

Aus der Universitätsklinik für Anaesthesiologie und Intensivmedizin

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. K. Unertl

---

Diagnostische und prognostische Wertigkeit immunologischer  
Parameter der spezifischen Immunantwort bei Infektionen  
nach cardiochirurgischem Eingriff

---

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Medizin

der

MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

der Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

MARTIN JAUERNIG

aus Böblingen

2008

Dekan: Professor Dr. I. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. K. Unertl

2. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. h.c. G. Ziemer

WE DANCE ROUND IN A RING AND SUPPOSE  
BUT THE SECRET SITS IN THE MIDDLE AND KNOWS

ROBERT FROST



Meinen Eltern



## Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	
1.1	Infektionen nach cardiochirurgischem Eingriff.....	3
1.2	Einfluss der extrakorporalen Zirkulation auf das Infektionsrisiko.....	3
1.3	Schwierigkeit der Infektionsdiagnose.....	4
1.4	Spezifische Immunantwort nach Herzchirurgie.....	5
1.5	T-Zellen als Träger der zellulären Immunität.....	5
1.6	Veränderungen der T-Zell-Subpopulationen nach Herzchirurgie	6
1.7	Zielsetzung.....	8
<b>2.</b>	<b>Material und Methoden</b>	
2.1	Patienten.....	9
2.2	Material .....	10
2.3	Methoden.....	11
2.3.1	Färbungen.....	11
2.3.2	Messung und Auswertung am FACSCalibur.....	13
2.4	Datenerfassung und Einsatz statistischer Verfahren.....	14
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse</b>	
3.1	Allgemeiner Überblick.....	15
3.2	Risikofaktoren für das Auftreten von Infektionen nach cardiochirurgischem Eingriff.....	15
3.2.1	Geschlecht.....	15
3.2.2	Alter.....	16
3.2.3	Risikostratifikation nach Parsonnet.....	16
3.2.4	Operationsverfahren.....	17
3.2.5	Bypasszeit.....	18
3.2.6	Liegezeit.....	18
3.2.7	Blutprodukte.....	19
3.2.8	Katecholamine.....	19

3.3	Infektionsdiagnose mit Hilfe klinischer Entzündungszeichen.....	19
3.3.1	Temperatur.....	19
3.3.2	CRP.....	20
3.3.3	Leukozyten.....	22
3.3.4	Thrombozyten.....	23
3.3.5	APACHE II – Score.....	24
3.3.6	MOD – Score.....	25
3.4	Infektionsdiagnose mit Hilfe experimenteller Parameter.....	25
3.4.1	CD4 und CD69 positive T-Zellen.....	25
3.4.2	CD8 und CD69 positive T-Zellen.....	27
3.4.3	CD4/CD8 Ratio.....	27
3.4.4	INF- $\gamma$ produzierende CD4 positive T-Zellen.....	28
3.4.5	IL-4 produzierende CD4 positive T-Zellen.....	29
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	
4.1	Postoperative Infektionen nach Herzchirurgie: Epidemiologische Daten im Vergleich.....	30
4.2	Risikofaktoren für postoperative Infektionen nach Herzchirurgie.....	30
4.3	Infektionsdiagnose.....	35
4.3.1	Diagnostische Wertigkeit von Temperatur, CRP und Leukozyten.....	35
4.3.2	Prognostische Wertigkeit von Score Systemen.....	37
4.3.3	Diagnostische und prognostische Wertigkeit immunologischer Parameter der spezifischen Immunantwort.....	38
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	42
<b>6.</b>	<b>Anhang</b> .....	44
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	48
	Lebenslauf.....	59
	Danksagung.....	61



## **1. Einleitung**

### **1.1 Infektionen nach cardiochirurgischem Eingriff**

Infektionen nach herzchirurgischem Eingriff unter Anwendung der extrakorporalen Zirkulation stellen eine ernstzunehmende, zum Teil lebensbedrohliche Komplikation des postoperativen Verlaufs dar. Die Inzidenz ist hoch, beschrieben wurden Infektionsraten von 12-41% (47). Die Folgen einer postoperativen Infektion sind weitreichend: betroffene Patienten benötigen eine aufwendigere Therapie, ihre Liegezeit verlängert sich und die Behandlungskosten steigen signifikant an (40,52,57,60). So verursachen Patienten mit postoperativen Infektionen im Durchschnitt dreifach höhere Kosten als Patienten ohne Infektion (41). Auch die Mortalität der Patienten, die eine Infektion entwickeln, ist gegenüber der Mortalität der Patienten ohne Infektion deutlich erhöht. Das Risiko nach einer Operation zu sterben ist für Patienten mit Infektion fünfmal so groß wie für Patienten ohne Infektion (60). Angesichts dieser Tatsachen ist die frühzeitige Erkennung von Patienten mit Infektionsrisiko und die frühe Diagnose einer Infektion im Hinblick auf einen möglichst raschen Therapiebeginn von erheblicher Bedeutung.

### **1.2 Einfluss der extrakorporalen Zirkulation auf das Infektionsrisiko**

Als eine Ursache für das hohe Infektionsrisiko in der Herzchirurgie werden die Auswirkungen der extrakorporalen Zirkulation auf das Immunsystem angesehen. Die Plastikoberflächen und Scherkräfte der Rollerpumpen einer Herz-Lungen-Maschine führen zu einer Traumatisierung der korpuskulären und der plasmatischen Anteile des Blutes. Neben der mechanischen Zerstörung von Erythrozyten und Thrombozyten, deren Zahl hierdurch signifikant abnimmt (54), kommt es zu einer Modulation der unspezifischen und der spezifischen Immunabwehr. Die Zahl der neutrophilen Granulozyten, die Hauptträger der unspezifischen Abwehr, steigt massiv an (65). Die Lymphozyten hingegen, die Effektorzellen der spezifischen Immunantwort, nehmen dramatisch ab (65). Die Immunglobulinkonzentration im Serum sinkt (18). Die Aktivität der Natürlichen Killerzellen nimmt ab (66,76). Außerdem führt die extrakorporale Zirkulation

über die Aktivierung des Komplementsystems (35) und die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine zu einer temporären Ganzkörperentzündung (8,49,63,72,79), die auch Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) genannt wird. Sie tritt nach extrakorporaler Zirkulation auf, unabhängig davon, ob ein Patient eine Infektion entwickelt oder nicht. Insgesamt betrachtet führt die extrakorporale Zirkulation somit zu einer Schwächung der körpereigenen Abwehr, die die Patienten anfälliger für eine postoperative Infektion macht. Nicht jeder Patient entwickelt deshalb zwangsläufig eine Infektion, aber kommen noch weitere Faktoren hinzu, erhöht sich die Wahrscheinlichkeit an einer postoperativen Infektion zu erkranken. Die Kenntnis weiterer Risikofaktoren ist somit von großer Bedeutung, ermöglicht sie es doch, Risikopatienten frühzeitig zu identifizieren.

### **1.3 Schwierigkeit der Infektionsdiagnose**

Tritt eine Infektion auf, ist eine frühzeitige Diagnose von Bedeutung. Je früher die Diagnose gestellt wird, desto eher erfolgt die Therapie und desto besser ist die Prognose für den Betroffenen. Eine frühzeitige Diagnosestellung ist jedoch schwierig, denn die routinemäßig verwendeten Entzündungsparameter CRP, Leukozyten und Temperatur sind im Rahmen des SIRS nach extrakorporaler Zirkulation nahezu immer erhöht (2,3,4,47). In der frühen postoperativen Phase ist es deshalb schwierig, zwischen systemischer Inflammation und postoperativer Infektion zu unterscheiden (3). Erst im späteren postoperativen Verlauf kristallisieren sich typischerweise unterschiedliche Verläufe der Entzündungsparameter bei den Patienten mit und ohne postoperative Infektion heraus (3,4,47).

Als mögliche Alternative zu den oben genannten Entzündungsparametern bieten sich zur frühzeitigen Diagnose einer postoperativen Infektion laut Kuhn et al. (37) und Pilz et al. (59) Score-Systeme an. In der Intensivmedizin weit verbreitet ist der von Knaus et al (34) entwickelte Acute Physiology And Chronic Health Score (APACHE II) sowie der von Marshall et al (43) beschriebene Multiple Organ Dysfunktion Score (MOD). Beides sind sogenannte Risiko-

Scores, deren Ziel es ist, den Krankheitsschweregrad mit Hilfe einfach zu erhebender Parameter einzuschätzen. Sowohl der APACHE II als auch der MOD-Score sind jedoch nicht infektionsspezifisch.

Ein weiterer und speziell für herzchirurgische Patienten entworfener Score ist der von Parsonnet et al. (58). Er dient der Risikoabschätzung der postoperativen Mortalität innerhalb von 30 Tagen. Hierzu werden 14 Risikofaktoren vor der Operation erhoben und aus ihnen die Wahrscheinlichkeit der Mortalität berechnet. Auch dieser Score ist nicht infektionsspezifisch.

Ob und in wie weit die Beurteilung des allgemeinen Krankheitsschweregrades mithilfe von Score-Systemen eine Risikostratifizierung im Hinblick auf eine sich anbahnende postoperative Infektion erlaubt, soll in dieser Arbeit überprüft werden.

#### **1.4 Spezifische Immunantwort nach Herzchirurgie**

Zahlreiche Studien zeigen, dass große chirurgische Eingriffe zu einer gestörten spezifischen Immunabwehr führen (12,14,28,61,65,75). Ursächlich hierfür ist eine Abnahme der Lymphozyten. Die der extrakorporalen Zirkulation folgende Lymphozytopenie ist vor allem bedingt durch eine Abnahme der T-Zellen (12,65). B-Zellen nehmen weniger stark ab und ihre Zahl erreicht schneller wieder den Ausgangswert als T-Zellen (28). Das bedeutet, dass vor allem die zelluläre Immunität, deren Träger die T-Zellen sind, nach Herzchirurgie beeinträchtigt ist (28,61).

#### **1.5 T-Zellen als Träger der zellulären Immunität**

T-Lymphozyten reagieren bei Kontakt und Erkennen eines Antigens mit Zellteilung und Vermehrung, der sog. klonalen Expansion. Danach folgt die Differenzierung der T-Zellen zu den T-Effektorzellen. Diese lassen sich anhand von charakteristischen Oberflächenmerkmalen, den CD- oder „cluster of differentiation“-Antigenen in verschiedene Subgruppen aufteilen. In dieser Arbeit von Interesse sind die cytotoxischen T-Zellen, die viral oder bakteriell

infizierte Zellen eliminieren und für die das Oberflächenantigen CD8 charakteristisch ist, sowie die CD4 positiven Zellen, die sich entweder zu inflammatorischen T-Zellen (Th1) oder zu T-Helferzellen (Th2) differenzieren können. Inflammatorische T-Zellen regen Makrophagen an Bakterien zu töten, T-Helferzellen aktivieren B-Zellen Antikörper zu produzieren (29).

### **1.6 Veränderungen der T-Zell-Subpopulationen nach Herzchirurgie**

Nach extrakorporaler Zirkulation kommt es zu Veränderungen der T-Zell-Subpopulationen (23,28,45,75). In wieweit diese Veränderungen mit der Entwicklung klinisch relevanter Infektionen zusammenhängen, ist weitgehend unklar. Deshalb sollen die Veränderungen von T-Zell-Subpopulationen in dieser Arbeit durchflußzytometrisch untersucht werden und abgeschätzt werden, in wieweit sie sich mit der Entwicklung klinisch relevanter Infektionen korrelieren lassen. Untersucht werden sollen der CD4/CD8 Quotient, der Anteil CD4<sup>+</sup> und CD69<sup>+</sup> T-Zellen sowie der Anteil CD8<sup>+</sup> und CD69<sup>+</sup> T-Zellen an der Gesamtzahl der T-Zellen, außerdem der Anteil INF- $\gamma$  produzierender CD4 positiver T-Zellen und der Anteil IL-4 produzierender CD4 positiver T-Zellen an der Gesamtzahl der T-Zellen.

