



# DARM- GESUNDHEIT

## Granatapfelextrakt hemmt spezifisch das Wachstum und die Toxinproduktion von *Clostridium difficile*

**M**ittlerweile soll so ziemlich jede Zivilisationskrankheit – Reizdarm, Darmkrebs, Übergewicht, Nierensteine, Allergien, Diabetes, Depressionen und weitere Volkskrankheiten auf das Konto einer aus der Balance geratenen Darmgesundheit gehen. „Der Tod sitzt im Darm.“ So drastisch formulierte der Arzt Paracelsus schon im 16. Jahrhundert die Bedeutung des Darms für das gesamte Wohlbefinden des Menschen. Darmgesundheit wird heutzutage gleich gesetzt mit einem intakten intestinalen Mikrobiom (Darmmikrobiom). Das Mikrobiom bezeichnet im weiteren Sinn die Gesamtheit aller den Menschen oder andere Lebewesen besiedelnden Mikroorganismen. Im engeren Sinn wird hierdurch die Gesamtheit aller mikrobiellen Gene bezeichnet und streng genommen vom Begriff der Mikrobiota unterschieden, der die Gesamtheit aller Mikroorganismen umfasst. Für die Mikrobiomforscher ist das Darmmikrobiom, welches den Verdauungstrakt vom Mund bis zum After besiedelt, eine Art Superorgan, das mit vielen Körperfunktionen in dynamischer, wechselseitiger Verbindung steht.

### **Antibiotika als Auslöser einer Infektion mit *C. difficile***

Eine Vielzahl von externen Faktoren, u.a. die Ernährung, Stress, hygienische Bedingungen beeinflussen die Zusammensetzung des Darmmikrobioms/Darmmikrobiota.

Insbesondere Antibiotika können die Zusammensetzung der Darmflora empfindlich stören; eine Erholung tritt oft erst nach einem halben Jahr nach Beendigung der Antibiotikagabe ein. Das strikt anaerob wachsende, stäbchenförmige und sporenbildende Bakterium *Clostridium difficile* (neue Taxonomie *Clostridioides difficile*) wurde Ende der 1970er Jahre als Erreger von Durchfallerkrankungen in Zusammenhang mit Antibiotikabehandlung identifiziert<sup>1</sup>. Normalerweise ist *C. difficile* ein harmloser Geselle, der sich allgegenwärtig unter anderem in Böden und im Wasser tummelt. Er ist zudem ein Besiedler des Verdauungstrakts von Vögeln, Reptilien und vielen Säugetieren einschließlich des Menschen. Ist die Darmflora jedoch gestört, etwa durch die Einnahme von Breitbandantibiotika oder chronische Darmerkrankungen, bekommt Clostridium die Oberhand. Das Bakterium bildet Sporen, denen die Antibiotikatherapie nichts anhaben kann. Diese Sporen können in der Umwelt bis zu 100 Jahre schlummern. Schließlich keimen sie im Darm zu ihrer Stäbchenform aus und bilden Toxine, die die Darmwand reizen oder sogar lähmen.

### Zunahme von Infektionen mit *C. difficile* in der allgemeinen Bevölkerung

Neuere Untersuchungen zeigen, dass einer *Clostridium difficile* Infektion (CDI) eine Therapie mit fast jedem Antibiotikum vorausgegangen sein kann. Inzwischen ist *C. difficile* der häufigste Erreger Antibiotika-assoziiierter Durchfallerkrankungen sowohl bei Patienten im Krankenhaus (nosokomiale Infektionen) als auch bei Patienten ausserhalb des Krankenhauses (ambulant erworbene *Clostridium-difficile*-Infektion)<sup>2,3</sup>. Ambulant erworbene CDI, auch „community-acquired“ genannt, machen inzwischen Zehn bis 27 Prozent der Infektionen mit *Clostridium difficile* aus. Obwohl Antibiotika wahrscheinlich die entscheidende Rolle in der Pathogenese spielen, können grundsätzlich auch andere Bedingungen, zum Beispiel die Gabe von Protonen-Pumpen-Hemmern, die zu einer Insuffizienz der intestinalen Schleimhautbarriere führen, Kolonisation und Infektion mit *C. difficile* begünstigen. So stellen *C. difficile* Infektionen ein allgemein zunehmendes Problem mit nicht überschaubaren Konsequenzen für die allgemeine Gesundheit dar.

