten und deren Häufigkeit in Abhängigkeit der Liegedauer finden sich in *Tabelle 13*.

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%)		Anzahl (%)	
	Mikroorganismen Gruppe <i>KL</i>		Mikroorganismen Gruppe <i>LL</i>	
	50	(100 %)	196	(100 %)
Candida Spezies	7	(14 %)	17	(9 %)
<i>Candida albicans</i>	4	(8 %)	12	(6 %)
<i>Candida glabrata</i>	1	(2 %)	2	(1 %)
<i>Candida krusei</i>	0	(0 %)	1	(< 1 %)
Andere Candida Spezies	2	(4 %)	2	(1 %)

**Tabelle 13: Anzahl Pilze in Abhängigkeit von der Liegedauer**

### 4.3. Besiedlung der Stents in Abhängigkeit von der Liegedauer

Es wiesen 91 % der Stents der *kurzen* und alle (100 %) Stents der *langen Liegedauer* eine Besiedlung mit mindestens einem Keim auf. Stents mit einer *kurzen Liegedauer* waren hauptsächlich mit aeroben, grampositiven Bakterien ( $n_{\text{Stents}}=9$ , 82 %) besiedelt. Pilze ( $n_{\text{Stents}}=7$ , 63 %), aerobe, gramnegative ( $n_{\text{Stents}}=5$ , 45 %) und anaeroben Bakterien ( $n_{\text{Stents}}=2$ , 18 %) waren deutlich seltener vertreten.

Stents mit einer *langen Liegedauer* wiesen hingegen ein homogeneres Besiedlungsmuster auf. Aerobe, grampositive Bakterien waren auf allen Stents, aerobe, gramnegative Bakterien auf über 90 % der Stents und anaerobe Bakterien und Pilze auf mehr als der Hälfte der Stents nachweisbar.

Signifikante Unterschiede zwischen den Liegedauergruppen zeigten sich bei aeroben, gramnegativen Bakterien ( $p < 0,01$ ) und anaeroben Bakterien ( $p < 0,01$ ), die in der Gruppe der *langen Liegedauer* deutlich häufiger nachweisbar waren.

Das Verteilungsmuster der Mikroorganismen auf den untersuchten Stents, abhängig ihrer Liegedauer und dazugehörige p-Werte, zeigt *Tabelle 14*.

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%)		Anzahl (%)		p-Wert
	Stents Gruppe <i>KL</i>		Stents Gruppe <i>LL</i>		
	11	(100 %)	29	(100 %)	
Aerobe Mikroorganismen					
Aerobe, grampositive Bakterien	9	(82 %)	29	(100 %)	0,07
Aerobe, gramnegative Bakterien	5	(45 %)	27	(93 %)	< 0,01
Anaerobe Mikroorganismen					
Anaerobe Bakterien	2	(18 %)	20	(69 %)	< 0,01
Pilze	7	(63 %)	16	(55 %)	0,73

**Tabelle 14: Anzahl besiedelter Stents in Abhängigkeit von der Liegedauer**

### 4.3.1. Aerobe, grampositive Bakterien

Innerhalb der Gruppe der aeroben, grampositiven Bakterien zeigten sich signifikante Unterschiede in der Besiedlung der Stents mit *Streptococcus anginosus* und mit koagulase-negativen Staphylokokken. *Streptococcus anginosus* war lediglich auf zwei Stents der *kurzen Liegedauer*, jedoch auf 19 Stents der *langen Liegedauer* nachweisbar (KL 18 % vs. LL 66 %,  $p < 0,01$ ). Koagulase-negative Staphylokokken wurden ausschließlich auf vier Stents der Gruppe KL identifiziert (KL 36 % vs. LL 0 %,  $p < 0,01$ ). Ebenfalls deutlich häufiger waren Stents der Gruppe LL mit *Enterococcus faecalis* (KL 27 % vs. LL 55 %,  $p < 0,12$ ) besiedelt, jedoch erreichte dieses Ergebnis kein statistisch signifikantes Niveau.

Weitere Unterschiede zwischen Stents der *kurzen* und *langen Liegedauer* sind in *Tabelle 15* dargestellt. Viele Ergebnisse zeigten jedoch keine statistische Signifikanz.

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%) Stents Gruppe KL		Anzahl (%) Stents Gruppe LL		p-Wert
	11	(100 %)	29	(100 %)	
Aerobe grampositive Bakterien	9	(82 %)	29	(100 %)	0,07
Enterokokken	5	(45 %)	17	(59 %)	0,50
<i>Enterococcus faecium</i>	1	(9 %)	4	(14 %)	1,00
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	(27 %)	16	(55 %)	0,12
Andere Enterokokkenarten	1	(9 %)	2	(7 %)	---
Streptokokken	5	(45 %)	22	(76 %)	0,13
Streptococcus viridans Gruppe	5	(45 %)	22	(76 %)	0,13
<i>Streptococcus anginosus</i>	2	(18 %)	19	(66 %)	< 0,01
Andere S. viridans Arten	3	(27 %)	3	(10 %)	---
Staphylokokken	4	(36 %)	6	(21 %)	0,42
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	(0%)	6	(21 %)	0,16
Koagulase-negative Staphylokokken	4	(36 %)	0	(0%)	< 0,01
Andere aerobe grampositive Bakterien	6	(55 %)	11	(38 %)	---

**Tabelle 15: Anzahl besiedelter Stents mit aeroben, grampositiven Bakterien in Abhängigkeit von der Liegedauer**

### 4.3.2. Aerobe, gramnegative Bakterien

Aerobe, gramnegative Bakterien waren signifikant häufiger auf Stents mit einer Liegedauer von über 29 Tagen nachweisbar, als auf Stents mit einer *kurzen Liegedauer* von bis zu 13 Tagen (*KL* 45 % vs. *LL* 93 %,  $p < 0,01$ ). Die Familie der Enterobacteriaceae, als vorherrschende Gruppe der anaeroben, gramnegativen Bakterien, war auf 86 % der *LL* Stents und nur auf 27 % der *KL* Stents nachweisbar. Mit einem p-Wert von  $< 0,01$  war dieses Ergebnis signifikant. Bakterien der Gattung Enterobacter waren ausschließlich auf Stents der Gruppe *LL* nachweisbar und damit ebenfalls signifikant häufiger (*KL* 0 % vs. *LL* 31 %,  $p < 0,01$ ). Escherichia (*KL* 18 % vs. *LL* 48 %,  $p = 0,15$ ), Klebsiella (*KL* 18 % vs. *LL* 48 %,  $p = 0,15$ ), Citrobacter (*KL* 9 % vs. *LL* 17 %,  $p = 1,00$ ) und Proteus (*KL* 0 vs. *LL* 17 %,  $p=0,30$ ) waren zwar häufiger auf Stents der *langen Liegedauer* nachweisbar, erreichten jedoch in ihrer Häufigkeit kein statistisch signifikantes Niveau.

Tabelle 16 fasst genannte und weitere Ergebnisse zusammen.

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%) Stents Gruppe <i>KL</i>	Anzahl (%) Stents Gruppe <i>LL</i>	p-Wert
	11 (100 %)	29 (100 %)	
Aerobe gramnegative Bakterien	5 (45 %)	27 (93 %)	< 0,01
Enterobacteriaceae	3 (27 %)	25 (86 %)	< 0,01
Escherichia	2 (18 %)	14 (48 %)	0,15
Klebsiella	2 (18 %)	14 (48 %)	0,15
Citrobacter	1 (9 %)	5 (17 %)	1,00
Proteus	0 (0 %)	5 (17 %)	0,30
Enterobacter	0 (0 %)	9 (31 %)	0,04
Serratia	1 (9 %)	0 (0 %)	0,28
Andere Enterobacteriaceae	0 (0 %)	3 (10 %)	--
Nichtfermentierende Bakterien	1 (9 %)	0 (0 %)	0,28
Pseudomonas	1 (9 %)	0 (0 %)	0,28
Andere aerobe, gramnegative Bakterien	2 (18 %)	11 (38 %)	--

**Tabelle 16: Anzahl besiedelter Stents mit aeroben, gramnegativen Bakterien in Abhängigkeit von der Liegedauer**

### 4.3.3. Anaerobe Bakterien

Anaerobe Bakterien waren signifikant häufiger auf Stents mit einer *langen Liegedauer* nachweisbar. In der Gruppe *KL* waren zwei Stents (18 %) und in der Gruppe *LL* 20 Stents (69 %) mit anaeroben Bakterien besiedelt. Bei einem p-Wert von < 0,01 erreichte dieses Ergebnis statistische Signifikanz. Bakterien der Gattungen *Bacteroides* (*KL* 0 % vs. *LL* 10 %, p=0,55), *Fusobacterium* (*KL* 0 % vs. *LL* 3 %, p=1,00), *Veillonella* (*KL* 0 % vs. *LL* 14 %, p=0,56) und *Propionobacterium* waren ausschließlich auf Stents der *langen Liegedauer* nachweisbar.

Weitere Gattungen und deren Häufigkeit sind in *Tabelle 17* enthalten.

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%) Stents Gruppe <i>KL</i>	Anzahl (%) Stents Gruppe <i>LL</i>	p-Wert
	11 (100 %)	29 (100 %)	
Anaerobe Bakterien	2 (18 %)	20 (69 %)	< 0,01
<i>Bacteroides</i>	0 (0 %)	3 (10 %)	0,55
<i>Prevotella</i>	2 (18 %)	16 (55 %)	0,07
<i>Fusobacterium</i>	0 (0 %)	1 (3 %)	1,00
<i>Veillonella</i>	0 (0 %)	4 (14 %)	0,56
<i>Clostridium</i>	1 (9 %)	0 (0 %)	0,28
<i>Propionibacterium</i>	0 (0 %)	1 (3 %)	1,00
Andere Anaerobe Bakterien	1 (9 %)	2 (7 %)	1,00

**Tabelle 17: Anzahl besiedelter Stents mit anaeroben Bakterien in Abhängigkeit von der Liegedauer**

#### 4.3.4. Pilze

Die Gruppe der Pilze war als einzige Gruppe häufiger auf Stents der *kurzen Liegedauer*, als auf Stents der *langen Liegedauer* vertreten. Hierbei waren 63 % der *KL* Stents und 55 % der *LL* Stents mit mindestens einer Pilzkultur besiedelt. Die Unterschiede erreichten jedoch kein statistisch signifikantes Niveau ( $p=0,73$ ). In der Gruppe *KL* war *Candida glabrata* etwas häufiger vertreten (*KL* 9 % vs. *LL* 7 %,  $p=1,00$ ), wohingegen *Candida albicans* in der Gruppe *LL* etwas häufiger (*KL* 36 % vs. *LL* 41 %,  $p=1,00$ ) vorkam.