#### **1.6.1 CD4/CD8 Quotient**

Der CD4/CD8 Quotient gibt das Verhältnis der CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten zu den CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten an. Ein verminderter Quotient ist ein Indikator für eine verminderte zelluläre Immunität mit erhöhter Infektanfälligkeit für bestimmte Virus-, Pilz-, parasitäre und bakterielle Infektionen. Beim erworbenen Immundefektsyndrom (AIDS) kommt es so z.B. zu einer Häufung von Cytomegalie-, Pneumocystis carinii-, Toxoplasmose-, Tbc- und atypischen Pilzinfektionen (29). Untersucht werden soll, ob es nach extrakorporaler Zirkulation zu einer Änderung des Quotienten kommt und ob dadurch das Infektionsrisiko der Patienten steigt.

### **1.6.2 CD69<sup>+</sup> aktivierte CD4<sup>+</sup> bzw. CD8<sup>+</sup> T-Zellen**

Durch den Kontakt mit einem Antigen kommt es zur Aktivierung der T-Zelle. Eines der ersten Oberflächenantigene, das von T-Zellen nach deren Aktivierung exprimiert wird, ist CD 69. Es wirkt kostimulierend auf die T-Zell-Aktivierung und Proliferation (81). Ob die extrakorporale Zirkulation zu einer Erhöhung oder Erniedrigung der Zahl aktivierter CD69 positiver CD4<sup>+</sup>bzw. CD8<sup>+</sup>T-Zellen führt und in wie weit dadurch das Risiko für eine postoperative Infektion sinkt oder steigt, soll geprüft werden.

### **1.6.3 IL4 bzw. INF- $\gamma$ produzierende CD4<sup>+</sup> T-Zellen**

CD4<sup>+</sup> T-Zellen können sich entweder zu inflammatorischen Zellen (Th1) oder zu Helferzellen (Th2) differenzieren. Die Entscheidung, welchen Weg die Zelle einschlägt, fällt bei ihrem ersten Zusammentreffen mit dem Antigen. Warum sich eine proliferierende CD4<sup>+</sup> T-Zelle in eine inflammatorische Zelle oder in eine Helferzelle umwandelt, ist unbekannt. Die Konsequenz ist jedoch weitreichend: die Aktivierung von inflammatorischen Zellen führt zu einer zellvermittelten Immunität, während die Produktion von T-Helferzellen eine humorale Immunität hervorruft. Th1-Zellen sezernieren hierzu das Cytokin INF- $\gamma$ , das zu einer Aktivierung der Makrophagen führt, Th2-Zellen sezernieren IL-4, das die Antikörperproduktion induziert und die Makrophagenaktivierung downreguliert (29). Postoperativ kann es zu einer Imbalance der Th1/Th2-Antwort kommen, charakterisiert durch eine Zunahme der IL-4 Produktion und einer Abnahme der INF- $\gamma$  Produktion, verbunden mit einer Downregulation der zellulären Immunität (56). Dieser sogenannte Th1/Th2-Shift spielt eine Rolle in der Immundysfunktion und er ist verbunden mit einer verminderten Infektabwehr (19,78). Ob die extrakorporale Zirkulation diesen Shift verursacht und in wie weit er mitverantwortlich für das Auftreten einer postoperativen Infektion ist, wird untersucht.

## **1.7 Zielsetzung**

Ziel dieser Arbeit ist es,

1. Risikofaktoren zu ermitteln, die das Auftreten einer postoperativen Infektion nach Herzchirurgie begünstigen. Als Risikofaktoren sollen untersucht werden: Geschlecht, Alter, Operationsverfahren, Bypasszeit, Transfusion von Blutprodukten und Gabe von Katecholaminen,
2. zu überprüfen, ob und ab wann es mit Hilfe der klassischen Entzündungsparameter Temperatur, CRP und Leukozyten möglich ist, eine postoperative Infektion nach extrakorporaler Zirkulation zu erkennen und von der normalen systemischen Inflammation zu unterscheiden,
3. die Score-Systeme APACHE II und MOD auf ihre Validität hin zu untersuchen, Patienten mit infektiösen Komplikationen zu erkennen,
4. T-Zell-Subpopulationen mit Hilfe der Durchflußzytometrie zu messen und abzuschätzen, in wieweit sich deren Veränderungen nach Herzchirurgie mit der Entwicklung klinisch relevanter Infektionen korrelieren lassen.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Patienten

#### Patientenkollektiv

Untersucht wurden 103 Patienten im Zeitraum von Juni bis November 2001, die sich einem herzchirurgischen Eingriff unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine an der Universitätsklinik für Herz-, Thorax- und Gefäß-Chirurgie in Tübingen unterzogen. Davon waren 73 männlich (70,9%), 30 weiblich (29,1%). Das Alter der Patienten reichte von 30 bis 80 Jahre (Mittelwert  $63,29 \pm 11,03$  Jahre). 61 Patienten (59,2%) erhielten einen aorto-coronaren Venenbypass (ACVB), 14 (13,6%) einen Herzklappenersatz und weitere 14 (13,6%) einen ACVB mit Herzklappenersatz.

Die restlichen 14 Patienten (13,6%) wurden zur Gruppe *Sonstige Operationen* zusammengefasst, wobei sich die Operationsverfahren der untenstehenden Tabelle entnehmen lassen :

OP	Anzahl (% of Total)
Klappenersatz u. Aorta ascendens Raffung	3 (2.9%)
ACVB und Carotis-TEA	3 (2.9%)
ACVB und Aorta ascendens Raffung	2 (1.9%)
ASD	2 (1.9%)
ACVB und ASD	1 (0.9%)
ACVB, Klappenersatz und Aorta ascendens Ersatz	1 (0.9%)
Aorta ascendens Ersatz	1 (0.9%)
ACVB und Y-Prothese	1 (0.9%)

#### Ein- und Ausschlusskriterien

Aufgenommen wurden nur Patienten, die nach ausführlicher Aufklärung ihre schriftliche Zustimmung erteilten, die sich einer elektiven Operation unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine unterzogen und die keine präoperative Infektion aufwiesen.

### Probengewinnung

Es wurden pro Patient 3 Blutproben entnommen. Die erste bei Aufnahme morgens am Tag vor der Operation (Tag -1), die zweite innerhalb der ersten Stunde postoperativ am Operationstag (Tag 0) und die dritte am ersten postoperativen Tag mittags (Tag 1).

### Patientenmonitoring

Präoperativ wurde die Krankengeschichte sowie der Score nach Parsonnet et al. erhoben, der der Risikoabschätzung der postoperativen Mortalität in der Herzchirurgie dient (58). Von Tag -1 bis zum 5. postoperativen Tag sind alle verfügbaren Temperatur-, CRP-, Leukozyten- und Thrombozyten-Werte dokumentiert worden. Ebenso der Bedarf an Blutprodukten und Katecholaminen, die Antibiotikazufuhr, die Bypasszeit sowie die postoperativen Komplikationen. Auch der APACHE II Score (34) und der MOD (Multiple Organ Dysfunction) Score (43) sind für diese Tage bestimmt worden. Die Liegezeiten wurden nach Entlassung oder Tod der Patienten festgehalten. Aufgetretene postoperative Infektionen sind gemäß den Definitionen der Centers for Disease Control (CDC) klassifiziert worden (21).

## 2.2 Material

### Fluoreszierende monoklonale Antikörper

Antikörper	Hersteller
CD3 PerCP	Becton-Dickinson, Heidelberg
CD3 FITC	
CD4 APC	
CD8 FITC	
CD 69 PE	
FAST-IMMUNE IFN- $\gamma$ FITC / IL-4 PE	
FAST-IMMUNE Control Y2a FITC / Y1 PE	



## Reagenzien und Chemikalien

Produkt	Hersteller
FACS Lysing Solution	Becton-Dickinson, Heidelberg
FACS Permeabilizing Solution	
CellWASH	
CellFIX	
RPMI-1640	Gibco BRL, Eggenstein
BFA (Brefeldin A)	Sigma, Steinheim
PMA (Phorbol-12-Myristate-13-Acetate)	
Ionomycin	
Ampuwa	Fresenius, Bad Homburg

## Verbrauchsmaterialien

Produkt	Hersteller
S-Monovette Lithium-Heparin	Sarstedt, Nümbrecht
Pipetten 10 µl, 100 µl, 1000 µl	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen 10 µl, 100 µl, 1000 µl	
Falcon Röhrchen 10 ml	Becton-Dickinson, Heidelberg

## Laborgeräte

Produkt	Hersteller
FACSCalibur-Durchflusszytometer	Becton-Dickinson, Heidelberg
Zentrifuge Labofuge 400R	Heraeus, Osterode
Vortex REAX 1R	Heidolph, Schwabach
Inkubator	Memmert, Schwabach

## 2.3 Methoden

### 2.3.1 Färbungen

Aus jeder gewonnenen Blutprobe ist eine Oberflächenfärbung und eine intrazelluläre Färbung angefertigt worden.

**Oberflächenfärbung:**

Zellspezifität	Antikörper
T-Zellen und deren Aktivierung	CD3 PerCP
	CD4 APC
	CD8 FITC
	CD69 PE

Gefärbt wurde nach folgender Färbemethode:

Je 10 µl der Fluoreszenzfarbstoff-gekoppelten Antikörper wurden entsprechend der oben aufgeführten Färbung mit 100 µl Heparin-Blut für 30 min bei 4° C im Dunkeln inkubiert (Ausnahme CD4 APC: 2,5 µl). Zur Lyse der Erythrozyten erfolgte anschließend die Zugabe von 2 ml FACS Lysing Solution und nach kräftigem Vortexen die Inkubation bei Raumtemperatur für 10 min. Danach wurden die Zellen mit jeweils 2 ml CellWASH gewaschen, mit 1800 rpm bei 10° C für 5 min zentrifugiert, der Überstand abgekippt und das Pellet in 500 µl CellFIX aufgenommen. Die Analyse erfolgte mit einem FACS Calibur-Durchflusszytometer.

**Intrazelluläre Färbung:**

Zellspezifität	Antikörper	Funktion
T-Helfer-Zellen	CD3 PerCP	Oberflächenfärbung
	CD4 APC	
IL-4 und INF-γ produzierende Zellen	INF-γ FITC (spezifisch)	Intrazelluläre Färbung
	IL-4 PE (spezifisch)	
	γ2a FITC (isotypisch)	
	γ1 PE (isotypisch)	

**Färbemethode:**

Nach Stimulation der in 500 µl Heparin-Blut enthaltenen Zellen mit 500 µl RPMI, 10 µl BFA, 25 µl PMA und 1 µg Ionomycin und anschließender vierstündiger Inkubation bei 37 °C erfolgte eine Oberflächenfärbung der interessierenden T-Zellen. Dazu wurden 10 µl CD3 PerCP und 2,5 µl CD4 APC hinzugegeben und

für 30 min in Dunkelheit bei Raumtemperatur inkubiert. Die anschließende Lyse der Erythrozyten und das Waschen der Probe wurde, wie bei der Oberflächenfärbung beschrieben, durchgeführt. Zur Permeabilisierung wurden nun 500 µl FACS Permeabilizing Solution verwendet. Im Anschluss erfolgte die Aufteilung der Probe auf 2 Röhrchen, um nach erneutem Waschen beider Proberöhrchen mit 2 ml CellWash (1800 rpm, 10 min, 10°C) eine spezifische intrazelluläre und eine intrazelluläre Kontrollfärbung (Isotyp) anzufertigen. Hierzu wurden zur spezifischen Probe 20 µl des spezifischen IFN- $\gamma$  FITC / IL-4 PE Antikörpers, zum Isotyp (Negativkontrolle) 20 µl  $\Upsilon$ 2a FITC /  $\Upsilon$ 1 PE Antikörper pipettiert und für erneut 30 min (Raumtemperatur, Dunkelheit) inkubiert. Danach wurden die Zellen mit jeweils 2 ml CellWASH gewaschen, mit 1800 rpm bei 10° C für 5 min zentrifugiert, der Überstand abgekippt und das Pellet in 500 µl CellFIX aufgenommen. Die Analyse erfolgte ebenfalls mit einem FACS Calibur-Durchflusszytometer.