### *C. difficile* produziert Toxine die die Darmwand schädigen

Krankheitsauslösend wirken die Virulenzfaktoren Enterotoxin A und Cytotoxin B, von *C. difficile*, die zu einer zytotoxischen Schädigung der Intestinalzellen und damit von einfacher Irritation der Mukosa zu Magen/Darmbeschwerden, Durchfall (Diarrhö) bis hin zu akut oder chronisch verlaufende Entzündungen (Kolitiden) führen. Pathogene Stämme produzieren zumeist beide

Toxine, einige Stämme aber auch nur Cytotoxin B. Ein weiteres binäres Toxin (CDT) wird zusätzlich in einigen virulenten Stämmen exprimiert. Hypervirulente Stämme, die gleichzeitig mehrere Toxine in hoher Konzentration produzieren, sind auf dem Vormarsch. Stämme, die keine Toxine bilden können, gelten dagegen als apathogen<sup>4</sup>.

### Eine Antibiotikatherapie gegenüber *C. difficile* führt zu weiteren mikrobiellen Dysbalancen im Darm

Während im Krankenhaus bei Durchfall auf eine Infektion mit *C. difficile* untersucht wird, werden rund ein Viertel aller ambulant erworbenen (community-acquired) *Clostridium difficile*-Infektionen nicht diagnostiziert. Gründe dafür sind z.B. nur leichte Beschwerden die den Patienten nicht zum Arzt führen oder weil der Arzt keine entsprechende Diagnostik auf eine Infektion mit *C. difficile* durchführt. Vancomycin, Metronidazol und Fidaxomicin sind derzeit die Antibiotika für die Behandlung von CDI. Allerdings wird bereits von *C. difficile* Stämmen berichtet, die resistent gegenüber Metronidazol sind und eine verringerte Empfindlichkeit gegenüber Vancomycin zeigen. Zudem kommt es zu einem hohen Prozentsatz zu Rezidiven, also einem erneuten Aufflammen der CDI. Die Entwicklung von multi-resistenten Bakterien ist auf den längeren Einsatz von Antibiotika zurückzuführen. Ein interessanter Therapieansatz ist sicherlich die Applikation vitaler Bakterien („Bakterientherapie“) um eine schützende (protektive) Darmflora zu rekonstituieren. Allerdings wird der Einsatz von klassischen Probiotika, zu denen insbesondere Laktobazillen und Bifidobakterien zählen, aufgrund der eingeschränkten Qualität der meisten Studien weiterhin kontrovers diskutiert. Eine allgemeine Empfehlung ist deshalb nicht möglich auch wenn in zahlreichen Beobachtungsstudien und einer randomisiert-kontrollierten Studie die Wirksamkeit von komplexen Bakterientherapien als „Mikrobiomtransfer“ belegt ist<sup>4</sup>.

Ein weiterer interessanter Therapieansatz ist die Einnahme von pflanzlichen Stoffen, die antibakterielle Eigenschaften haben.





### Hoch wirksame antimikrobielle Substanzen im Granatapfel

Pflanzen und Extrakte aus Pflanzenmaterialien wurden in der traditionellen Medizin weltweit als antibakterielle Mittel eingesetzt<sup>5</sup>. Granatapfel Früchte (*Punica granatum* L.) werden seit Jahrhunderten für Ernährungs- und medizinische Zwecke verwendet. Granatapfelsaft ist reich an Polyphenolen. Das Ellagitannin, Punicalagin (2,3-Hexahydroxy-diphenyl-4,6-galactylglucose), ist die am häufigsten vorkommende Art von Polyphenolen im Granatapfelsaft<sup>6</sup>. Ellagitannine (ETs) gehören zur chemischen Klasse der hydrolysierbaren Tannine, die Ellagsäure (EA) bei der Hydrolyse freisetzen. In einer Reihe von früheren Studien wurden die Auswirkungen von Granatapfelpolyphenolen auf das Wachstum einzelner Bakterienarten untersucht. In einer neueren Studie konnte gezeigt werden, dass Granatapfelsaft und insbesondere ein Granatapfelextrakt aus Schalen und Samen (die nach der Safftherstellung übrig geblieben sind) das Wachstum von Bifidobakterien, Laktobazillen fördern und das Wachstum „ungünstiger“ Bakterien in Stuhlkulturen hemmen<sup>7</sup>. Also war es naheliegend anzunehmen, dass Extrakte aus Granatapfel auch *C. difficile* im Wachstum hemmen.

### Polyphenolgemisch des Granatapfels ist hoch wirksam gegenüber *C. difficile*

Auf Grund der vorliegenden wissenschaftlichen Erkenntnisse zu den antimikrobiellen Eigenschaften des Granat-