Nachgewiesene Mikroorganismen	Anzahl (%)		Anzahl (%)		p-Wert
	Stents Gruppe <i>KL</i>		Stents Gruppe <i>LL</i>		
	11	(100 %)	29	(100 %)	
Candida Spezies	7	(63 %)	16	(55 %)	0,73
<i>Candida albicans</i>	4	(36 %)	12	(41 %)	1,00
<i>Candida glabrata</i>	1	(9 %)	2	(7 %)	1,00
<i>Candida krusei</i>	0	(0 %)	1	(3 %)	1,00
Andere Candida Spezies	2	(18 %)	2	(7 %)	---

**Tabelle 18: Anzahl besiedelter Stents mit Pilzen in Abhängigkeit von der Liegedauer**

## 5. Diskussion

Die Stent-Einlage in den Pankreasgang im Rahmen einer ERCP, wird zur Prävention oder Therapie verschiedener Erkrankungen der Bauchspeicheldrüse verwendet (Shah and Martin 2000, Deviere 2011, Oza and Kahaleh 2013, Shrode, Macdonough et al. 2013, Gao, Ma et al. 2014, Yin, Wu et al. 2016). Je nach Indikation zeigt sie initial gute bis sehr gute Ergebnisse, bei einer hohen technischen Erfolgsquote (Telford, Farrell et al. 2002, Dumonceau, Andriulli et al. 2010, Oza and Kahaleh 2013). Der transpapilläre Stent erleichtert das Abfließen von Pankreassekret in das Duodenum und soll Beschwerden vorbeugen bzw. behandeln, die durch einen Sekretstau entstehen (Putzke, Jonas et al. 1982, Ebbelohj, Borly et al. 1990, Karanjia, Widdison et al. 1994, Dumonceau, Deviere et al. 1996, Reber, Patel et al. 1999, Mangiavillano, Pagano et al. 2015). Die Stent-Therapie ist jedoch nicht risikofrei. So gibt es Hinweise, dass möglicherweise Infektionen begünstigt werden, die zu schwerwiegenden Schäden führen können (Kozarek, Hovde et al. 2003, Hill, Bhalla et al. 2012). Nach Auswertung aktueller Literatur, scheinen nur wenige Daten über die mikrobielle Besiedlung von Pankreas-Stents vorzuliegen. Eine genaue Analyse der dominanten Arten und die klinische Relevanz einer solchen mikrobiellen Besiedlung, vor allem bei einer mehrwöchigen Therapiedauer, wie sie zum Beispiel bei der Therapie von Pankreasgangstenosen üblich ist, liegt derzeit noch nicht vor.

Diese prospektive Studie untersuchte hierzu 40 Pankreas-Stents auf ihre mikrobiologische Kolonisation in Abhängigkeit der intraduktalen Liegedauer bei kurzer und langer Therapiedauer. Zur Analyse wurde eine ultraschall-basierte Probengewinnung aus dem Stent-Inneren, und ein Massenanalyseverfahren (MALDI-TOF) zur mikrobiologischen Bestimmung, verwendet. Es wurde die Art und die Anzahl der Mikroorganismen, sowie die Stent-Besiedlungshäufigkeit bestimmt und abhängig der Liegedauer (*kurze Liegedauer* (3 Tage bis 13 Tage), *lange Liegedauer* (29 Tage bis 93 Tage)) miteinander verglichen. Das untersuchte Patientenkollektiv zeigte eine nahezu ausgeglichene Geschlechterverteilung, ein medianes Alter von 63 Jahren und mit 56 % war die chronische Pankreatitis die häufigste zugrundeliegende Indikation der Stent-Therapie.



Die vorliegende Arbeit konnte umfangreiche Ergebnisse zur mikrobiellen Besiedlung von Pankreas-Stents liefern. Folgende Ergebnisse waren dabei von besonderer Bedeutung:

Die Analyse der Pankreas-Stents zeigte eine hohe mikrobiologische Besiedlungsrate. 97,5 % aller Stents waren mit mindestens einem Mikroorganismus besiedelt und 246 Keime wurde identifiziert. Ein Stent wies keine Besiedlung auf, wobei dessen Liegedauer mit nur drei Tagen, einer relativ kurzen Verweilzeit in-situ entsprach. Aus einer Analyse der Liegezeitdauer in Abhängigkeit zur Besiedlungsrate zeigte sich, dass Stents mit einer *kurzen Liegedauer* von drei bis 13 Tagen eine Besiedlungsrate von 91 % und Stents mit einer *langen Liegedauer* von 29 bis 93 Tagen eine Besiedlungsrate von 100 % aufwiesen.

Die Ursachen dieser hohen Besiedlungsrate sind wahrscheinlich vielfältig. Ein wichtiger Einfluss ist der Lage der Stents zuzuordnen (Basioukas, Vezakis et al. 2014). Durch ihre transpapilläre Lage hatten diese während der in-situ Zeit, über das distale Stent-Ende, ständig Kontakt mit dem Duodenum und vorbeifließenden Nahrungsbrei, die beide als mögliche Mikroorganismen-Quellen angesehen werden können (Derrien and van Hylckama Vlieg 2015, Li, Yang et al. 2015). Kozarek et al. untersuchte in diesem Zusammenhang 61 Patienten mit Pankreas- und Gallengangs-Stents auf eine mikrobielle Kontamination des jeweiligen Gangsystems und fand heraus, dass es unabhängig der Therapiedauer bei allen Probanden zu einer bakteriellen Kontamination des jeweiligen Gangsystems kam (Kozarek, Hovde et al. 2003). Die nachgewiesenen Mikroorganismen waren allesamt typische Vertreter der Darmflora. Da jedoch zum Teil deutliche Unterschiede in der Darmbesiedlung bekannt sind, ist eine individuelle Betrachtung zur Beurteilung des mikrobiellen Ursprungs sinnvoll (Harmsen and de Goffau 2016). So ging Ye et al. der Frage nach, aus welchem Kompartiment die Mikroorganismen am ehesten in das Gangsystem gelangen (Ye, Shen et al. 2016). In diesem Zusammenhang wurde die mikrobielle Besiedlung des oberen Gastrointestinaltrakts mit der Besiedlung des Gallengangsystems bei Patienten mit Gallengangsteinen verglichen. Die Ergebnisse zeigten eine hohe Übereinstimmung des duodenalen mit dem biliären Keimspektrum und unterstützen die Hypothese, dass Mikroorganismen retrograd aus dem Duodenum aufsteigen können (Ye, Shen et al. 2016).

Um eine Keimbesiedelung des Pankreas im Gesunden zu verhindern, ist dieser durch verschiedene Mechanismen geschützt. Zum einen wirkt der Sphinkter Oddi als mechanische Barriere, um einen Reflux von kontaminierten Substanzen aus dem Duodenum zu verhindern, zum anderen besitzt das Pankreassekret eine antimikrobielle Aktivität, die ein Bakterienwachstum verhindern kann (Gregg 1977, Sung, Costerton et al. 1992, Minelli, Benini et al. 1996, Woods, Mawe et al. 2005, Del Piano, Strozzi et al. 2008). Die Stent-Einlage stört zwar die mechanische Schutzfunktion des Sphinkter Oddi, aber auch die Grunderkrankungen der Pankreas-Stent-Patienten hatten möglicherweise einen Einfluss auf die mikrobielle Besiedlung. Beispielsweise wies Marotta et al. nach, dass die Schutzfunktion des Pankreassekrets bei Patienten mit chronischer Pankreatitis deutlich herabgesetzt war und nicht mehr sicher ein bakterielles Wachstum bei in-vitro Experimenten verhindern konnte (Marotta, Tajiri et al. 1997). Zwar wurde in der vorliegenden Studie die Pankreas-Syntheseleistung der Patienten nicht bestimmt, jedoch litten 56 % an den Folgen einer chronischen Pankreatitis und 16 % an einem Pankreastumor, beides Erkrankungen für die eine eingeschränkte exokrine Leistung beschrieben wurde (Marotta, Tajiri et al. 1997, Bartel, Asbun et al. 2015). Möglicherweise beeinflusste daher auch die Zusammensetzung der Patientengruppe die festgestellte mikrobielle Kolonisation. Eine Bildung von Subgruppen in der vorliegenden Studie erwies sich aufgrund der geringen Patientenzahl jedoch nicht als sinnvoll.

Die untersuchten Stents waren mit einer Vielzahl an unterschiedlichen Mikroorganismen besiedelt. So waren Stents am häufigsten mit den Arten *Streptococcus anginosus* (53 %) und *Enterococcus faecalis* (48 %) besiedelt, beide typische Vertreter der physiologischen Darmflora (Garsin and Lorenz 2013, Asam and Spellerberg 2014). Nueno-Palop et al. fand heraus, dass diese Arten bei in-vitro Versuchen eine ausgeprägte Resistenz gegenüber einem niedrigen pH-Wert, Gallensalzen und Verdauungsenzymen zeigten (Nueno-Palop and Narbad 2011). Dies sind wichtige Eigenschaften um sich den Bedingungen im Gastrointestinaltrakt anzupassen. Möglicherweise begünstigten diese Eigenschaft auch die Fähigkeit, sich im Inneren der untersuchten Pankreas-Stents anzusiedeln. Wenn man die von mehreren Autoren beschriebene anti-mikrobielle Aktivität des Pankreassekret zusätzlich berücksichtigt, dann können wahrscheinlich weitere Eigenschaften eine

wichtige Rolle gespielt haben, die im nächsten Abschnitt diskutiert werden (Rubinstein, Mark et al. 1985, Minelli, Benini et al. 1996, Deviere 2005).

Neben Streptokokken und Enterokokken waren Mikroorganismen aus den Gattungen *Candida* (58 %), *Escherichia* (40 %), *Klebsiella* (40 %) und *Staphylococcus* (25 %) ebenfalls häufig auf den untersuchten Stents nachweisbar. Bestimmte Arten dieser Gattungen sind dafür bekannt, einen widerstandsfähigen Biofilm zu produzieren (Patti 2005, Amato and Brynildsen 2014, Vuotto, Longo et al. 2014, Bhattacharya, Wozniak et al. 2015, Chandra and Mukherjee 2015, Khalifa, Brosh et al. 2015, Nobile and Johnson 2015). Der Biofilm ermöglicht den Mikroorganismen, Fremdkörperoberflächen im menschlichen Körper zu besiedeln und schützt sie vor äußeren Einflüssen (Libby and Leung 1996, Costerton, Montanaro et al. 2005, Veerachamy, Yarlagadda et al. 2014). Hierzu zählt unter anderem der Schutz vor dem körpereigenem Immunsystem, aber auch vor Antibiotika (de la Fuente-Nunez, Reffuveille et al. 2013). Wahrscheinlich prädispositionierte die Biofilmproduktion die nachgewiesenen Mikroorganismen sich im Stent-Innere anzusiedeln. Hierzu muss relativierend gesagt werden, dass eine genaue Betrachtung der einzelnen Arten wichtig wäre, um diese Frage abschließend zu klären.