### **2.3.2 Messung und Auswertung am FACSCalibur-Durchflusszytometer**

#### **Prinzipien der Durchflusszytometrie**

Die Durchflusszytometrie ermöglicht die Identifizierung und Quantifizierung von Zellen aufgrund der Zellgröße, der Zellgranularität und mit Hilfe fluoreszenzfarbstoffmarkierter Antikörper gegen Leukozyten-Differenzierungsantigene auf der Zelloberfläche. Bei der Messung werden die Zellen, die sich in einem Proberöhrchen befinden, angesaugt und von einer Trägerflüssigkeit, die die Messkammer laminar durchströmt, erfasst, so dass nach dem Prinzip der hydrodynamischen Fokussierung ein Strom einzelner Zellen entsteht. Diese suspendierten Einzellzellen werden an einem Argonlaser (Wellenlänge 488 nm) vorbeigeführt und aufgrund ihrer Lichtstreuung, die von Photodetektoren gemessen wird, identifiziert. Gemessen wird das Vorwärtsstreulicht (Forward Scatter, FSC) entlang des einfallenden Laserstrahls und das Seitwärtsstreulicht (Side Scatter, SSC) im rechten Winkel zum einfallenden Laser, wobei Forward Scatter proportional zur Zelloberfläche, Side Scatter proportional zur Zellgranularität ist. Zur immunologischen Identifizierung werden die Zellen mit

spezifischen fluoreszierenden monoklonalen Antikörpern angefärbt. Als Fluoreszenzfarbstoffe werden FITC (Fluorescein-Isothiocyanat), PE (Phycocerythrin), PerCP (Peridininchlorophyllprotein und APC (Allophycocyanin) benutzt. Der Laser regt diese Fluorochrome an, die emittierten Strahlen, jeweils unterschiedlicher Wellenlänge, werden vom FACSCalibur (Fluorescence activated cell sorter) gemessen. Dabei ist die emittierte Fluoreszenzintensität ein Maß für die Anzahl gebundener Antikörper auf einer Zelle.

### **Messung**

Die Messung erfolgte mit dem FACSCalibur-Durchflusszytometer der Firma Becton-Dickinson. Benutzt wurde die Software CELLQuest. Für jede Färbung wurde eine standardisierte Messeite erstellt, zur Darstellung der Messung der Dot Plot gewählt. Pro Messung sind jeweils 10 000 Ereignisse (Events) einer definierten Region gemessen worden.

### **Auswertung**

Es wurden standardisierte Auswerteseiten mit Vierfelder-Tafeln und Histogrammen entworfen, zu denen das Programm CELLQuest eine ausführliche Statistik bietet, unter Angabe der absoluten und prozentualen Häufigkeiten.

## **2.4 Datenerfassung und Einsatz statistischer Verfahren**

Die Daten wurden mit Hilfe von Excel erfasst, die statistische Auswertung mit JMP Version 4.02 durchgeführt. Bei der statistischen Analyse wurde überprüft, ob ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer postoperativen Infektion und den klinisch erhobenen sowie den experimentell ermittelten Parametern bestand. Als Signifikanzgrenze wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p \leq 0,05$  festgelegt.

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1 Allgemeiner Überblick**

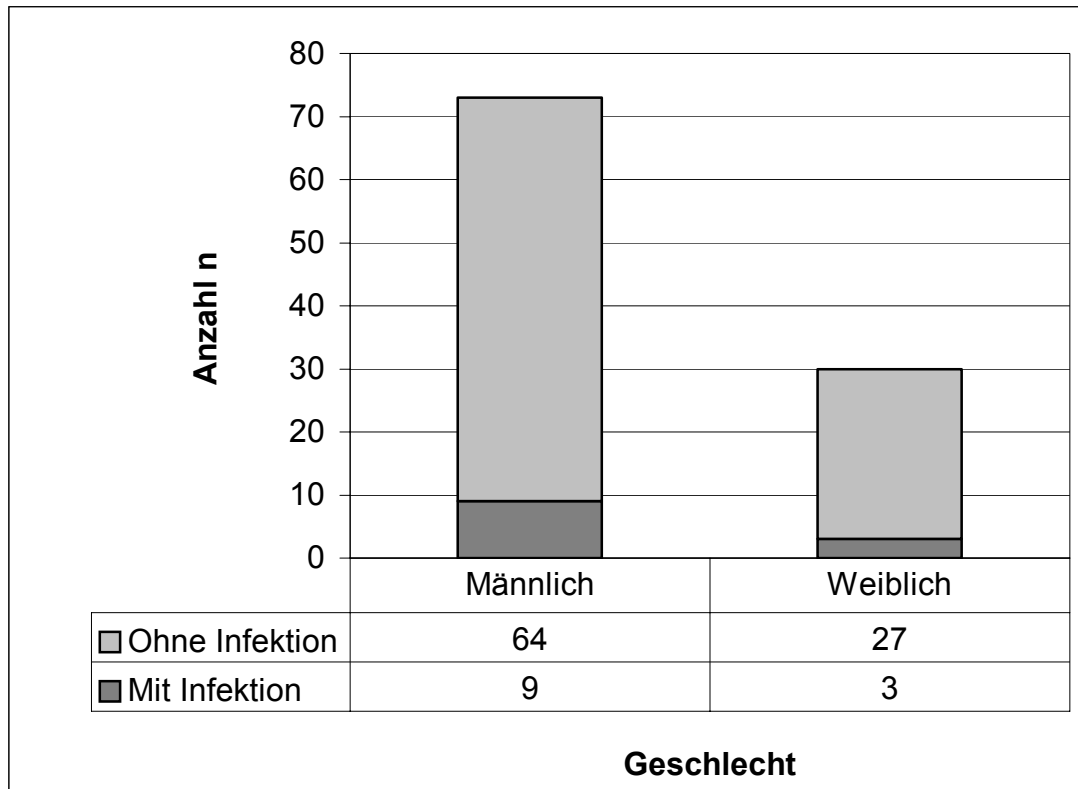
Von den 103 untersuchten Patienten, die sich im Zeitraum von Juni bis November 2001 einem cardiochirurgischen Eingriff unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine an der Universitätsklinik für Herz-, Thorax- und Gefäß-Chirurgie in Tübingen unterzogen, entwickelten 12 Patienten eine postoperative Infektion (11,65%). Bei 2 der 12 Patienten traten zwei voneinander unabhängige postoperative Infektionen auf, so dass insgesamt bei 12 Patienten 14 postoperative Infektionen diagnostiziert werden konnten. Klassifiziert nach den CDC-Definitionen für nosokomiale Infektionen von 1988 handelte es sich um 4 Harnwegsinfektionen, 4 oberflächliche Wundinfektionen, 2 tiefe Wundinfektionen, 2 Pneumonien und 2 Septikämien. Bei 9 postoperativen Infektionen gelang der Erregernachweis (64%), bei 5 postoperativen Infektionen konnte kein Erreger gesichert werden (36%). Einer (8%) der Patienten mit postoperativer Infektion verstarb infolge einer nicht beherrschbaren Sepsis. In der Patientengruppe ohne postoperative Infektion gab es keinen Todesfall.

#### **3.2 Risikofaktoren für das Auftreten von Infektion nach cardiochirurgischem Eingriff**

##### **3.2.1 Geschlecht**

Die Anzahl der Männer in der Gesamtgruppe lag bei 73 (71%), die der Frauen bei 30 (29%). Von diesen 73 Männern hatten 64 (88%) keine und 9 (12%) eine postoperative Infektion. Von den 30 Frauen hatten 27 (90%) keine und 3 (10%) eine postoperative Infektion. Ein Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und dem Auftreten einer postoperativen Infektion nach cardiochirurgischem Eingriff ließ sich nicht nachweisen (ChiSquare=0,11; DF=1; p=0,73).

**Abb. 1: Geschlechterverteilung der Patienten**



### 3.2.2 Alter

Das Durchschnittsalter in der Gesamtgruppe war 63,3 Jahre. Das durchschnittliche Alter in der Gruppe ohne postoperative Infektion lag bei 63,39 Jahren (der jüngste Patient war im 30. Lebensjahr, der älteste Patient 80 Jahre alt), das der Gruppe mit postoperativer Infektion bei 62,5 Jahren (der jüngste Patient war hier 43 Jahre, der älteste 79 Jahre alt). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen lies sich nicht feststellen (ChiSquare=0,07; DF=1; p=0,79). Das Alter spielte bei der Entwicklung einer postoperativen Infektion in dieser Arbeit also keine Rolle.

### 3.2.3 Risikostratifikation nach Parsonnet

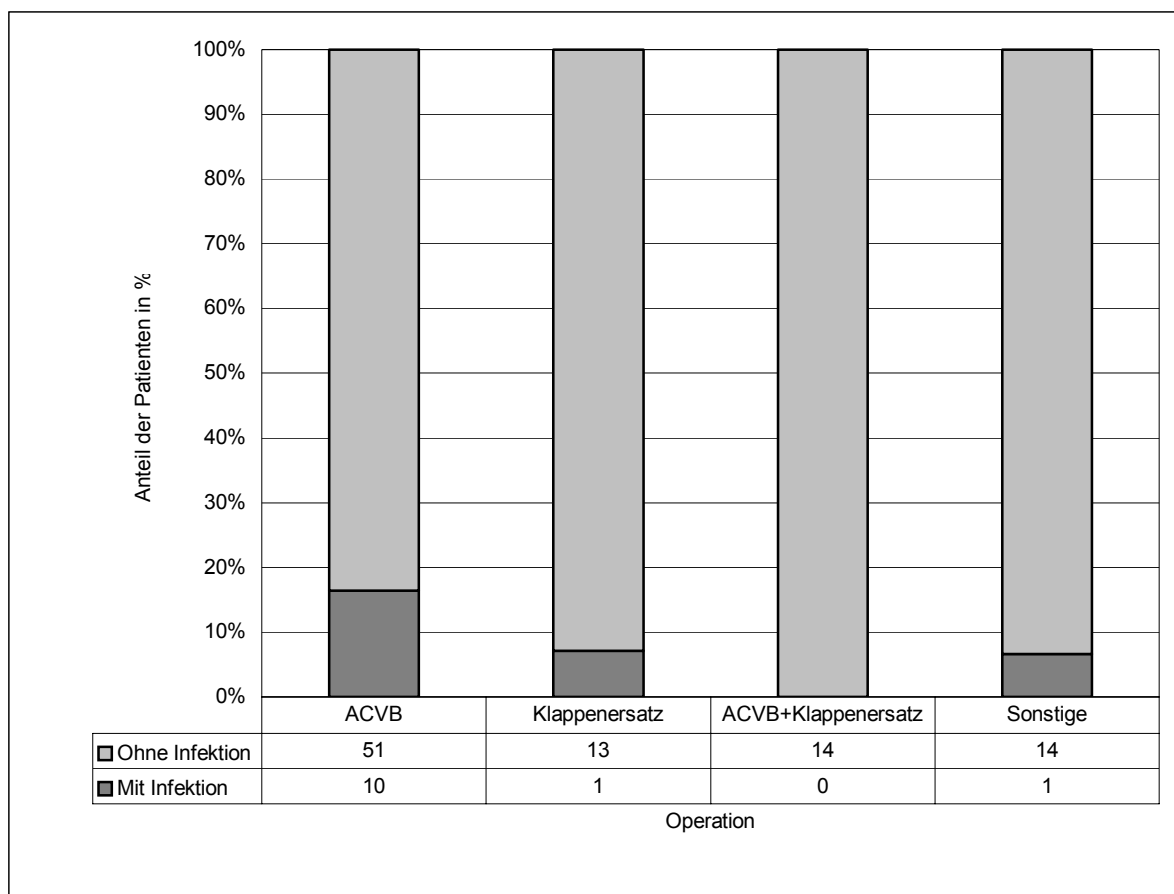
Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen präoperativer Risikoklassifikation nach Parsonnet et al. und dem Auftreten einer postoperativen Infektion konnte nicht gefunden werden (ChiSquare=0,08; DF= 1; p=0,77). Der durchschnittliche Score lag in der Patientengruppe mit Infektion bei 11,5

Punkten (Standardabweichung 5,1 Punkte), in der Patientengruppe ohne Infektion bei 12,1 Punkten (Standardabweichung 6,6 Punkte). Patienten mit Infektion hatten einen minimalen Score von 6 Punkten und einen maximalen von 21, Patienten ohne Infektion einen von minimal 2 bzw. maximal 36 Punkten.