apfels, insbesondere seiner Komponenten wie der Phenole, haben wir vermutet, dass Granatapfel sowohl die Toxinproduktion von *C. difficile* Bakterien als auch deren Wachstum hemmen oder sogar unterdrücken kann. Weiterhin haben wir vermutet, dass die probiotischen Bakterien (z. B. Laktobazillen, Bifidobakterien) in ihrem Wachstum nicht beeinträchtigt sondern sogar gefördert werden. Somit haben wir uns in den letzten Jahren intensiv mit den einzelnen antimikrobiell wirksamen Komponenten des Granatapfels und deren Einfluss auf das Bakterium *C. difficile* beschäftigt. Die ersten Ergebnisse werden in der peer-reviewed Zeitschrift „Infection and Drug Resistance“ (Dovepress) veröffentlicht<sup>8</sup>. In unsere Untersuchungen haben wir zunächst vier multiresistente und hypervirulente *C. difficile* Stämme des Typs NAP1/027/BI, je einen Vertreter von *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium animalis*, und *Lactococcus lactis* spp einbezogen. Die minimale Hemmkonzentration (MHK) und die minimale bakterizide Wirkung (MBK) einer definierten Polyphenolmischung des Granatapfels bestimmten wir entsprechend den EUCAST (<http://www.eucast.org/>) Richtlinien. Zusätzlich bestimmten wir zu welchem Zeitpunkt die MHK/MBK bereits ihre volle Wirkung zeigte. Weiterhin wurde analysiert ob die Polyphenolmischung auch die Toxinproduktion der hypervirulenten *C. difficile* Stämme unterdrücken kann. Unsere Polyphenolmischung bestand aus 1561 mg/L Punicalagine; 387 mg/L Anthocyanine; 121 mg/L Ellagsäure und 417 mg/L weiterer hydrolysierbarer Tannine.

**Referenzen:**

- [1] Bartlett JG, Onderdonk AB, Cisneros RL, Kasper DL: Clindamycin-associated colitis due to a toxin-producing species of *Clostridium* in hamsters. *J Infect Dis* 1977; 136: 701–5.
- [2] Deshpande A, Pasupuleti V, Thota P, et al.: Community-associated *Clostridium difficile* infection and antibiotics: a meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68: 1951–61.
- [3] Ott E, Saathoff S, Graf K, Schwab F, Chaberny IF: The prevalence of nosocomial and community acquired infections in a university hospital: an observational study. *Dtsch Arztebl Int* 2013; 110:533–40.
- [4] Lübbert C, John E, von Müller L: *Clostridium difficile* infection-guideline-based diagnosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int* 2014; 111: 723–31. DOI: 10.3238/arztebl.2014.0723
- [5] Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin.Microbiol.Rev.*1999; 12 (4), 564-582.
- [6] Gil MI, Tomas-Barberan FA, Hess-Pierce B, Holcroft DM, Kader AA. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J Agric Food Chem.* 2000; 48: 4581–89.
- [7] Zhaoping Li et al. Pomegranate ellagitannins stimulate growth of gut bacteria in vitro: Implications for prebiotic and metabolic effects. *Anaerobe* 2015; 34, 164e168.
- [8] Sukumar M R, König B. Pomegranate extract specifically inhibits *Clostridium difficile* growth and toxin production without disturbing the beneficial bacteria invitro. *Infection and Drug Resistance* 2018, in press

**Zusammenfassung**

Mit unseren Untersuchungen konnten wir zeigen, dass das Polyphenolgemisch des Granatapfels a) das Wachstum der hypervirulenten *Clostridium difficile* Stämme des Typs NAP1/027/BI in physiologischen Konzentrationen (200 ml des Polyphenolgemisches) komplett abtöten kann; b) die abtötende (bakterizide) Wirkung bereits nach 3 Stunden eintritt; c) die Toxinproduktion der *C. difficile* bereits in sehr geringen Konzentrationen (20 ml) inhibieren kann; d) das Wachstum der untersuchten probiotischen Bakterien *Lactococcus lactis spp.*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium animalis* nicht hemmt. Damit eignet sich das Polyphenolgemisch des Granatapfels sowohl zur Prophylaxe einer primären Infektion mit *C. difficile* bei Antibiotikaeinnahme und eines Rezidivs mit *C. difficile* als auch zur Therapieunterstützung bei einfachen, schweren und komplizierten Infektionen sowie Rezidiven. Wir konzentrieren uns zurzeit auf den Einsatz des beschriebenen Polyphenolgemisches im klinischen Umfeld sowie auf eine detaillierte funktionelle Charakterisierung der Wirkung des Polyphenolgemisches auf das menschliche Darmmikrobiom/Mikrobiota. «

Fotos: Kateryna\_Kon – Fotolia (S. 24), Dmitry – Fotolia (S. 25), assja\_sav – Fotolia (S. 26)

**Autorin****Prof. Dr. Brigitte König**

Magdeburg Molecular Detections GmbH  
& Co. KG

**137**

Produkte

**18**

Gebindegrößen

**6**

Lieferanten

Entsprechend  
vielfältiger  
Etikettenbedarf?



Genau unser  
**Ding!**

Labels **24**.de

Die grüne Etikettendruckerei  
aus dem Fichtelgebirge.

09231/504809 • info@labels24.de