Neben einer generellen Standortbestimmung zur mikrobiellen Kolonisation im Inneren von Pankreas-Stents konnte die vorliegende prospektive Arbeit Daten über die Veränderung der Keimzusammensetzung bei *kurzer* (3 Tage bis 13 Tage) und *langer* (29 Tage bis 93 Tage) in-vivo Dauer liefern. Es konnte gezeigt werden, dass die mediane Anzahl an unterschiedlichen Mikroorganismen pro Stent mit der Zeit deutlich zunahm. Während im Median vier verschiedene Mikroorganismenarten pro Stent in der Gruppe der *kurzen Liegedauer* nachweisbar waren, waren es in der Gruppe der *langen Liegedauer* hingegen sieben verschiedene Mikroorganismen pro Stent. Folgende Ursachen dieser Beobachtungen sind diskutabel.

Zum einen stieg möglicherweise mit zunehmender Verweilzeit die Wahrscheinlichkeit, dass potentiell kontaminierte Substanzen aus dem Duodenum in den Pankreas-Stent gelangen, zum anderen entwickeln sich mit zunehmender Besiedlung synergistische Effekte, die eine weitere Kolonisation begünstigen. So konnte Leung et al. zeigen, dass die gleichzeitige Anwesenheit von grampositiven und gramnegativen Bakterien im Inneren von Polyethylen-Stents zu einer gegenseitigen

Verstärkung der Oberflächenbindungsfähigkeit und der Biofilmproduktion führte, und damit die Stent-Besiedlung mit diesen Bakterien erhöhte (Leung, Liu et al. 1998). Möglicherweise förderte die initial hohe Besiedlungsrate mit aeroben grampositiven Bakterien (82 %) in der Gruppe der *kurzen Liegedauer* eine weitere Besiedlung mit aeroben gramnegativen Bakterien in der Gruppe der *langen Liegedauer*. So waren lediglich 45 % der Stents der *kurzen Liegedauer* mit aeroben gramnegativen Bakterien besiedelt, hingegen 93 % der Stents der *langen Liegedauer* ( $p < 0,01$ ).

Einen weiteren möglichen synergistischen Effekt beschrieb Fox et al., indem der Einfluss des von *Candida albicans* produzierten Biofilms auf das Wachstum anaerober Bakterien untersucht wurde (Fox, Cowley et al. 2014). Es konnte gezeigt werden, dass der Biofilm ein hypoxisches Milieu schuf, das anaeroben Bakterien eine Vermehrung ermöglichte, selbst unter Bedingungen die sonst toxisch für sie wären. So ist es möglich, dass auch in der vorliegenden Arbeit die starke Zunahme von Anaerobiern in der *langen Liegedauer* Gruppe, durch die Anwesenheit von *Candida albicans* begünstigt wurde. Es zeigte sich eine signifikante Zunahme von 18 % auf 69 % in der Besiedlungshäufigkeit ( $p < 0,01$ ), bei einer weitgehend gleich gebliebenen Besiedlung mit *Candida albicans* (KL 36 % vs. LL 41 %). In Anbetracht der Tatsache, dass die Besiedlungsquote von *Candida albicans* in der *langen Liegedauer* Gruppe zum Teil unter der Quote anderer Anaerobier lag, muss dieser Effekt kritisch betrachtet und zukünftig untersucht werden. Wahrscheinlich haben multiple Ursachen eine Rolle gespielt.

Mutmaßlich hat eine Kombination aus verschiedenen Mechanismen zur mikrobiellen Stent-Besiedlung beigetragen. Dazu können spezifische Eigenschaften der Bakterien, wie die Biofilmproduktion, die Resistenz gegenüber Verdauungsenzymen und auch synergistische Effekte der Mikroorganismen untereinander zählen. Außerdem können die Grunderkrankungen der Patienten, sowie individuelle Unterschiede in der Darmbesiedlung die Stent-Besiedlung beeinflusst haben.

Im Vergleich der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit Daten über die mikrobielle Besiedlung von Gallengang-Stents, die wie Pankreas-Stents ebenfalls den Sphinkter Oddi überbrücken und im Kontakt mit dem Duodenum stehen, zeigen sich Unterschiede im Besiedlungsmuster. Basioukas et al. untersuchte in diesem Zusammenhang 51 Gallengang-Stents auf ihre mikrobielle Besiedlung. Im Gegensatz

zur hier vorliegenden Arbeit waren Mikroorganismen der Enterokokken-Gattung mit einer Besiedlungsrate von 74 % am häufigsten vertreten, gefolgt von Bakterien der Escherichia (62 %) und der Klebsiella (58 %) Gattung (Basioukas, Vezakis et al. 2014). Zu ähnlichen Ergebnisse kam auch Schneider et al., der 343 Gallengang-Stents untersuchte (Schneider, Hapfelmeier et al. 2014). In Übereinstimmung mit Basioukas et al. waren in der Arbeit von Schneider et al. Mikroorganismen der Gattungen Enterococcus (87 %), Klebsiella (52 %) und Escherichia (50 %) am häufigsten vertreten.

Möglicherweise sind die Unterschiede in den Besiedlungsmustern zwischen den hier untersuchten Pankreas-Stents zu den Gallengang-Stents auf die verschiedenen Inhaltsstoffe des Pankreassekrets und der Gallenflüssigkeit zurückzuführen, die jeweils durch die Stents flossen. Während die Gallenflüssigkeit vor allem aus Wasser, Elektrolyten und Gallensalze besteht, enthält das Pankreassekret eine Vielzahl an unterschiedlichen Enzymen (Keller and Allan 1967). Viele Autoren beschreiben daher das pankreatische Milieu als lebensfeindlicher als das biliäre (Kruszewska, Ljungh et al. 2004, Deviere 2005). Möglicherweise beeinflusste das auch die Anzahl an verschiedenen Mikroorganismenarten pro Stent. So wies Schneider et al. sieben verschiedene Arten im Median pro Gallengang-Stent nach, wohingegen in der vorliegenden Arbeit nur 3,5 verschiedene Arten im Median einen Pankreas-Stent besiedelten (Schneider, Hapfelmeier et al. 2014).

Eine methodisch der vorliegenden Studie ähnliche Arbeit führte auch Hill et al. durch, um die mikrobielle Besiedlung im Inneren von Pankreas-Stents zu bestimmen. Hierzu wurden 47 Stents mit einer durchschnittlichen Liegedauer von sieben Tagen analysiert (Hill, Bhalla et al. 2012). Während Hill et al. die nachgewiesenen Mikroorganismen nach Gruppen von niedriger und hoher Pathogenität gliederte, erfolgte in der vorliegenden Arbeit eine detailliertere Aufstellung der einzelnen Gattungen. Die Besiedlungshäufigkeiten wurden in gleicher Form ausgewiesen. Nach Hill et al. waren gut die Hälfte (52 %) der untersuchten Stents mit Mikroorganismen besiedelt, wohingegen diese Arbeit eine Besiedlungshäufigkeit von 97,5 % nachwies. Zwar war die mediane Verweilzeit der Stents der vorliegenden Arbeit mit 50,5 Tagen deutlich höher, betrachtet man jedoch die Besiedlungsrate der Gruppe der *kurzen Liegedauer*, die mit 3 bis 13 Tagen eine ähnliche Verweildauer wie Hill et al. aufwies, so war diese mit 91 % trotzdem deutlich höher.

Eine mögliche Ursache für die Unterschiede können die verschiedenen Patientenkollektive sein. Hill et al. schloss vor allem Patienten ein, die ihre Stent-Therapie zur Prophylaxe bei Gallensteinleiden erhielten, wohingegen diese Arbeit viele Patienten mit möglicherweise eingeschränkter Pankreasfunktion einschloss.

Ein anderer möglicher Grund für die deutlichen Unterschiede in der Besiedlungshäufigkeit können verschiedene Stent-Analyse-Verfahren sein. Konventionelle Analyseverfahren verwenden oft eine Spülung mit Kochsalzlösung, um Mikroorganismen von Oberflächen zu lösen und um anschließend die gewonnene Suspension zur Kultivierung zu verwenden (Basioukas, Vezakis et al. 2014). Mikroorganismen die einen Biofilm produzieren, können jedoch mit dieser Methode häufig nicht gelöst werden und entgehen dadurch dem Nachweis (Nguyen, Nelson et al. 2002). Daher wird zur mikrobiellen Analyse von implantierten Fremdkörpern von vielen Autoren eine Ultraschallwellenbestrahlung empfohlen, um Mikroorganismen aus ihrem Biofilm-Bett zu lösen (Nguyen, Nelson et al. 2002, Trampuz, Piper et al. 2007, Rak, Kavcic et al. 2016). Ergänzt werden kann dieses Verfahren durch eine Behandlung mit einem Reagenzglasschüttler (Vortex-Mischer), der ebenfalls die Nachweisquote von biofilmbildenden Mikroorganismen erhöht (Kobayashi, Oethinger et al. 2009).

Die Stärke der vorliegenden Arbeit liegt in der verwendeten labortechnischen Analyse, in der sowohl die Vortex-Mischung als auch die Ultraschallbehandlung Anwendung fand. Die untersuchten Stents wurden hierfür zunächst 30 Sekunden in einem Vortex-Mischer behandelt, anschließend 60 Sekunden niederfrequenten Ultraschallwellen ausgesetzt und zum Schluss erneut für 30 Sekunden in den Reagenzglasschüttler gegeben. Die hohen mikrobiologischen Nachweisraten, die diese Arbeit erbrachte, lassen auf eine hohe Genauigkeit des verwendeten Verfahrens schließen.

Mehrere Schwächen limitieren jedoch die Ergebnisse dieser Arbeit. Stents mit einer Größe über 7 Fr konnten nicht durch den Arbeitskanal des verwendeten Endoskops geborgen werden. Die Bergung erfolgte, nach Fassen des Stents mit einer Greifzange, durch den vollständigen Rückzug des Endoskops. Dabei kamen die Stents möglicherweise mit der natürlichen Flora des Magens, der Speiseröhre und des Mundes in Kontakt. Um das Risiko einer Kontamination zu minimieren, erfolgte zum einen die Reinigung der äußeren Stent-Oberfläche mit 70 % Ethanol, zum anderen

wurden 1,5 cm des distalen und proximalen Stent-Endes abgeschnitten. Ob und inwiefern eine Kontamination stattfand, ließ sich nicht beurteilen.