### 3.2.4 Operationsverfahren

Es wurden 4 Operationsverfahren unterschieden: 1. ACVB, 2. Klappenersatz, 3. ACVB mit Klappenersatz und 4. *Sonstige herzchirurgische Eingriffe*. Eine statistische Signifikanzprüfung bezüglich einer erhöhten postoperativen Infektionsrate und dem Operationsverfahren war aufgrund der sehr unterschiedlichen Fallzahlen pro Operationsverfahren nicht möglich.

**Abb. 2: Zahlenmäßige und prozentuale Verteilung der Häufigkeit postoperativer Infektionen nach Operationsverfahren**



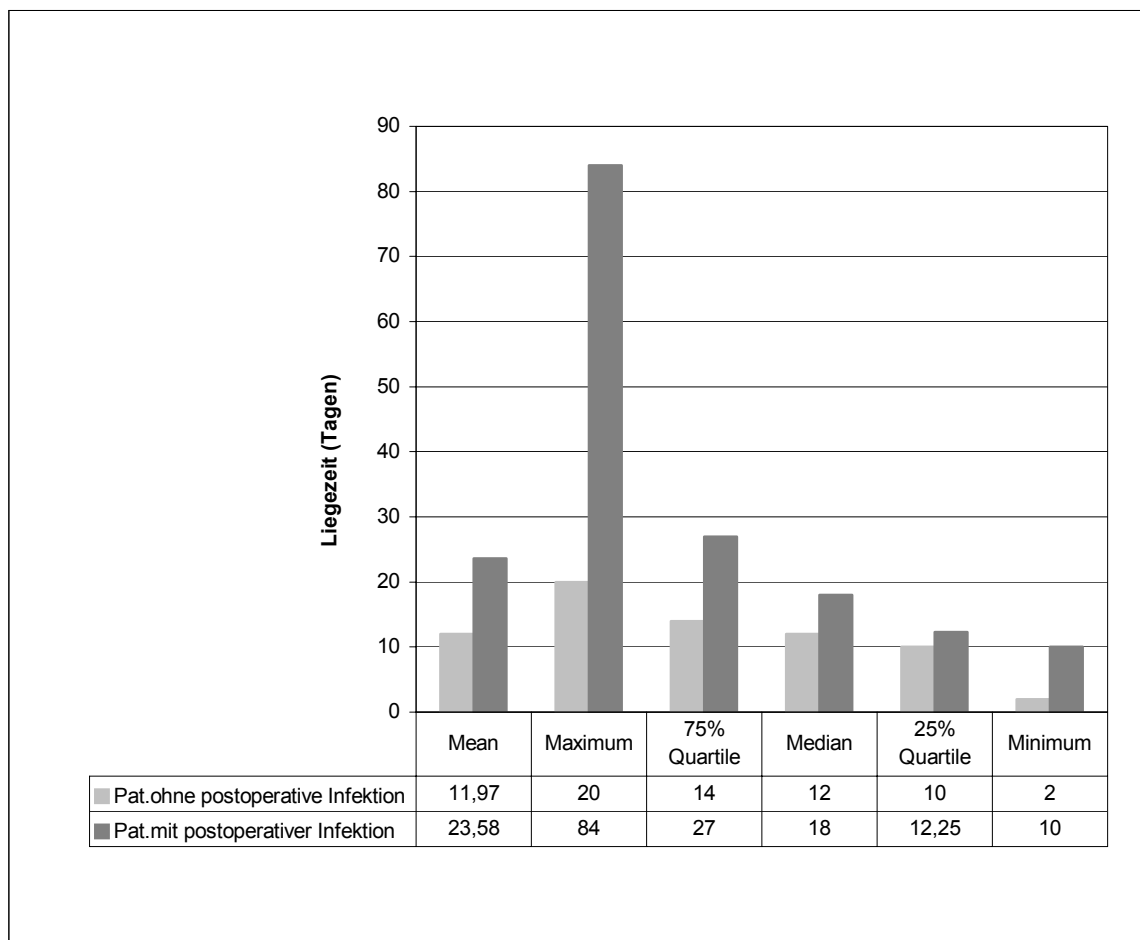
### 3.2.5 Bypasszeit

Die Bypasszeit hatte keinen Einfluss auf die postoperative Infektionsrate, denn sie unterschied sich nicht signifikant zwischen den Patienten mit und ohne Infektion. Sie lag bei Patienten ohne postoperative Infektion bei durchschnittlich 101 min, bei den Patienten mit postoperativer Infektion zeigte sich ein Mittelwert von 100 min. (ChiSquare=0,01; DF=1; p=0,93)

### 3.2.6 Liegezeit

Patienten mit postoperativer Infektion hatten eine signifikant längere Liegezeit als Patienten ohne postoperative Infektion. (ChiSquare=12,16; DF=1; p<0,0001)

**Abb. 3: Liegezeiten**





### **3.2.7 Blutprodukte**

Patienten, die Blutprodukte (Erythrozytenkonzentrate, Thrombozytenkonzentrate und Fresh Frozen Plasma) transfundiert bekamen, hatten ein statistisch signifikant höheres Risiko an einer postoperativen Infektion zu erkranken (ChiSquare=5,91; DF=1;  $p=0,0151$ ). Dabei war das Risiko abhängig von der Menge der transfundierten Blutprodukte: Je mehr Blutkonserven ein Patient erhielt, desto größer war sein Risiko einer postoperativen Infektion. Wurden mehr als 5 Konserven transfundiert, so war das Risiko für eine postoperative Infektion 1,35-fach, bei mehr als 10 Blutprodukten 9,77-fach größer. Patienten ohne postoperative Infektion bekamen im Durchschnitt 4,42, Patienten mit postoperativer Infektion 12,40 Blutkonserven transfundiert.

### **3.2.8 Katecholamine**

Auch katecholaminpflichtige Patienten hatten ein statistisch signifikant größeres Risiko eine postoperative Infektion zu entwickeln (ChiSquare=3,69; DF=1;  $p=0,05$ ). Es zeigte sich, dass das Risiko eine postoperative Infektion zu entwickeln abhängig war von der Dauer der Katecholamingabe. Je länger ein Patient Katecholamine erhielt, desto größer war sein Risiko an einer postoperativen Infektion zu erkranken. Patienten, die länger als einen Tag Katecholamine benötigten, hatten ein 1,45-fach größeres Risiko für eine postoperative Infektion. Bei einer Katecholaminpflichtigkeit über zwei Tage war das Risiko bereits 7,25-fach, bei einer Katecholamingabe über drei Tage sogar 14,83-fach größer. Patienten ohne postoperative Infektion erhielten durchschnittlich 1,37 Tage (minimal 0 Tage; maximal 4 Tage), Patienten mit postoperativer Infektion im Durchschnitt 3,33 Tage Katecholamine (Minimum 1 Tag; Maximum 18 Tage).

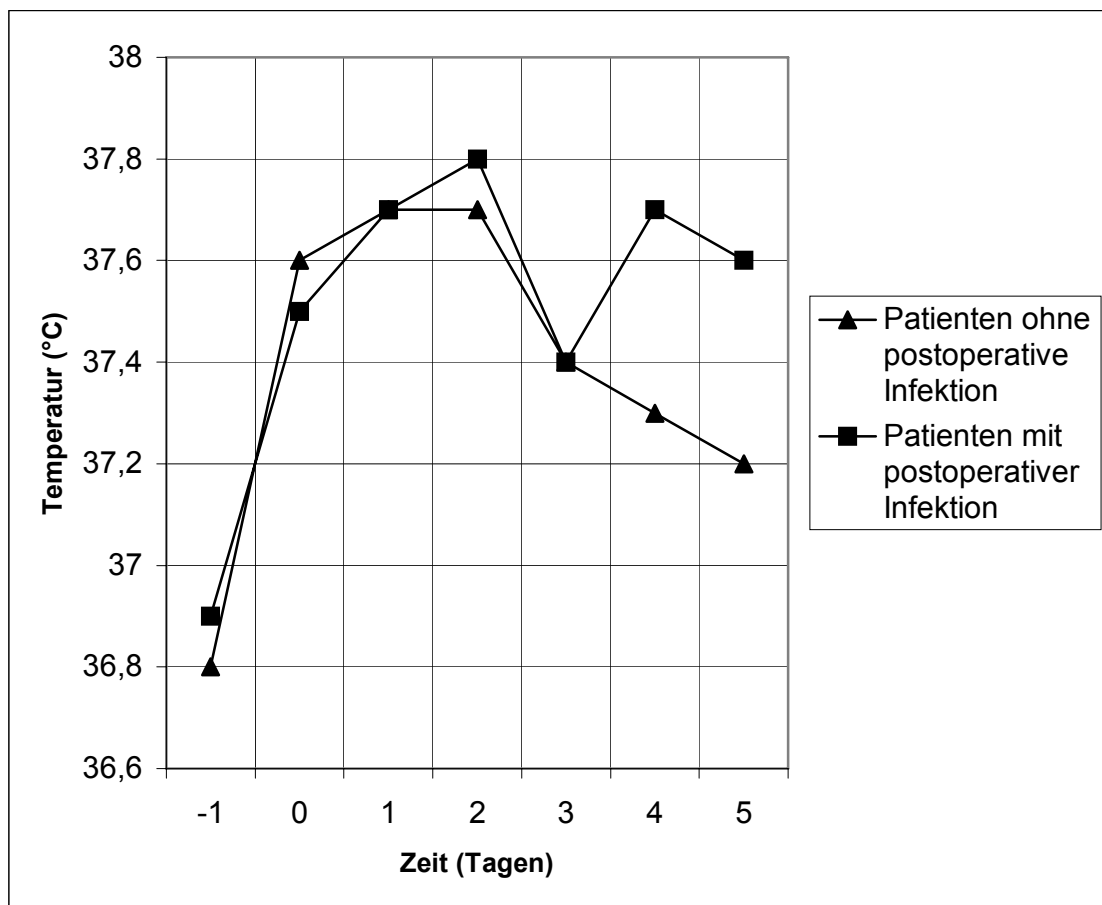
## **3.3 Infektionsdiagnose mit Hilfe klinischer Parameter**

### **3.3.1 Temperatur**

Generell kam es bei allen Patienten nach der Operation zu einem statistisch hoch signifikanten Temperaturanstieg ( $p<0,001$ ), der sich bis zum zweiten

postoperativen Tag fortsetzte. In den darauf folgenden Tagen war eine stetige Abnahme der Körpertemperatur in beiden Patientengruppen zu beobachten. Bei den Patienten mit postoperativer Infektion kam es jedoch am vierten postoperativen Tag zu einem erneuten Temperaturanstieg mit Ausbildung einer zweiten Temperaturspitze. Fieber am 4. postoperativen Tag und später war signifikant korreliert mit einer postoperativen Infektion. (Tag 4: ChiSquare=4,01; DF=1; p=0,045.; Tag 5: ChiSquare=5,28; DF=1; p=0,022)