Eine weitere Schwäche dieser Studie ist, dass viele Patienten unter Begleiterkrankungen litten, die bei einigen eine Antibiotikagabe während der Stent-Therapie notwendig gemacht haben könnte. Eine suffiziente Erfassung der Pharmakotherapie war aufgrund der geringen Anzahl an Patienten nicht sinnvoll. Zum einen waren viele Patienten nur wenige Tage stationär im Krankenhaus, zum anderen wurden oft Therapien von niedergelassenen Ärzten eingeleitet, die der Erfassung entgangen wären. Da bekannt ist, dass Antibiotika zum Teil in erheblichen Maße mit dem Pankreassekret ausgeschieden werden, könnte die Pharmakotherapie die Ergebnisse in unbekannter Höhe beeinflusst haben (Bertazzoni Minelli, Benini et al. 2008, Kondo, Ikawa et al. 2014).

Diese Arbeit konnte zwar einerseits umfangreiche Ergebnisse zur mikrobiellen Besiedlung von Pankreas-Stents liefern, andererseits fand jedoch keine klinische Beobachtung von Komplikationen (Infektionen, Stent-Dysfunktion etc.) statt, die Patienten während ihrer Therapie entwickelten. Die klinische Relevanz der Stent-Besiedlung bleibt daher weitgehend unklar und bedarf weiterer Studien, die gezielt dieser Fragestellung nachgehen. Es kann lediglich vermutet werden, dass die Stent-Einlage ein Risikofaktor für die Entwicklung von Komplikationen darstellt.

Die folgenden vorausgegangen Studien können diese Hypothese unterstützen. Als gefürchtete Komplikation gilt die Infektion einer Pankreasnekrose, die bei ca. 40 % der Patienten mit Pankreasnekrosen beobachtet wird (Beger, Bittner et al. 1986). Sie gilt als wichtiger Indikator für den klinischen Verlauf und ist mit einer deutlich gesteigerten Mortalitätsrate verbunden (Occhionorelli, Morganti et al. 2015). Minelli et al. beschrieb 1996 Pathogene, die für einen Großteil von Pankreasinfektionen verantwortlich sind. Hierzu zählten vor allem gramnegative Bakterien der natürlichen Darmflora, wobei *Escherichia coli* am häufigsten vertreten war. Aber auch andere Bakterien wie *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* und *Enterococcus faecalis* waren nach Minelli relevant (Minelli, Benini et al. 1996).

Neuere Arbeiten zeigen darüber hinaus, dass auch grampositive Bakterien und Pilze einen wichtigen Einfluss haben und in zunehmender Häufigkeit nachgewiesen werden

(Isenmann, Runzi et al. 2004, Dellinger, Tellado et al. 2007). Howard et al. führte diese Veränderungen vor allem auf den gestiegenen Einsatz von Antibiotika zurück (Howard and Temple 2002). Neben den genannten Mikroorganismen sind nach Dellinger et al. und Isenmann et al. ebenfalls *Candida albicans*, Bakterien der Gattungen Enterobacter und Streptococcus relevante Mikroorganismen bei der Entwicklung von Pankreasinfektionen (Isenmann, Runzi et al. 2004, Dellinger, Tellado et al. 2007).

Vergleicht man diese Daten mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie, so lassen sich alle relevanten Mikroorganismen-Gattungen im Inneren der untersuchten Pankreas-Stents nachweisen. Im Gegensatz zu Minelli et al. waren vorrangig aerobe, grampositive Bakterien im Stent-Inneren dominant, der Anteil an aeroben, gramnegativen Bakterien nahm jedoch in der vorliegenden Arbeit mit zunehmender Liegedauer signifikant zu (*KL* 45 % vs. *LL* 93 %,  $p < 0,01$ ). Möglicherweise kann eine längere Liegedauer durch die zunehmende Besiedlung mit potentiell pathogenen Mikroorganismen die Infektionsgefahr erhöhen. Da in dieser Arbeit keine klinische Beobachtung von infektiösen Komplikationen stattfand, ist dies im Moment nur zukunftsweisende Spekulation.

In der Studie aus dem Jahr 2012 von Hill et al. wurde versucht den Zusammenhang der mikrobiellen Stent-Besiedlung und die klinische Relevanz dieser Beobachtungen zu beurteilen. Wie bereits erwähnt, wies Hill et al. potentielle pathogene Mikroorganismen im Stent-Inneren nach. Es konnte gezeigt werden, dass Stents mit einer Liegedauer von über zehn Tagen 3,3-mal häufiger mit potentiell pathogenen Mikroorganismen besiedelt waren, als Stents mit einer Liegedauer von zwei Tagen. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde empfohlen, Stents nicht länger als sieben bis zehn Tage in-vivo zu belassen (Hill, Bhalla et al. 2012). Diese Empfehlung wurde jedoch kontrovers diskutiert, da Hill et al. keine ausreichende klinische Beobachtung durchführte, die einen gesicherten Zusammenhang zwischen Stent-Besiedlung und Infektionsrisiko darstellen konnte. Siddiqui et al. kritisierte, dass die von Hill et al. als „pathogen“ bezeichneten Mikroorganismen eine zu ungenaue Angabe waren, um klar einen Bezug zwischen Nachweis und klinischer Relevanz herzustellen (Siddiqui and Jamidar 2012).



In einer Studie von Kozarek et al., in der die bakterielle Besiedlung des Pankreasgangs nach Stent-Therapie untersucht wurde, konnte ebenfalls kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Stent-Therapie und Infektionsrisiko dargestellt werden. Drei der von ihm untersuchten Patienten entwickelten eine Pankreasinfektion. Allerdings war weder die Stent-Therapie an sich noch eine beobachtete Stent-Okklusion als Ursache der Infektion sicher feststellbar. Mögliche Gründe für die eingeschränkte Aussagekraft waren unter anderem die kleine Untersuchungsgruppe, die nur 36 Pankreas-Stents umfasste, und die sehr häufig beobachtete Stent-Okklusion auch bei Studienteilnehmern, die keine klinische Symptomatik entwickelten (Kozarek, Hovde et al. 2003).

Neben den Pankreasinfektionen ist die Stent-Okklusion eine weitere Komplikation, die im engen Zusammenhang mit einer mikrobiellen Kontamination zu stehen scheint. Die Okklusionsrate nimmt, wie in der Einleitung bereits erwähnt, mit steigender Liegedauer zu und betrifft nach drei Monaten Liegedauer nahezu alle Stents (Ikenberry, Sherman et al. 1994, Farnbacher, Radespiel-Troger et al. 2006). Es ist bekannt, dass Bakterien und ihre Fähigkeit, einen widerstandsfähigen Biofilm zu produzieren, eine wichtige Rolle beim Stent-Verschluss spielen (Provansal-Cheyran, Bernard et al. 1989, Farnbacher, Voll et al. 2005). Guaglianone et al. untersuchte hierzu das mikrobielle Milieu im Inneren von Gallengang-Stents und die Fähigkeit der nachgewiesenen Mikroorganismen einen Biofilm zu produzieren. Es konnte gezeigt werden, dass anaerobe Bakterien (Stent-Besiedlungsrate 57 %) durch ihre Fähigkeit, sowohl Schleim als auch Biofilm zu produzieren, wahrscheinlich einen negativen Einfluss auf die Stent-Okklusion nehmen. Vor allem die Gattungen Clostridium, Peptostreptococcus, Bacteroides, Fusobacterium, Prevotella und Veillonella zeigten bei in-vitro Versuchen diese Eigenschaften in ausgeprägter Form (Guaglianone, Cardines et al. 2010).

In der vorliegenden Arbeit konnte ebenfalls ein hoher Anteil an anaeroben Bakterien nachgewiesen werden (Stent-Besiedlungsrate 55 %) der in Abhängigkeit der Liegedauer signifikante Unterschiede im Sinne einer erhöhten Besiedlungsrate aufwies. So waren nur 18 % der Stents der *kurzen Liegedauer*, hingegen aber 69 % der Stents der *langen Liegedauer* mit anaeroben Bakterien besiedelt. Die Gattungen Prevotella (*KL* 18 % vs. *LL* 55 %) und Veillonella (*KL* 0 % vs. *LL* 14 %) verzeichneten hierbei den größten Zuwachs. Da bekannt ist, dass die Stent-Okklusionsrate stark mit

der Liegedauer zunimmt, kann vermutet werden, dass die Zunahme an anaeroben Bakterien bei steigender Liegedauer die Okklusionsrate negativ beeinflusst (Ikenberry, Sherman et al. 1994, Farnbacher, Radespiel-Troger et al. 2006).

Da in der vorliegenden Arbeit die Stents nicht auf ihre Okklusionsrate hin untersucht wurden, verbleibt schlussendlich dieser Aspekt Gegenstand aktueller Spekulation und Fragestellung zukünftiger Arbeiten.

## 6. Zusammenfassung

Die Pankreas-Stent-Therapie ist ein etabliertes Verfahren zur Prävention und zur Therapie verschiedener Erkrankungen der Bauchspeicheldrüse. Durch die Stent-Einlage besteht das Risiko, dass Mikroorganismen in das sterile Pankreas-System eindringen. Welche Mikroorganismen sich im Inneren von Pankreas-Stents ansiedeln und wie sich das Spektrum mit zunehmender in-situ Dauer verändert, untersuchte die vorliegende Arbeit.

In dieser prospektiven Studie wurden 40 Pankreas-Stents mit unterschiedlicher Liegedauer mikrobiologisch analysiert. Die Untersuchungen umfassten zur besseren Sensitivität biofilmbildender Bakterien, die Verwendung einer Ultraschallwellenbehandlung.

Die Auswertung erfolgte in drei Gruppen: Gruppe 1 schloss alle untersuchten Stents ein und bildete das Keimspektrum unabhängig von der Liegedauer ab. Gruppe 2 wertete Stents mit einer *kurzen Liegedauer* zwischen 3 und 13 Tagen aus und Gruppe 3 umfasste die Stents mit einer *langen Liegedauer* zwischen 29 und 93 Tagen.