**Abb. 4: Temperaturverlauf**

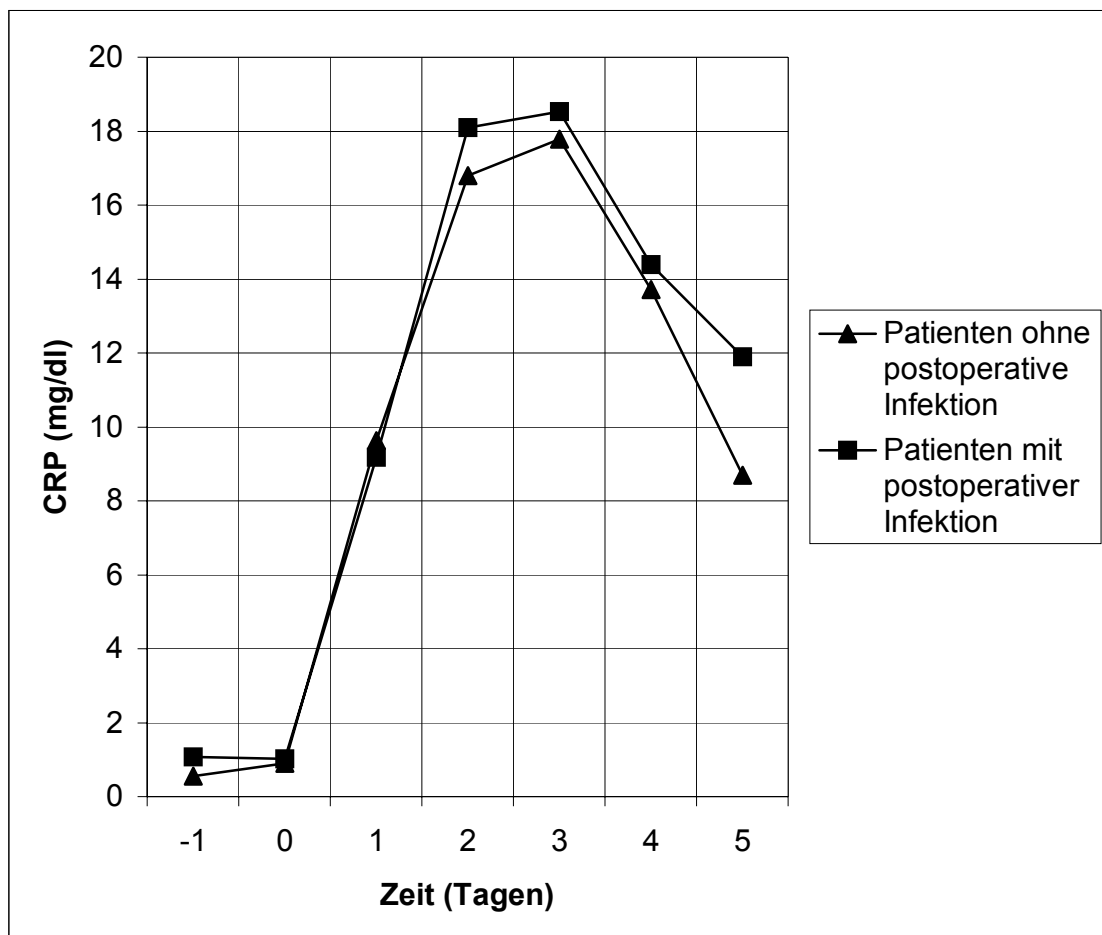


### 3.3.2 CRP

Postoperativ kam es bei allen Patienten zu einem sprunghaften und statistisch hoch signifikanten CRP-Anstieg ( $p < 0,001$ ). Am ersten postoperativen Tag auf durchschnittlich 9,57 mg/dl, am zweiten auf 16,94 mg/dl und am dritten auf 17,87 mg/dl. Am vierten postoperativen Tag begann der durchschnittliche CRP-

Wert wieder abzusinken, in der Patientengruppe ohne postoperative Infektion schneller und stärker als bei den 12 Patienten mit postoperativer Infektion. Ab dem fünften postoperativen Tag ließ sich dann ein statistisch signifikant höherer CRP-Wert in der Patientengruppe mit postoperativer Infektion ermitteln (ChiSquare=3,74; DF=1; p=0,05). Obwohl die Irrtumswahrscheinlichkeit mit p=0,09 statistisch nicht signifikant war, zeigte sich auch, dass Patienten mit einem erhöhtem präoperativen CRP-Wert deutlich häufiger an einer postoperativen Infektion erkrankten als Patienten mit CRP-Werten im Normbereich (ChiSquare=2,86; DF=1). Das Risiko für eine postoperative Infektion war bei CRP-Werten >1 mg/dl am Tag vor der Operation 2,36-fach höher als bei CRP-Werten <1 mg/dl.

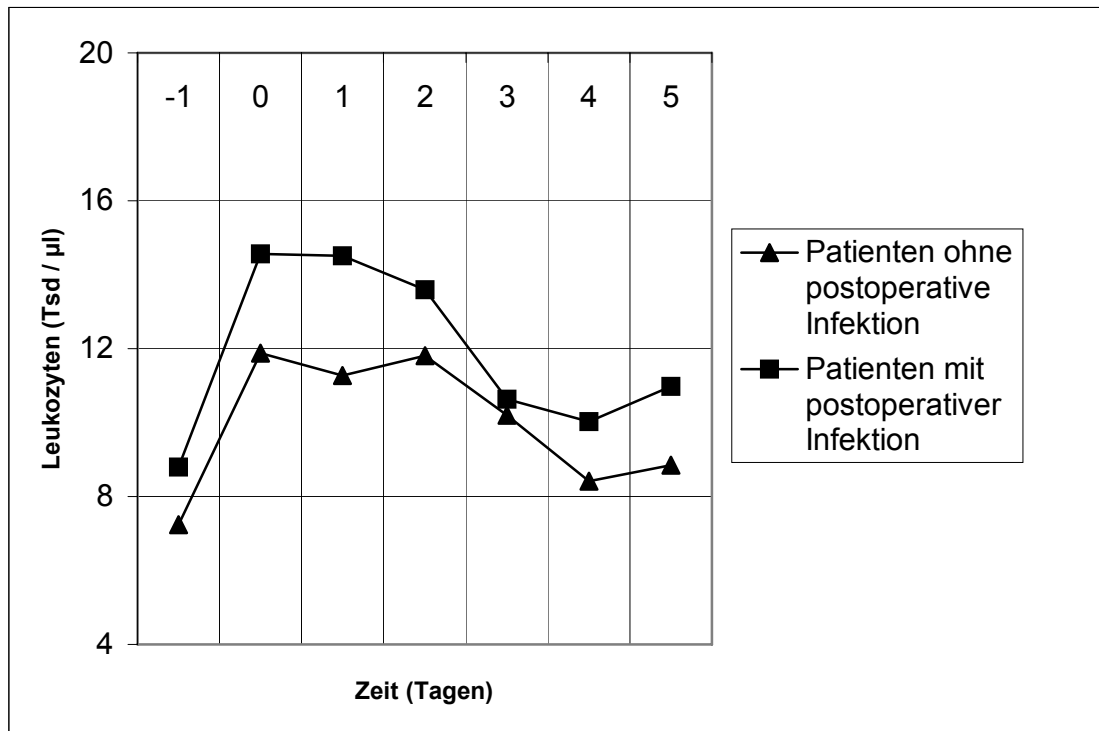
**Abb. 5: CRP-Verlauf**



### 3.3.3 Leukozyten

Die Leukozytenzahl konnte an mehreren Tagen als signifikanter Risikofaktor für das Auftreten einer postoperativen Infektion ermittelt werden. Sie war jeweils in der Patientengruppe mit postoperativer Infektion signifikant höher (Tag -1: ChiSquare=5,01; DF=1; p=0,02 ; Tag 1: ChiSquare=4,27; DF=1; p=0,03 ; Tag 5: ChiSquare=3,83; DF=1; p=0,05). Für diese Tage ließen sich die Leukozytenzahlen ermitteln, bei deren Überschreiten das Risiko für eine postoperative Infektion am größten war: Es zeigte sich, dass am Tag vor der Operation (Tag -1) das Risiko für das Auftreten einer postoperativen Infektion bei einer Leukozytenzahl >9000/ $\mu\text{l}$  am größten war. Eine postoperative Infektion trat bei Überschreiten 3,52-fach häufiger auf. Patienten, bei denen am ersten postoperativen Tag (Tag 1) mehr als 13 000 Leukozyten/ $\mu\text{l}$  gemessen wurden, hatten das größte Risiko, an einer postoperativen Infektion zu erkranken, eine postoperative Infektion kam 1,82-mal häufiger vor. Am fünften postoperativen Tag (Tag 5) ließen sich postoperative Infektionen bei einer Leukozytenzahl > 8000  $\mu\text{l}$  am häufigsten beobachten (3,51-fach häufiger).

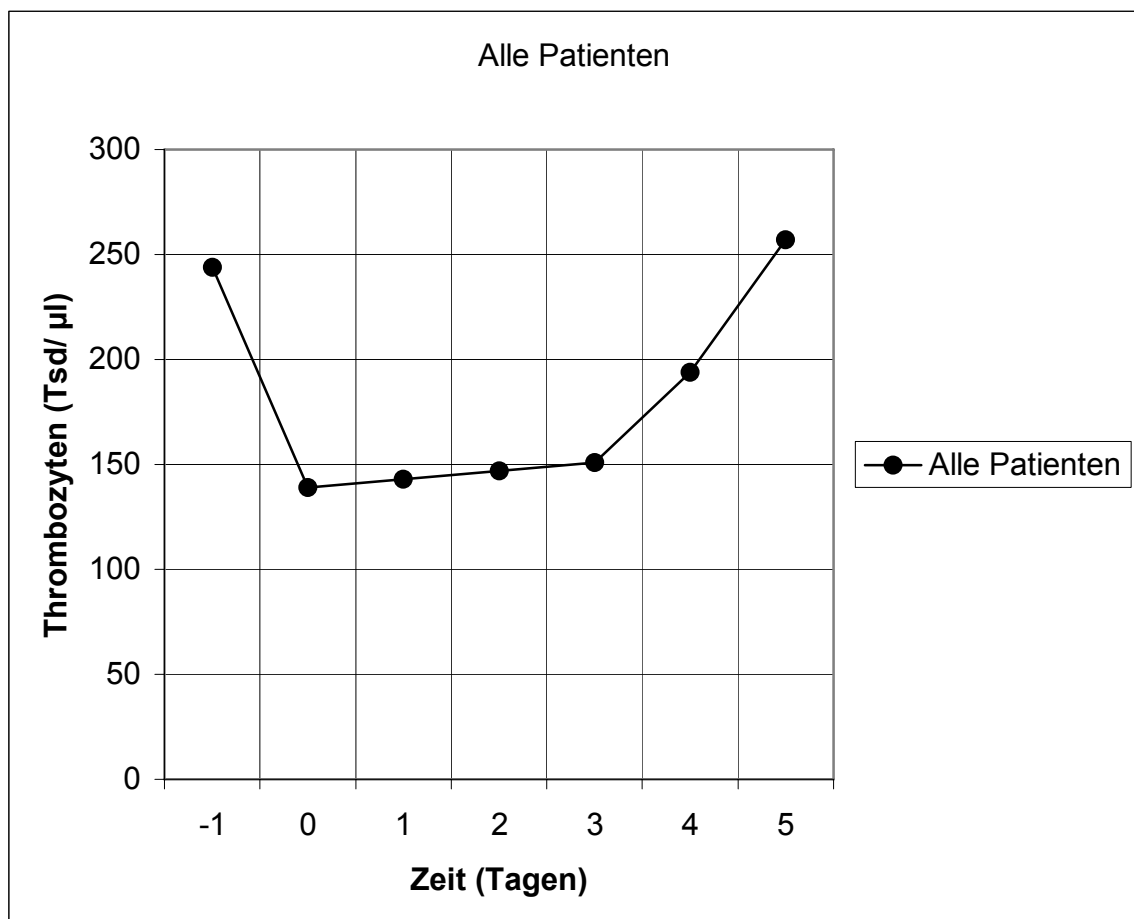
**Abb. 6: Leukozytenverlauf**



### 3.3.4 Thrombozyten

Die Thrombozytenzahl war zu keinem Zeitpunkt mit dem Auftreten einer postoperativen Infektion korreliert. Sie veränderte sich in beiden Patientengruppen gleichsinnig. Am Tag vor der Operation lag sie im Normbereich. Nach Ende der Operation ließ sich bei allen Patienten eine drastische und statistisch hoch signifikante Abnahme der Thrombozytenzahl nachweisen ( $p < 0,001$ ). Durchschnittlich sank sie auf 56 % des Ausgangswertes ab. Vom ersten bis zum vierten postoperativen Tag an kam es zu einem langsamen aber stetigen Anstieg der Thrombozyten, so dass es am fünften postoperativen Tag zu einer Normalisierung der Thrombozytenzahl mit Erreichen des Ausgangswertes kam.