Die untersuchten Stents zeigten eine hohe mikrobiologische Kolonisationsrate. Es zeigte sich, dass 97,5 % der Stents mit mindestens einer Mikroorganismenart besiedelt waren. Im Median wurden 3,5 Mikroorganismenarten pro Stent isoliert. In absteigender Häufigkeit waren Stents besiedelt mit aerobe, grampositive Bakterien (95 %), aerobe, gramnegative Bakterien (80 %), Pilzen (58 %) und Anaerobier (55 %). Am häufigsten waren die Arten *Streptococcus anginosus* (53 %) und *Enterococcus faecalis* (48 %) vertreten. Stents der *kurzen Liegedauer* waren überwiegend mit grampositiven Bakterien (82 %) besiedelt, wohingegen Stents der *langen Liegedauer* ein ausgeglichenes Besiedlungsmuster zeigten. Signifikante Unterschiede, im Sinne einer erhöhten Besiedlungsrate in der Gruppe der *langen Liegedauer*, zeigten Anaerobier (*KL* 18 % vs. *LL* 69 %, p-Wert < 0,01) und aerobe, gramnegative Bakterien (*KL* 45 % vs. *LL* 93 %, p-Wert < 0,01).

Die vorliegende Arbeit konnte umfangreiche Daten zur mikrobiellen Besiedlung von Pankreas-Stents liefern und zeigte, dass das mikrobielle Keimspektrum sich mit der Liegedauer verändert. Die klinische Relevanz der Ergebnisse blieb jedoch unklar und wirft Fragestellungen für zukünftige Studien auf.

## 7. Vorveröffentlichungen

Teile dieser Arbeit wurden in folgenden Publikationen veröffentlicht:

Schneider, J., P. Schenk, A. Obermeier, J. Fremd, S. Feihl, S. Forkl, N. Wantia, F. Rommler, B. Neu, M. Bajbouj, S. von Delius, R. M. Schmid, H. Algul and A. Weber (2015). "Microbial colonization of pancreatic duct stents: a prospective analysis." Pancreas **44**(5): 786-790.

Schneider, J., A. Hapfelmeier, J. Fremd, P. Schenk, A. Obermeier, R. Burgkart, S. Forkl, S. Feihl, N. Wantia, B. Neu, M. Bajbouj, S. von Delius, R. M. Schmid, H. Algul and A. Weber (2014). "Biliary endoprosthesis: a prospective analysis of bacterial colonization and risk factors for sludge formation." PLoS One **9**(10): e110112.

## 8. Literaturverzeichnis

Afghani, E., V. S. Akshintala, M. A. Khashab, J. K. Law, S. M. Hutfless, K. J. Kim, A. M. Lennon, A. N. Kalloo and V. K. Singh (2014). "5-Fr vs. 3-Fr pancreatic stents for the prevention of post-ERCP pancreatitis in high-risk patients: a systematic review and network meta-analysis." Endoscopy **46**(7): 573-580.

Ahmed Ali, U., J. M. Pahlplatz, W. H. Nealon, H. van Goor, H. G. Gooszen and M. A. Boermeester (2015). "Endoscopic or surgical intervention for painful obstructive chronic pancreatitis." Cochrane Database Syst Rev(3): Cd007884.

Alvarez, C., M. Robert, S. Sherman and H. A. Reber (1994). "Histologic changes after stenting of the pancreatic duct." Arch Surg **129**(7): 765-768.

Amato, S. M. and M. P. Brynildsen (2014). "Nutrient transitions are a source of persisters in Escherichia coli biofilms." PLoS One **9**(3): e93110.

Ambekar, S. and A. Nanda (2013). "Charles Stent and the mystery behind the word "stent"." J Neurosurg **119**(3): 774-777.

Andren-Sandberg, A. and C. Dervenis (2004). "Pancreatic pseudocysts in the 21st century. Part I: classification, pathophysiology, anatomic considerations and treatment." Jop **5**(1): 8-24.

Asam, D. and B. Spellerberg (2014). "Molecular pathogenicity of Streptococcus anginosus." Mol Oral Microbiol **29**(4): 145-155.

Avula, H. and S. Sherman (2010). "What is the role of endotherapy in chronic pancreatitis?" Therap Adv Gastroenterol **3**(6): 367-382.

Baba, N., S. Samson, R. Bourdet-Sicard, M. Rubio and M. Sarfati (2008). "Commensal bacteria trigger a full dendritic cell maturation program that promotes the expansion of non-Tr1 suppressor T cells." J Leukoc Biol **84**(2): 468-476.

Bakman, Y. G., K. Safdar and M. L. Freeman (2009). "Significant clinical implications of prophylactic pancreatic stent placement in previously normal pancreatic ducts." Endoscopy **41**(12): 1095-1098.

- Bartel, M. J., H. Asbun, J. Stauffer and M. Raimondo (2015). "Pancreatic exocrine insufficiency in pancreatic cancer: A review of the literature." Dig Liver Dis **47**(12): 1013-1020.
- Basioukas, P., A. Vezakis, O. Zarkotou, G. Fragulidis, K. Themeli-Digalaki, S. Rizos and A. Polydorou (2014). "Isolated microorganisms in plastic biliary stents placed for benign and malignant diseases." Ann Gastroenterol **27**(4): 399-403.
- Beger, H. G., R. Bittner, S. Block and M. Buchler (1986). "Bacterial contamination of pancreatic necrosis. A prospective clinical study." Gastroenterology **91**(2): 433-438.
- Bertazzoni Minelli, E., A. Benini, L. Franco, C. Bassi and P. Pederzoli (2008). "Piperacillin-tazobactam penetration into human pancreatic juice." Antimicrob Agents Chemother **52**(11): 4149-4152.
- Bhandari, S., A. Sharma, R. Bathini and A. Maydeo (2016). "Endoscopic management of internally migrated pancreatic duct stents (with video)." Indian J Gastroenterol **35**(2): 91-100.
- Bhattacharya, M., D. J. Wozniak, P. Stoodley and L. Hall-Stoodley (2015). "Prevention and treatment of Staphylococcus aureus biofilms." Expert Rev Anti Infect Ther **13**(12): 1499-1516.
- Bik, E. M., P. B. Eckburg, S. R. Gill, K. E. Nelson, E. A. Purdom, F. Francois, G. Perez-Perez, M. J. Blaser and D. A. Relman (2006). "Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach." Proc Natl Acad Sci U S A **103**(3): 732-737.
- Binmoeller, K. F., H. Seifert, A. Walter and N. Soehendra (1995). "Transpapillary and transmural drainage of pancreatic pseudocysts." Gastrointest Endosc **42**(3): 219-224.
- Buscaglia, J. M. and A. N. Kalloo (2007). "Pancreatic sphincterotomy: technique, indications, and complications." World J Gastroenterol **13**(30): 4064-4071.
- Cahen, D. L., D. J. Gouma, Y. Nio, E. A. Rauws, M. A. Boermeester, O. R. Busch, J. Stoker, J. S. Lameris, M. G. Dijkgraaf, K. Huibregtse and M. J. Bruno (2007). "Endoscopic versus surgical drainage of the pancreatic duct in chronic pancreatitis." N Engl J Med **356**(7): 676-684.

- Caminero, A., H. J. Galipeau, J. L. McCarville, C. W. Johnston, S. P. Bernier, A. K. Russell, J. Jury, A. R. Herran, J. Casqueiro, J. A. Tye-Din, M. G. Surette, N. A. Magarvey, D. Schuppan and E. F. Verdu (2016). "Duodenal Bacteria From Patients With Celiac Disease and Healthy Subjects Distinctly Affect Gluten Breakdown and Immunogenicity." Gastroenterology **151**(4): 670-683.
- Caspary, W. F., M. Kist and J. Stein (2006). Infektiologie des Gastrointestinaltraktes, Springer.
- Catalano, M. F., J. E. Geenen, M. J. Schmalz, G. K. Johnson, R. S. Dean and W. J. Hogan (1995). "Treatment of pancreatic pseudocysts with ductal communication by transpapillary pancreatic duct endoprosthesis." Gastrointest Endosc **42**(3): 214-218.
- Cha, S. W., W. D. Leung, G. A. Lehman, J. L. Watkins, L. McHenry, E. L. Fogel and S. Sherman (2013). "Does leaving a main pancreatic duct stent in place reduce the incidence of precut biliary sphincterotomy-associated pancreatitis? A randomized, prospective study." Gastrointest Endosc **77**(2): 209-216.
- Chandra, J. and P. K. Mukherjee (2015). "Candida Biofilms: Development, Architecture, and Resistance." Microbiol Spectr **3**(4).
- Chen, Y., Y. He, J. Zhao, Y. Liu, Y. F. Liu, H. L. Cao, H. He, Z. Q. Gao and K. F. Dou (2004). "[The classification and management of pancreatic duct stone]." Zhonghua Wai Ke Za Zhi **42**(7): 417-420.
- Choi, E. K. and G. A. Lehman (2012). "Update on endoscopic management of main pancreatic duct stones in chronic calcific pancreatitis." Korean J Intern Med **27**(1): 20-29.
- Choi, K. S. and M. H. Kim (2006). "Extracorporeal shock wave lithotripsy for the treatment of pancreatic duct stones." J Hepatobiliary Pancreat Surg **13**(2): 86-93.
- Cicek, B., E. Parlak, D. Oguz, S. Disibeyaz, A. S. Koksall and B. Sahin (2006). "Endoscopic treatment of pancreatic fistulas." Surg Endosc **20**(11): 1706-1712.
- Costamagna, G., M. Bulajic, A. Tringali, M. Pandolfi, A. Gabbrielli, C. Spada, L. Petruzzello, P. Familiari and M. Mutignani (2006). "Multiple stenting of refractory pancreatic duct strictures in severe chronic pancreatitis: long-term results." Endoscopy **38**(3): 254-259.