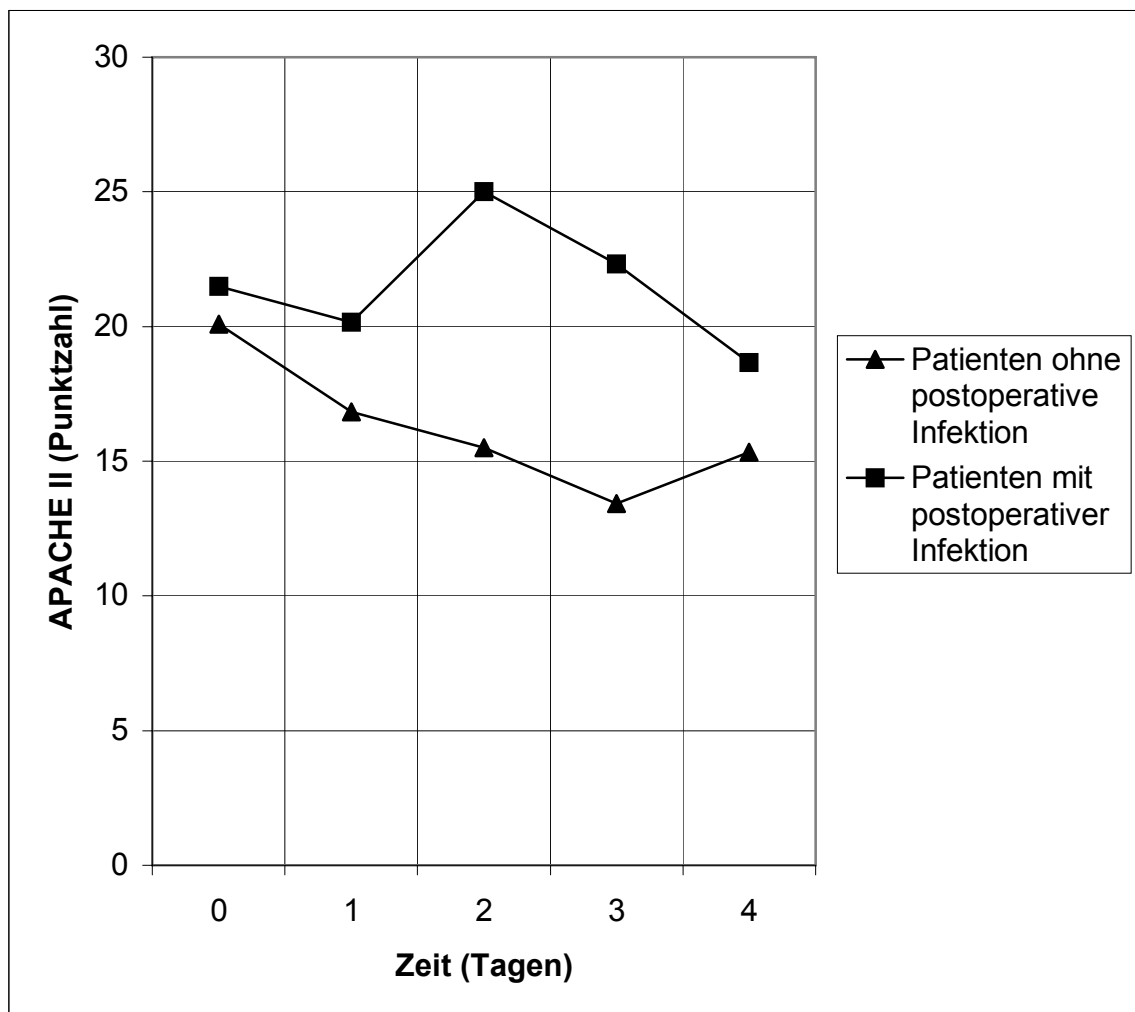
**Abb. 7: Thrombozytenverlauf**



### 3.3.5 APACHE-II-Score

Patienten, die eine postoperative Infektion entwickelten, hatten schon am ersten postoperativen Tag deutlich höhere APACHE-II-Werte als Patienten ohne postoperative Infektion (ChiSquare=3,40; DF=1; p=0,06). Ein statistisch signifikanter Unterschied ergab sich jedoch erst am zweiten postoperativen Tag (ChiSquare=3,57; DF=1; p=0,05). Mit dem größten Risiko für das Auftreten einer postoperativen Infektion gingen am ersten postoperativen Tag APACHE-II-Werte >17, am zweiten postoperativen Tag APACHE-II-Werte >18 einher. Postoperative Infektionen traten bei APACHE-II-Werten >17 am ersten postoperativen Tag 2,63-mal, bei APACHE-II-Werten >18 am zweiten postoperativen Tag 5,99-mal häufiger auf.

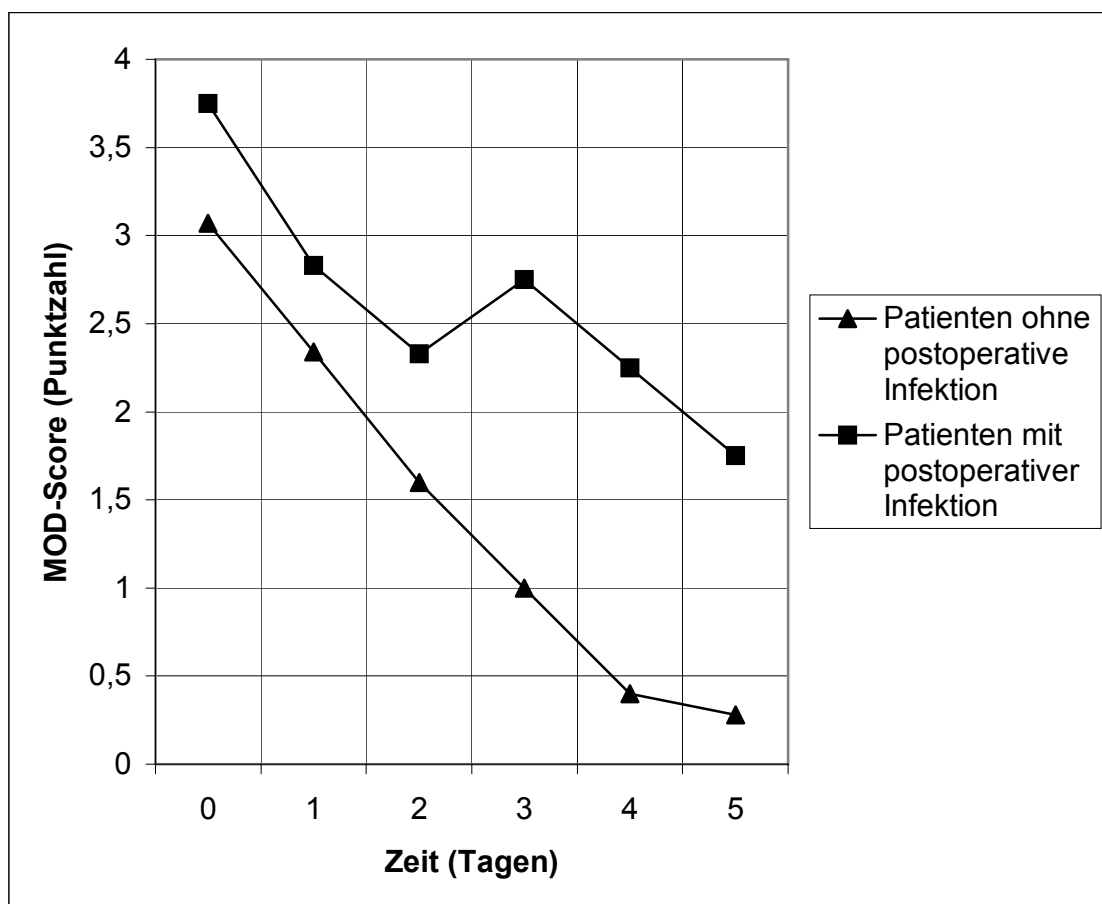
**Abb. 8: APACHE-II-Verlauf**



### 3.3.6 MOD-Score

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer postoperativen Infektion und den Multiple-Organ-Dysfunction-Score-Werten konnte für den dritten, vierten und fünften postoperativen Tag ermittelt werden. Bei der Patientengruppe mit postoperativer Infektion wurden jeweils höhere Punktwerte nachgewiesen (Tag 3: ChiSquare=7,12; DF=1; p=0,0076; Tag 4: ChiSquare=7,73; DF=1; p=0,0054 ; Tag 5: ChiSquare=6,81; DF=1; p=0,0091).

**Abb. 9: Verlauf des MOD-Score**



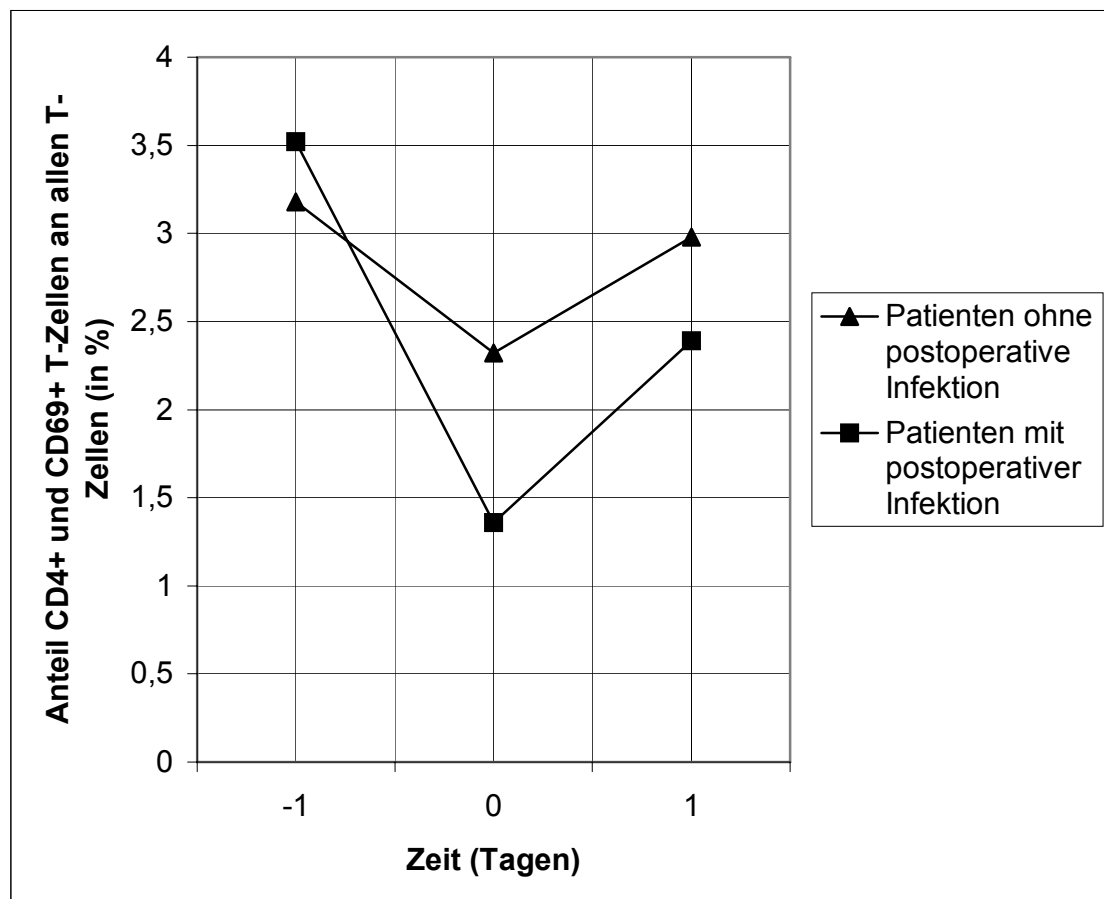
## 3.4 Infektionsdiagnose mit Hilfe experimenteller Parameter