- Costerton, J. W., L. Montanaro and C. R. Arciola (2005). "Biofilm in implant infections: its production and regulation." Int J Artif Organs **28**(11): 1062-1068.
- Cucu, A., R. Cornila, A. Cristian, L. Durach and R. Sculeanu (2003). "[Pancreatic pseudo-cyst]." Chirurgia (Bucur) **98**(4): 337-340.
- Das, R., G. I. Papachristou, A. Slivka, J. J. Easler, J. Chennat, J. Malin, J. B. Herman, S. N. Laique, U. Hayat, Y. S. Ooi, M. Rabinovitz, D. Yadav and A. A. Siddiqui (2016). "Endotherapy is effective for pancreatic ductal disruption: A dual center experience." Pancreatology **16**(2): 278-283.
- de la Fuente-Nunez, C., F. Reffuveille, L. Fernandez and R. E. Hancock (2013). "Bacterial biofilm development as a multicellular adaptation: antibiotic resistance and new therapeutic strategies." Curr Opin Microbiol **16**(5): 580-589.
- Del Piano, M., P. Strozzi, M. Barba, S. Allesina, F. Deidda, P. Lorenzini, L. Morelli, S. Carmagnola, M. Pagliarulo, M. Balzarini, M. Ballare, M. Orsello, F. Montino, M. Sartori, E. Garello and L. Capurso (2008). "In vitro sensitivity of probiotics to human pancreatic juice." J Clin Gastroenterol **42 Suppl 3 Pt 2**: S170-173.
- Delhaye, M., C. Matos and J. Deviere (2003). "Endoscopic management of chronic pancreatitis." Gastrointest Endosc Clin N Am **13**(4): 717-742.
- Delhaye, M., A. Vandermeeren, M. Baize and M. Cremer (1992). "Extracorporeal shock-wave lithotripsy of pancreatic calculi." Gastroenterology **102**(2): 610-620.
- Dellinger, E. P., J. M. Tellado, N. E. Soto, S. W. Ashley, P. S. Barie, T. Dugernier, C. W. Imrie, C. D. Johnson, H. P. Knaebel, P. F. Laterre, E. Maravi-Poma, J. J. Kissler, M. Sanchez-Garcia and S. Utzolino (2007). "Early antibiotic treatment for severe acute necrotizing pancreatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled study." Ann Surg **245**(5): 674-683.
- Derrien, M. and J. E. van Hylekama Vlieg (2015). "Fate, activity, and impact of ingested bacteria within the human gut microbiota." Trends Microbiol **23**(6): 354-366.
- Deviere, J. (2005). "Why do pancreatic stents become occluded?" Gastrointest Endosc **61**(7): 867-868.
- Deviere, J. (2011). "Pancreatic stents." Gastrointest Endosc Clin N Am **21**(3): 499-510, ix.



Dial, M. S. (2009). "Proton pump inhibitor use and enteric infections." Am J Gastroenterol **104 Suppl 2**: S10-16.

Dicksved, J., M. Lindberg, M. Rosenquist, H. Enroth, J. K. Jansson and L. Engstrand (2009). "Molecular characterization of the stomach microbiota in patients with gastric cancer and in controls." J Med Microbiol **58**(Pt 4): 509-516.

Dite, P., M. Ruzicka, V. Zboril and I. Novotny (2003). "A prospective, randomized trial comparing endoscopic and surgical therapy for chronic pancreatitis." Endoscopy **35**(7): 553-558.

Drake, D. H. and W. J. Fry (1989). "Ductal drainage for chronic pancreatitis." Surgery **105**(2 Pt 1): 131-140.

Dumonceau, J. M., A. Andriulli, J. Deviere, A. Mariani, J. Rigaux, T. H. Baron and P. A. Testoni (2010). "European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline: prophylaxis of post-ERCP pancreatitis." Endoscopy **42**(6): 503-515.

Dumonceau, J. M., M. Delhaye, A. Tringali, J. E. Dominguez-Munoz, J. W. Poley, M. Arvanitaki, G. Costamagna, F. Costea, J. Deviere, P. Eisendrath, S. Lakhtakia, N. Reddy, P. Fockens, T. Ponchon and M. Bruno (2012). "Endoscopic treatment of chronic pancreatitis: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Clinical Guideline." Endoscopy **44**(8): 784-800.

Dumonceau, J. M., J. Deviere, O. Le Moine, M. Delhaye, A. Vandermeeren, M. Baize, D. Van Gansbeke and M. Cremer (1996). "Endoscopic pancreatic drainage in chronic pancreatitis associated with ductal stones: long-term results." Gastrointest Endosc **43**(6): 547-555.

Ebbelohj, N., L. Borly, J. Bulow, S. G. Rasmussen and P. Madsen (1990). "Evaluation of pancreatic tissue fluid pressure and pain in chronic pancreatitis. A longitudinal study." Scand J Gastroenterol **25**(5): 462-466.

Elton, E., D. A. Howell, W. G. Parsons, T. Qaseem and B. L. Hanson (1998). "Endoscopic pancreatic sphincterotomy: indications, outcome, and a safe stentless technique." Gastrointest Endosc **47**(3): 240-249.

- Erdogan, A., S. S. Rao, D. Gulley, C. Jacobs, Y. Y. Lee and C. Badger (2015). "Small intestinal bacterial overgrowth: duodenal aspiration vs glucose breath test." Neurogastroenterol Motil **27**(4): 481-489.
- Fan, J. H., J. B. Qian, Y. M. Wang, R. H. Shi and C. J. Zhao (2015). "Updated meta-analysis of pancreatic stent placement in preventing post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis." World J Gastroenterol **21**(24): 7577-7583.
- Farnbacher, M. J., L. Berner, M. Raithel, E. G. Hahn and H. T. Schneider (2011). "Cleaning of occluded pancreatic duct endoprosthesis: a new indication for extracorporeal shock wave lithotripsy?" Gastrointest Endosc **74**(3): 527-534.
- Farnbacher, M. J., S. Muhldorfer, M. Wehler, B. Fischer, E. G. Hahn and H. T. Schneider (2006). "Interventional endoscopic therapy in chronic pancreatitis including temporary stenting: a definitive treatment?" Scand J Gastroenterol **41**(1): 111-117.
- Farnbacher, M. J., M. Radespiel-Troger, M. D. Konig, M. Wehler, E. G. Hahn and H. T. Schneider (2006). "Pancreatic endoprosthesis in chronic pancreatitis: criteria to predict stent occlusion." Gastrointest Endosc **63**(1): 60-66.
- Farnbacher, M. J., R. E. Voll, R. Faissner, M. Wehler, E. G. Hahn, M. Lohr and H. T. Schneider (2005). "Composition of clogging material in pancreatic endoprosthesis." Gastrointest Endosc **61**(7): 862-866.
- Fox, E. P., E. S. Cowley, C. J. Nobile, N. Hartooni, D. K. Newman and A. D. Johnson (2014). "Anaerobic bacteria grow within *Candida albicans* biofilms and induce biofilm formation in suspension cultures." Curr Biol **24**(20): 2411-2416.
- Freeman, M. L. (2002). "Adverse outcomes of endoscopic retrograde cholangiopancreatography." Rev Gastroenterol Disord **2**(4): 147-168.
- Gao, F., S. Ma, N. Zhang, Y. Zhang, M. Ai and B. Wang (2014). "Clinical efficacy of endoscopic pancreatic drainage for pain relief with malignant pancreatic duct obstruction." Asian Pac J Cancer Prev **15**(16): 6823-6827.
- Garsin, D. A. and M. C. Lorenz (2013). "Candida albicans and Enterococcus faecalis in the gut: synergy in commensalism?" Gut Microbes **4**(5): 409-415.

Gregg, J. A. (1977). "Detection of bacterial infection of the pancreatic ducts in patients with pancreatitis and pancreatic cancer during endoscopic cannulation of the pancreatic duct." Gastroenterology **73**(5): 1005-1007.

Guaglianone, E., R. Cardines, C. Vuotto, R. Di Rosa, V. Babini, P. Mastrantonio and G. Donelli (2010). "Microbial biofilms associated with biliary stent clogging." FEMS Immunol Med Microbiol **59**(3): 410-420.

Gupta, R. and D. N. Reddy (2011). "Stent selection for both biliary and pancreatic strictures caused by chronic pancreatitis: multiple plastic stents or metallic stents?" J Hepatobiliary Pancreat Sci **18**(5): 636-639.

Hall-Stoodley, L. and P. Stoodley (2009). "Evolving concepts in biofilm infections." Cell Microbiol **11**(7): 1034-1043.

Harmsen, H. J. and M. C. de Goffau (2016). "The Human Gut Microbiota." Adv Exp Med Biol **902**: 95-108.

Hauser, G., M. Milosevic, D. Stimac, E. Zerem, P. Jovanovic and I. Blazevic (2015). "Preventing post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: what can be done?" World J Gastroenterol **21**(4): 1069-1080.

Heiman, M. L. and F. L. Greenway (2016). "A healthy gastrointestinal microbiome is dependent on dietary diversity." Mol Metab **5**(5): 317-320.

Hill, S. K., C. Bhalla and A. Thomson (2012). "Risk of bacterial colonization of pancreatic stents used in endoscopic retrograde cholangiopancreatography." J Clin Gastroenterol **46**(4): 324-327.

Hiramoto, K., M. Kuroki, E. Nakano, N. Kanno, Y. Matsumura, A. Miura, Y. Kikuchi, H. Hirakawa and M. Matsuda (2011). "[Endoscopic pancreatic stenting was effective in a case of pancreatic duct disruption and leakage due to pancreatic cancer]." Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi **108**(4): 650-657.

Hollender, L. F. and J. Bahnini (1988). Chirurgische Anatomie des Pankreas. Pankreaschirurgie. L. F. Hollender and H. J. Peiper. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 9-29.

Hollister, E. B., K. Riehle, R. A. Luna, E. M. Weidler, M. Rubio-Gonzales, T. A. Mistretta, S. Raza, H. V. Doddapaneni, G. A. Metcalf, D. M. Muzny, R. A. Gibbs, J.

F. Petrosino, R. J. Shulman and J. Versalovic (2015). "Structure and function of the healthy pre-adolescent pediatric gut microbiome." Microbiome **3**: 36.

Howard, T. J. and M. B. Temple (2002). "Prophylactic antibiotics alter the bacteriology of infected necrosis in severe acute pancreatitis." J Am Coll Surg **195**(6): 759-767.

Ikenberry, S. O., S. Sherman, R. H. Hawes, M. Smith and G. A. Lehman (1994). "The occlusion rate of pancreatic stents." Gastrointest Endosc **40**(5): 611-613.

Isenmann, R., M. Runzi, M. Kron, S. Kahl, D. Kraus, N. Jung, L. Maier, P. Malfertheiner, H. Goebell and H. G. Beger (2004). "Prophylactic antibiotic treatment in patients with predicted severe acute pancreatitis: a placebo-controlled, double-blind trial." Gastroenterology **126**(4): 997-1004.

Ito, K., N. Fujita, Y. Noda, G. Kobayashi, T. Obana, J. Horaguchi, O. Takasawa, S. Koshita and Y. Kanno (2008). "Pancreatic guidewire placement for achieving selective biliary cannulation during endoscopic retrograde cholangio-pancreatography." World J Gastroenterol **14**(36): 5595-5600; discussion 5599.

Jagielski, M., M. Smoczynski and K. Adrych (2017). "The role of transpapillary drainage in management of patients with pancreatic fluid collections and pancreatic duct disruption as a consequences of severe acute pancreatitis." Pancreatology **17**(1): 30-31.

Jandhyala, S. M., R. Talukdar, C. Subramanyam, H. Vuyyuru, M. Sasikala and D. Nageshwar Reddy (2015). "Role of the normal gut microbiota." World J Gastroenterol **21**(29): 8787-8803.

Johanson, J. F., M. J. Schmalz and J. E. Geenen (1992). "Incidence and risk factors for biliary and pancreatic stent migration." Gastrointest Endosc **38**(3): 341-346.

Joo, Y. W., J. H. Yoon, S. C. Cho, K. N. Lee, N. R. Ha, H. L. Lee, O. Y. Lee, B. C. Yoon, H. S. Choi, J. S. Hahm, D. H. Lee and M. H. Lee (2009). "Endoscopic pancreatic sphincterotomy: indications and complications." Korean J Intern Med **24**(3): 190-195.

Justesen, T., O. H. Nielsen, I. E. Jacobsen, J. Lave and S. N. Rasmussen (1984). "The normal cultivable microflora in upper jejunal fluid in healthy adults." Scand J Gastroenterol **19**(2): 279-282.

- Kahaleh, M. and M. Freeman (2012). "Prevention and Management of Post-Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography Complications." Clin Endosc **45**(3): 305-312.
- Karanjia, N. D., A. L. Widdison, F. Leung, C. Alvarez, F. J. Lutrín and H. A. Reber (1994). "Compartment syndrome in experimental chronic obstructive pancreatitis: effect of decompressing the main pancreatic duct." Br J Surg **81**(2): 259-264.
- Kawahara, I., K. Maeda, S. Ono, H. Kawashima, R. Deie, S. Yanagisawa, K. Baba, Y. Usui, Y. Tsuji, A. Fukuta and S. Sekine (2014). "Surgical reconstruction and endoscopic pancreatic stent for traumatic pancreatic duct disruption." Pediatr Surg Int **30**(9): 951-956.
- Keller, P. J. and B. J. Allan (1967). "The protein composition of human pancreatic juice." Journal of Biological Chemistry **242**(2): 281-287.
- Khalifa, L., Y. Brosh, D. Gelman, S. Copenhagen-Glazer, S. Beyth, R. Poradosu-Cohen, Y. A. Que, N. Beyth and R. Hazan (2015). "Targeting Enterococcus faecalis biofilms with phage therapy." Appl Environ Microbiol **81**(8): 2696-2705.
- Kobayashi, H., M. Oethinger, M. J. Tuohy, G. W. Procop and T. W. Bauer (2009). "Improved detection of biofilm-formative bacteria by vortexing and sonication: a pilot study." Clin Orthop Relat Res **467**(5): 1360-1364.
- Kochhar, R., M. K. Goenka, B. Nagi and K. Singh (1995). "Pancreatic ascites and pleural effusion treated by endoscopic pancreatic stent placement." Indian J Gastroenterol **14**(3): 106-107.
- Kondo, N., K. Ikawa, Y. Murakami, K. Uemura, T. Sudo, Y. Hashimoto, H. Ohge, N. Morikawa and T. Sueda (2014). "Clinical pharmacokinetics of meropenem in pancreatic juice and site-specific pharmacodynamic target attainment against Gram-negative bacteria: dosing considerations." Pancreatology **14**(2): 95-99.
- Kostrzewska, M., A. Baniukiewicz, E. Wroblewski, W. Laszewicz, A. Swidnicka-Siergiejko, G. Piotrowska-Staworko, J. W. Dlugosz and A. Dabrowski (2011). "Complications of endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) and their risk factors." Adv Med Sci **56**(1): 6-12.

- Kozarek, R., O. Hovde, F. Attia and R. France (2003). "Do pancreatic duct stents cause or prevent pancreatic sepsis?" Gastrointest Endosc **58**(4): 505-509.
- Kozarek, R. A. (1990). "Pancreatic stents can induce ductal changes consistent with chronic pancreatitis." Gastrointest Endosc **36**(2): 93-95.
- Kruszewska, D., A. Ljungh, S. O. Hynes and S. G. Pierzynowski (2004). "Effect of the antibacterial activity of pig pancreatic juice on human multiresistant bacteria." Pancreas **28**(2): 191-199.
- Kushak, R. I., H. S. Winter, T. M. Buie, S. B. Cox, C. D. Phillips and N. L. Ward (2016). "Analysis of the Duodenal Microbiome in Autistic Individuals: Association with Carbohydrate Digestion." J Pediatr Gastroenterol Nutr.
- Lahoti, S., M. F. Catalano, J. E. Geenen and M. J. Schmalz (1998). "Endoscopic retrieval of proximally migrated biliary and pancreatic stents: experience of a large referral center." Gastrointest Endosc **47**(6): 486-491.
- Lee, T. H. and D. H. Park (2014). "Endoscopic prevention of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis." World J Gastroenterol **20**(44): 16582-16595.
- Leung, J. W., Y. L. Liu, T. Desta, E. Libby, J. F. Inciardi and K. Lam (1998). "Is there a synergistic effect between mixed bacterial infection in biofilm formation on biliary stents?" Gastrointest Endosc **48**(3): 250-257.
- Li, G., M. Yang, K. Zhou, L. Zhang, L. Tian, S. Lv, Y. Jin, W. Qian, H. Xiong, R. Lin, Y. Fu and X. Hou (2015). "Diversity of Duodenal and Rectal Microbiota in Biopsy Tissues and Luminal Contents in Healthy Volunteers." J Microbiol Biotechnol **25**(7): 1136-1145.
- Libby, E. D. and J. W. Leung (1996). "Prevention of biliary stent clogging: a clinical review." Am J Gastroenterol **91**(7): 1301-1308.
- Mangiavillano, B., N. Pagano, T. H. Baron and C. Luigiano (2015). "Outcome of stenting in biliary and pancreatic benign and malignant diseases: A comprehensive review." World J Gastroenterol **21**(30): 9038-9054.

- Marotta, F., H. Tajiri, Z. L. Li, R. Barreto, O. Bellini and G. Barbi (1997). "Pure pancreatic juice from patients with chronic pancreatitis has an impaired antibacterial activity." Int J Pancreatol **22**(3): 215-220.
- Martinsen, T. C., K. Bergh and H. L. Waldum (2005). "Gastric juice: a barrier against infectious diseases." Basic Clin Pharmacol Toxicol **96**(2): 94-102.
- Matsumoto, K., A. Katanuma and H. Maguchi (2014). "Endoscopic removal technique of migrated pancreatic plastic stents." J Hepatobiliary Pancreat Sci **21**(6): E34-40.
- Maydeo, A., N. Soehendra, N. Reddy and S. Bhandari (2007). "Endotherapy for chronic pancreatitis with intracanalicular stones." Endoscopy **39**(7): 653-658.
- Minelli, E. B., A. Benini, C. Bassi, H. Abbas, M. Falconi, F. Locatelli, R. de Marco and P. Pederzoli (1996). "Antimicrobial activity of human pancreatic juice and its interaction with antibiotics." Antimicrob Agents Chemother **40**(9): 2099-2105.
- Morgan, D. E., J. K. Smith, K. Hawkins and C. M. Wilcox (2003). "Endoscopic stent therapy in advanced chronic pancreatitis: relationships between ductal changes, clinical response, and stent patency." Am J Gastroenterol **98**(4): 821-826.
- Nakahara, K., C. Okuse, K. Suetani, Y. Michikawa, S. Kobayashi, T. Otsubo and F. Itoh (2014). "Need for pancreatic stenting after sphincterotomy in patients with difficult cannulation." World J Gastroenterol **20**(26): 8617-8623.
- Nguyen, L. L., C. L. Nelson, M. Saccente, M. S. Smeltzer, D. L. Wassell and S. G. McLaren (2002). "Detecting bacterial colonization of implanted orthopaedic devices by ultrasonication." Clin Orthop Relat Res(403): 29-37.
- Nobile, C. J. and A. D. Johnson (2015). "Candida albicans Biofilms and Human Disease." Annu Rev Microbiol **69**: 71-92.
- Nueno-Palop, C. and A. Narbad (2011). "Probiotic assessment of Enterococcus faecalis CP58 isolated from human gut." Int J Food Microbiol **145**(2-3): 390-394.
- O'Hara, A. M. and F. Shanahan (2006). "The gut flora as a forgotten organ." EMBO Rep **7**(7): 688-693.

- Occhionorelli, S., L. Morganti, R. Cultrera, D. Andreotti, S. Maccatrozzo, L. Cappellari, R. Stano and G. Vasquez (2015). "Acute necrotizing pancreatitis: can tigecycline be included in a therapeutic strategy?" G Chir **36**(1): 15-20.
- Oza, V. M. and M. Kahaleh (2013). "Endoscopic management of chronic pancreatitis." World J Gastrointest Endosc **5**(1): 19-28.
- Patti, J. M. (2005). "Vaccines and immunotherapy for staphylococcal infections." Int J Artif Organs **28**(11): 1157-1162.
- Provansal-Cheylan, M., J. P. Bernard, A. Mariani, N. Soehendra, M. Cremer, J. Sahel and H. Sarles (1989). "Occluded pancreatic endoprotheses--analysis of the clogging material." Endoscopy **21**(2): 63-69.
- Putzke, H. P., L. Jonas, R. Arendt, E. Siegmund and W. Dummmler (1982). "[Pancreatic findings after ductal occlusion in rats. A histological and biochemical study]." Dtsch Z Verdau Stoffwechselkr **42**(4): 138-147.
- Rak, M., M. KavcIc, R. Trebse and R. A. Co (2016). "Detection of bacteria with molecular methods in prosthetic joint infection: sonication fluid better than periprosthetic tissue." Acta Orthop **87**(4): 339-345.
- Rashdan, A., E. L. Fogel, L. McHenry, Jr., S. Sherman, M. Temkit and G. A. Lehman (2004). "Improved stent characteristics for prophylaxis of post-ERCP pancreatitis." Clin Gastroenterol Hepatol **2**(4): 322-329.
- Reber, P. U., A. G. Patel, M. T. Toyama, S. W. Ashley and H. A. Reber (1999). "Feline model of chronic obstructive pancreatitis: effects of acute pancreatic duct decompression on blood flow and interstitial pH." Scand J Gastroenterol **34**(4): 439-444.
- Ringel-Kulka, T., J. Cheng, Y. Ringel, J. Salojarvi, I. Carroll, A. Palva, W. M. de Vos and R. Satokari (2013). "Intestinal microbiota in healthy U.S. young children and adults--a high throughput microarray analysis." PLoS One **8**(5): e64315.
- Rogers, G. B., M. R. Narkewicz and L. R. Hoffman (2016). "The CF gastrointestinal microbiome: Structure and clinical impact." Pediatr Pulmonol **51**(S44): S35-s44.