### 3.4.1 CD4 und CD69 positive T-Zellen

Der Anteil CD69 positiver aktivierter CD4<sup>+</sup> T-Zellen an der Gesamtzahl der T-Zellen betrug am Tag vor der Operation durchschnittlich 3,22%. Bei Patienten,

die später eine postoperative Infektion durchmachten, lag der Anteil präoperativ bei 3,52%. In der Gruppe, die keine Infektion entwickelte, lag der Anteil bei nur 3,18%. Postoperativ konnte ein erniedrigter Anteil CD69 positiver aktivierter CD4<sup>+</sup> Zellen festgestellt werden. Bei Patienten mit postoperativer Infektion sank der Anteil auf 1,36% ab, bei Patienten ohne postoperative Infektion nur auf 2,32%. Das legt folgende Vermutung nahe: Je kleiner der Anteil der aktivierten CD4<sup>+</sup> Zellen an der Gesamtzahl der T-Zellen postoperativ, desto größer das Risiko für Patienten an einer postoperativen Infektion zu erkranken. Der Nachweis eines statistisch signifikanten Zusammenhangs wurde jedoch knapp verfehlt, die Irrtumswahrscheinlichkeit  $p=0,07$  zeigt aber, dass ein mehr als nur zufälliger Zusammenhang besteht.

**Abb. 10: Verlauf der CD4<sup>+</sup> und CD69<sup>+</sup> T-Zellen**

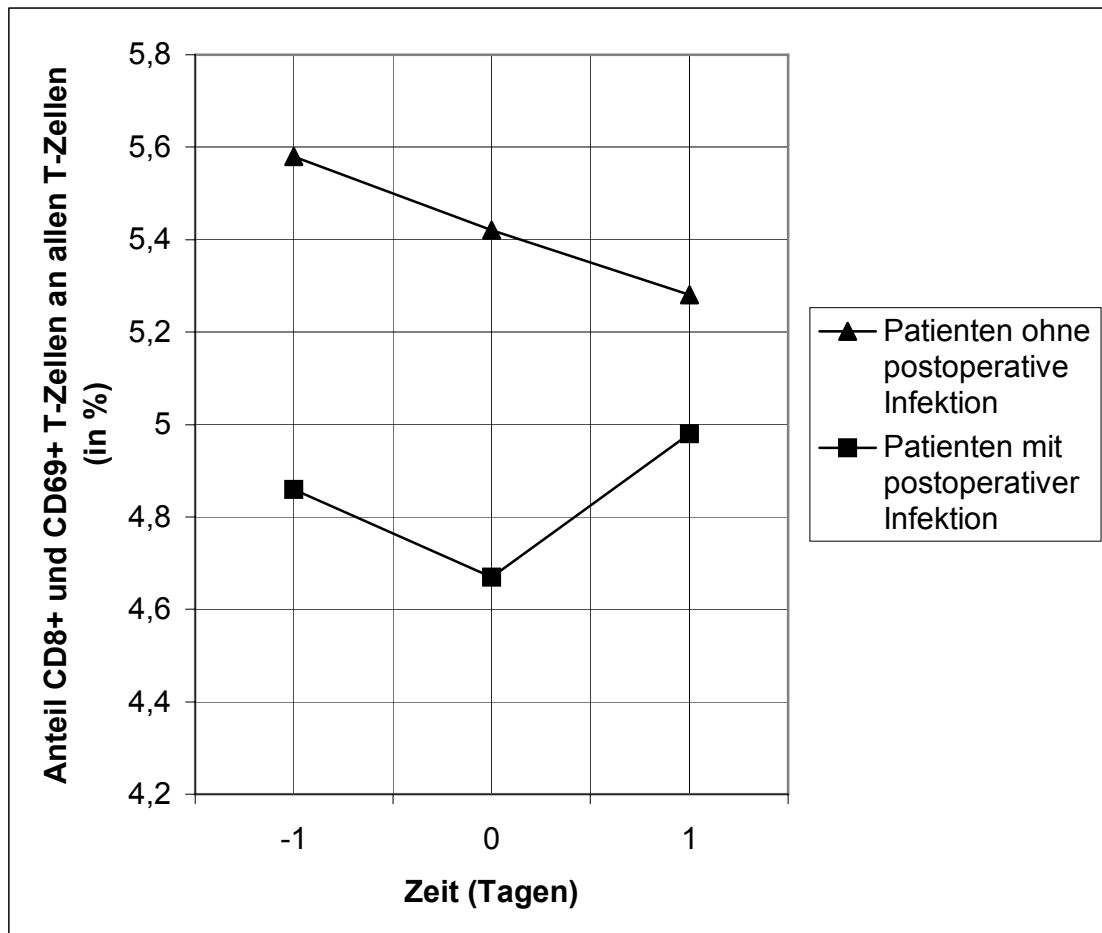




### 3.4.2 CD8 und CD69 positive T-Zellen

Der Anteil aktivierter cytotoxischer T-Zellen an der Gesamtzahl der T-Zellen veränderte sich über die drei Messtage kaum. Auffallend war jedoch, dass der Anteil aktivierter cytotoxischer T-Zellen bei den Patienten, die eine postoperative Infektion entwickelten, sowohl präoperativ als auch postoperativ niedriger ausfiel. Der Unterschied war aber zu gering, als dass ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen erniedrigtem Anteil aktivierter cytotoxischer T-Zellen und erhöhtem Risiko einer postoperativen Infektion hätte nachgewiesen werden können.

Abb. 11: Verlauf der CD8<sup>+</sup> und CD69<sup>+</sup> T-Zellen



### 3.4.3 CD4/CD8 Ratio

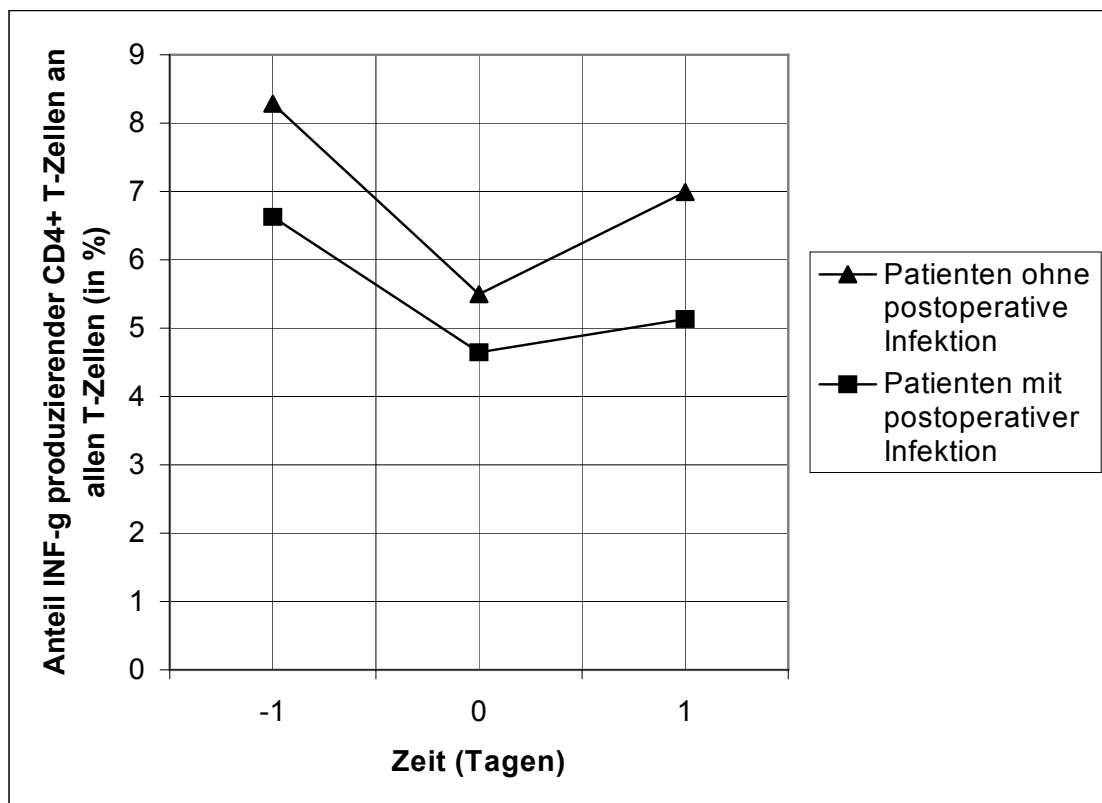
Ein Zusammenhang zwischen dem Verhältnis von CD4<sup>+</sup> Zellen zu den CD8<sup>+</sup> cytotoxischen T-Zellen und dem Auftreten postoperativer Infektionen konnte

nicht festgestellt werden. Die CD4/CD8 Ratio lag sowohl bei den Patienten mit postoperativer Infektion als auch bei den Patienten ohne postoperative Infektion immer im Referenzbereich von 1,0 – 3,0.

### 3.4.4 INF- $\gamma$ produzierende CD4 positive T-Zellen

Nach der Operation ließ sich bei allen Patienten eine statistisch hoch signifikante Abnahme der INF- $\gamma$  produzierenden T-Helfer-Zellen nachweisen ( $p < 0,001$ ). Am ersten postoperativen Tag war ein Wiederanstieg zu beobachten, wobei die Ausgangswerte nicht erreicht wurden. Patienten ohne postoperative Infektion wiesen dabei sowohl präoperativ als auch postoperativ einen höheren Anteil INF- $\gamma$  produzierender T-Helfer-Zellen auf als Patienten mit postoperativer Infektion. Der statistische Nachweis, dass ein erniedrigter Anteil INF- $\gamma$  produzierender T-Helfer-Zellen zu einem erhöhten Risiko für das Auftreten einer postoperativen Infektion führt, gelang trotz der augenscheinlichen Unterschiede nicht.