Rubinstein, E., Z. Mark, J. Haspel, G. Ben-Ari, Z. Dreznik, D. Mirelman and A. Tadmor (1985). "Antibacterial activity of the pancreatic fluid." Gastroenterology **88**(4): 927-932.

Schneider, J., A. Hapfelmeier, J. Fremd, P. Schenk, A. Obermeier, R. Burgkart, S. Forkl, S. Feihl, N. Wantia, B. Neu, M. Bajbouj, S. von Delius, R. M. Schmid, H. Algul and A. Weber (2014). "Biliary endoprosthesis: a prospective analysis of bacterial colonization and risk factors for sludge formation." PLoS One **9**(10): e110112.

Seicean, A. and S. Vultur (2015). "Endoscopic therapy in chronic pancreatitis: current perspectives." Clin Exp Gastroenterol **8**: 1-11.

Shah, R. J. and S. P. Martin (2000). "Endoscopic retrograde cholangiopancreatography in the diagnosis and management of pancreatic diseases." Curr Gastroenterol Rep **2**(2): 133-145.

Sherman, S., R. H. Hawes, T. J. Savides, F. G. Gress, S. O. Ikenberry, M. T. Smith, S. Zaidi and G. A. Lehman (1996). "Stent-induced pancreatic ductal and parenchymal changes: correlation of endoscopic ultrasound with ERCP." Gastrointest Endosc **44**(3): 276-282.

Sherman, S., G. A. Lehman, R. H. Hawes, T. Ponich, L. S. Miller, L. B. Cohen, P. Kortan and G. B. Haber (1991). "Pancreatic ductal stones: frequency of successful endoscopic removal and improvement in symptoms." Gastrointest Endosc **37**(5): 511-517.

Shi, Q. Q., X. Y. Ning, L. L. Zhan, G. D. Tang and X. P. Lv (2014). "Placement of prophylactic pancreatic stents to prevent post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis in high-risk patients: A meta-analysis." World J Gastroenterol **20**(22): 7040-7048.

Shrode, C. W., P. Macdonough, M. Gaidhane, P. G. Northup, B. Sauer, J. Ku, K. Ellen, V. M. Shami and M. Kahaleh (2013). "Multimodality endoscopic treatment of pancreatic duct disruption with stenting and pseudocyst drainage: how efficacious is it?" Dig Liver Dis **45**(2): 129-133.

Siddiqui, U. D. and P. A. Jamidar (2012). "Bacterial colonization of pancreatic stents: incidental finding or cause for concern?" J Clin Gastroenterol **46**(4): 255-256.

- Smits, M. E., S. M. Badiga, E. A. Rauws, G. N. Tytgat and K. Huibregtse (1995). "Long-term results of pancreatic stents in chronic pancreatitis." Gastrointest Endosc **42**(5): 461-467.
- Sobotta, J. (1916). Anatomie der bauchspeicheldrüse (pankreas), JSTOR.
- Speer, A. G., P. B. Cotton, J. Rode, A. M. Seddon, C. R. Neal, J. Holton and J. W. Costerton (1988). "Biliary stent blockage with bacterial biofilm. A light and electron microscopy study." Ann Intern Med **108**(4): 546-553.
- Sung, J. Y., J. W. Costerton and E. A. Shaffer (1992). "Defense system in the biliary tract against bacterial infection." Dig Dis Sci **37**(5): 689-696.
- Tanaka, M. (2010). "Function and dysfunction of the sphincter of Oddi." Dig Surg **27**(2): 94-99.
- Tandan, M. and D. Nageshwar Reddy (2013). "Endotherapy in chronic pancreatitis." World J Gastroenterol **19**(37): 6156-6164.
- Tandan, M., D. N. Reddy, D. Santosh, K. Vinod, M. Ramchandani, G. Rajesh, K. Rama, S. Lakhtakia, R. Banerjee, N. Pratap and G. Venkat Rao (2010). "Extracorporeal shock wave lithotripsy and endotherapy for pancreatic calculi-a large single center experience." Indian J Gastroenterol **29**(4): 143-148.
- Telford, J. J., J. J. Farrell, J. R. Saltzman, S. J. Shields, P. A. Banks, D. R. Lichtenstein, R. S. Johannes, P. B. Kelsey and D. L. Carr-Locke (2002). "Pancreatic stent placement for duct disruption." Gastrointest Endosc **56**(1): 18-24.
- Teoh, A. Y. B., V. Dhir, Z. D. Jin, M. Kida, D. W. Seo and K. Y. Ho (2016). "Systematic review comparing endoscopic, percutaneous and surgical pancreatic pseudocyst drainage." World J Gastrointest Endosc **8**(6): 310-318.
- Testoni, P. A. (2007). "Endoscopic pancreatic duct stent placement for inflammatory pancreatic diseases." World J Gastroenterol **13**(45): 5971-5978.
- Trampuz, A., K. E. Piper, M. J. Jacobson, A. D. Hanssen, K. K. Unni, D. R. Osmon, J. N. Mandrekar, F. R. Cockerill, J. M. Steckelberg, J. F. Greenleaf and R. Patel (2007). "Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection." N Engl J Med **357**(7): 654-663.

- Varadarajulu, S., S. S. Rana and D. K. Bhasin (2013). "Endoscopic therapy for pancreatic duct leaks and disruptions." Gastrointest Endosc Clin N Am **23**(4): 863-892.
- Varadarajulu, S. and C. M. Wilcox (2006). "Randomized trial comparing needle-knife and pull-sphincterotome techniques for pancreatic sphincterotomy in high-risk patients." Gastrointest Endosc **64**(5): 716-722.
- Veerachamy, S., T. Yarlagadda, G. Manivasagam and P. K. Yarlagadda (2014). "Bacterial adherence and biofilm formation on medical implants: a review." Proc Inst Mech Eng H **228**(10): 1083-1099.
- Vuotto, C., F. Longo, M. P. Balice, G. Donelli and P. E. Varaldo (2014). "Antibiotic Resistance Related to Biofilm Formation in *Klebsiella pneumoniae*." Pathogens **3**(3): 743-758.
- Wang, P., Z. S. Li, F. Liu, X. Ren, N. H. Lu, Z. N. Fan, Q. Huang, X. Zhang, L. P. He, W. S. Sun, Q. Zhao, R. H. Shi, Z. B. Tian, Y. Q. Li, W. Li and F. C. Zhi (2009). "Risk factors for ERCP-related complications: a prospective multicenter study." Am J Gastroenterol **104**(1): 31-40.
- Wang, Z. K. and Y. S. Yang (2013). "Upper gastrointestinal microbiota and digestive diseases." World J Gastroenterol **19**(10): 1541-1550.
- Wieser, A., L. Schneider, J. Jung and S. Schubert (2012). "MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-identification of microorganisms and beyond (mini review)." Appl Microbiol Biotechnol **93**(3): 965-974.
- Woods, C. M., G. M. Mawe, J. Toouli and G. T. Saccone (2005). "The sphincter of Oddi: understanding its control and function." Neurogastroenterol Motil **17 Suppl 1**: 31-40.
- Yang, I., S. Nell and S. Suerbaum (2013). "Survival in hostile territory: the microbiota of the stomach." FEMS Microbiol Rev **37**(5): 736-761.
- Yasuda, I., K. Iwata, T. Mukai, T. Iwashita and H. Moriwaki (2009). "EUS-guided pancreatic pseudocyst drainage." Dig Endosc **21 Suppl 1**: S82-86.
- Ye, F., H. Shen, Z. Li, F. Meng, L. Li, J. Yang, Y. Chen, X. Bo, X. Zhang and M. Ni (2016). "Influence of the Biliary System on Biliary Bacteria Revealed by Bacterial

Communities of the Human Biliary and Upper Digestive Tracts." PLoS One **11**(3): e0150519.

Yin, H. K., H. E. Wu, Q. X. Li, W. Wang, W. L. Ou and H. H. Xia (2016). "Pancreatic Stenting Reduces Post-ERCP Pancreatitis and Biliary Sepsis in High-Risk Patients: A Randomized, Controlled Study." Gastroenterol Res Pract **2016**: 9687052.

Zhao, X., T. Feng and W. Ji (2016). "Endoscopic versus surgical treatment for pancreatic pseudocyst." Dig Endosc **28**(1): 83-91.

Ziebert, J. J. and J. A. DiSario (1999). "Dilation of refractory pancreatic duct strictures: the turn of the screw." Gastrointest Endosc **49**(5): 632-635.

## **9. Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Andreas Weber, meinem Doktorvater für die Überlassung des Themas und die Betreuung.

Dr. med. Jochen Schneider danke ich für die kollegiale Zusammenarbeit und die Unterstützung während des Erstellungsprozesses dieser Arbeit.

Bedanken möchte ich mich auch bei den Mitarbeitern des Instituts für Mikrobiologie.

Darüber hinaus danke ich meinen Eltern, meinen Geschwistern und Raphaela für Ihre Unterstützung.

## 10. Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die bei der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Promotionsprüfung vorgelegte Arbeit mit dem Titel **Mikrobiologische Keimspektrum-Analyse intraduktaler Pankreas-Stents in Abhängigkeit der in-vivo Liegedauer** in der Klinik und Poliklinik Innere Medizin II des Klinikums rechts der Isar (Direktor: Prof. Dr. Roland M. Schmid) unter Anleitung und Betreuung durch Priv.-Doz. Dr. Andreas Weber ohne sonstige Hilfe erstellt und bei der Abfassung nur die gemäß § 6 Ab. 6 und 7 Satz 2 angebotenen Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe keine Organisation eingeschaltet, die gegen Entgelt Betreuerinnen und Betreuer für die Anfertigung von Dissertationen sucht, oder die mir obliegenden Pflichten hinsichtlich der Prüfungsleistungen für mich ganz oder teilweise erledigt.

Ich habe die Dissertation in dieser oder ähnlicher Form in keinem anderen Prüfungsverfahren als Prüfungsleistung vorgelegt.

Ich habe den angestrebten Doktorgrad noch nicht erworben und bin nicht in einem früheren Promotionsverfahren für den angestrebten Doktorgrad endgültig gescheitert.

Die öffentlich zugängliche Promotionsordnung der TUM ist mir bekannt, insbesondere habe ich die Bedeutung von § 28 (Nichtigkeit der Promotion) und § 29 (Entzug des Doktorgrads) zur Kenntnis genommen. Ich bin mir der Konsequenzen einer falschen Eidesstattlichen Erklärung bewusst.