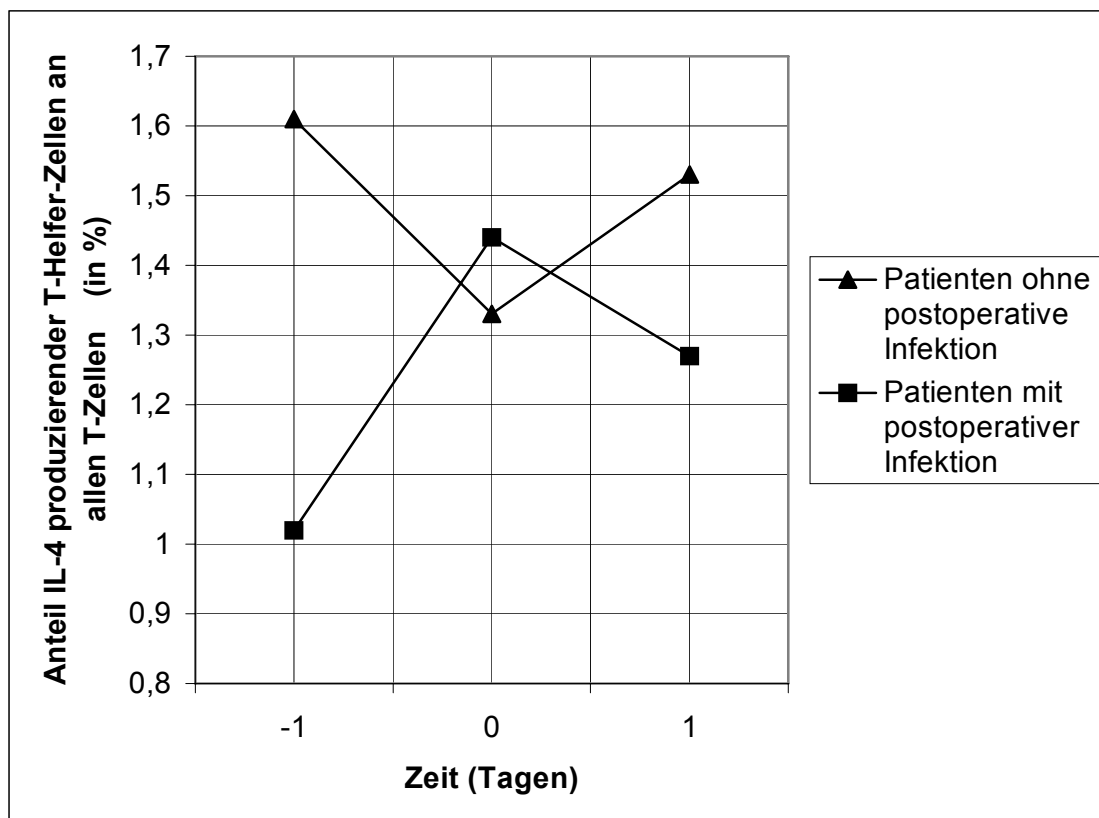
Abb. 12: Verlauf der INF- $\gamma$  produzierenden CD4<sup>+</sup> T-Zellen



### 3.4.5 IL-4 produzierende CD4 positive T-Zellen

Präoperativ fand sich bei den Patienten ohne postoperative Infektion ein etwas höherer Anteil IL-4 produzierender T-Helfer-Zellen. Postoperativ kam es in den beiden Patientengruppen zu einer gegenläufigen Entwicklung. Am ersten postoperativen Tag nahm der Anteil IL-4 produzierender CD4<sup>+</sup>-Zellen bei den Patienten ohne postoperative Infektion ab, wohingegen er bei den Patienten mit postoperativer Infektion zunahm. Am zweiten postoperativen Tag kam es bei den Patienten ohne postoperative Infektion zu einer leichten Zunahme, bei den Patienten mit postoperativer Infektion zu einer leichten Abnahme IL-4 produzierender T-Helfer-Zellen, wobei in beiden Fällen die Ausgangswerte nicht erreicht wurden. Die Zunahme der IL-4 produzierenden T-Helfer-Zellen nach der Operation, die ausschließlich in der Patientengruppe mit postoperativer Infektion zu beobachten war, reichte nicht aus, um einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen ihr und dem Auftreten einer postoperativen Infektion herzustellen.

**Abb. 13: Verlauf der IL-4 produzierenden CD4<sup>+</sup> T-Zellen**



## **4. Diskussion**

### **4.1 Postoperative Infektionen nach Herzchirurgie: Epidemiologische Daten im Vergleich**

In der vorliegenden Arbeit trat bei 11,65% der beobachteten Patienten eine postoperative Infektion nach elektivem herzchirurgischem Eingriff auf. Die häufigste Infektion war die Wundinfektion (43%), gefolgt von der Harnwegsinfektion (29%), der Pneumonie (14%) und der Sepsis (14%). In vergleichbaren Arbeiten lag die Prävalenz postoperativer Infektionen nach Herzchirurgie zwischen 9,2 und 13,3 Prozent und damit im selben Bereich (47,55,60). Orita et al. (55) und Rebollo et al. (60) fanden in ihren Patientenkollektiven jedoch eine andere Häufigkeitsverteilung der unterschiedlichen postoperativen Infektionen. Die Wundinfektion war ebenfalls die häufigste Infektion. Am zweithäufigsten traten jedoch Pneumonien auf. Harnwegsinfektionen standen erst an dritter Stelle, gefolgt von septischen Komplikationen. Vergleicht man die Prävalenz nosokomialer Infektionen in der Herzchirurgie mit der Gesamtprävalenz in der Chirurgie, so zeigt sich ein signifikanter Unterschied. In der NIDEP-Studie konnte eine Gesamtprävalenz für krankenhauserworbene Infektionen in der Chirurgie von 3,8% ermittelt werden (32). In der Prävalenzstudie von Gastmeier et al. lag die nosokomiale Infektionsrate für chirurgische Patienten in Deutschland sogar nur bei 3,5% (22). Bleibt festzuhalten, dass die Infektionsraten in der Herzchirurgie insgesamt jedoch deutlich höher liegen.

### **4.2 Risikofaktoren für postoperative Infektionen nach Herzchirurgie**

#### **Geschlecht als Risikofaktor**

Die meisten Autoren, die herzchirurgische Patientenkollektive untersucht haben, vertreten die Ansicht, dass das Geschlecht nicht prädisponierend für eine postoperative Infektion ist (48,57,68,70). Dies deckt sich mit den Ergebnissen dieser Arbeit. In den wenigen Studien, in denen ein Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und dem Auftreten einer postoperativen

Infektion gefunden werden konnte, überwog das weibliche (5,60) und nur in einer Untersuchung das männliche Geschlecht (73).

### **Alter als Risikofaktor**

Es wird kontrovers diskutiert, ob ein Zusammenhang zwischen dem Alter eines Patienten und dem Auftreten einer postoperativen Infektion besteht. In verschiedenen Studien an herzchirurgischen Patienten stellte sich das fortgeschrittene Alter als Risikofaktor dar (5,20,44,60). Als Altersgrenze, nach deren Überschreiten das Risiko steigt, wurde das 60. Lebensjahr beschrieben (39,55). Dabei hatten die über 60-jährigen Patienten eine statistisch signifikant höhere Inzidenz postoperativer Infektionen als die unter 60-jährigen. Andere Autoren sehen dagegen keinen Zusammenhang zwischen Patientenalter und dem Auftreten einer postoperativen Infektion nach herzchirurgischem Eingriff (41,48,57,68,70). Auch in dieser Arbeit ließ sich keine statistisch signifikante Korrelation nachweisen.

### **Art der Operation als Risikofaktor**

Aufgrund der sehr unterschiedlichen Fallzahlen pro Operationsverfahren war es in dieser Arbeit nicht möglich zu überprüfen, ob ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Art der Operation und dem Auftreten einer postoperativen Infektion bestand. Die höchste Infektionsrate wurde jedoch bei den Patienten mit aortocoronarer Revaskularisation beobachtet. 16% aller Patienten nach Bypassoperation entwickelten eine Infektion, 7% nach ACVB mit Klappenersatz und 7% mit sonstigem herzchirurgischem Eingriff. Bei den Patienten mit Klappenersatz trat keine Infektion auf. Auch Engelman et al. (17), Grmoljez et al. (25) sowie Shuhaiber et al. (70) fanden die höchsten Infektionsraten nach Bypassoperation. Nach Ansicht dieser Autoren geht die aortocoronare Revaskularisation mit einem statistisch signifikant höheren Risiko für eine postoperative Infektion einher als der Klappenersatz. Als Gründe werden unter anderem die längere Operationsdauer und die größere Wundfläche durch die zusätzliche Entnahme einer Beinvene beim ACVB aufgeführt. Das Risiko einer postoperativen Infektion wird laut Culliford et al.

(13) bei der aortocoronaren Bypassoperation sogar noch gesteigert, wenn die Arteria mammaria ein- oder beidseitig zur Revaskularisation verwendet wird. Er beschreibt eine zweifach erhöhte Infektionsrate bei Verwendung der linken A. mammaria und ein achtfach gesteigertes Risiko bei Verwendung beider Arterien. Im Widerspruch dazu stehen Arbeiten von Cheung et al. (9), der eine signifikant höhere Infektionsrate nach Klappenersatz gefunden hat und Rebollo et al. (60), der die höchste Infektionsrate bei einer Kombination aus Klappenersatz mit ACVB beobachtete. Andere Autoren konnten in ihren Untersuchungen keinen Unterschied der Infektionsraten finden und sehen deshalb die Art der Operation auch nicht als Risikofaktor für eine postoperative Infektion an (39,57,68).

### **Operationsdauer bzw. Bypasszeit als Risikofaktor**

Es wird häufig postuliert, dass die Operationsdauer die postoperative Infektionsrate beeinflusst (1,41,55). Für herzchirurgische Patienten gibt es aber mindestens ebensoviele Studien, die einen Zusammenhang zwischen erhöhter Infektionsrate und Operationsdauer verneinen (5,10,52). Wegen dieser widersprüchlichen Datenlage wurde in dieser Arbeit nicht die Operationsdauer, sondern die Bypasszeit, also die Dauer der extrakorporalen Zirkulation auf einen möglichen Zusammenhang hin untersucht. Postuliert wurde, dass es mit zunehmender Dauer der extrakorporalen Zirkulation zu einer Zunahme der Immunmodulation und dadurch zu einer erhöhten Anfälligkeit für eine postoperative Infektion kommen könnte. In einigen Untersuchungen konnte die Bypasszeit auch als Risikofaktor für das Auftreten einer postoperativen Infektion ermittelt werden (37,40,47,59). Je länger die Bypasszeit, desto größer war dabei das Risiko für den Patienten, eine postoperative Infektion zu bekommen. In der vorliegenden Arbeit hatte die Dauer der extrakorporalen Zirkulation jedoch keinen Einfluss auf die postoperative Infektionsrate. Mit zunehmender Dauer der extrakorporalen Zirkulation kam es nicht zu einem erhöhten Auftreten postoperativer Infektionen. Die Immunmodulation scheint also weniger zeitabhängig zu sein als angenommen. Auch Murphy et al. (52) sehen keinen

Zusammenhang zwischen der Dauer der extrakorporalen Zirkulation und der Infektionsrate.

### **Blutprodukte als Risikofaktor**

Als ein statistisch signifikanter Risikofaktor für das Auftreten einer postoperativen Infektion konnte in dieser Arbeit die Gabe von Blutprodukten ermittelt werden. Dass Bluttransfusionen die Inzidenz postoperativer Infektionen erhöhen, konnte auch in anderen Studien für allgemein chirurgische (30,31), unfallchirurgische (51), neurochirurgische (77) und cardiochirurgische Patienten (41,47,48,57,60) nachgewiesen werden. Als Ursache werden transfusionsbedingte immunologische Veränderungen diskutiert, die zu einer Immunsuppression führen. Betroffen ist hauptsächlich die zelluläre Immunantwort. Der Gabe von Blutprodukten folgt eine Abnahme der T-Helfer-Zellen und eine Zunahme der T-Suppressor-Zellen. Dies resultiert in einer Abnahme des CD4/CD8 Quotienten (31). Auch die Zahl (31) und die Aktivität der Natürlichen-Killer-Zellen (33) nimmt ab. Die IL-2-Produktion der T-Helfer-Zellen ist ebenfalls vermindert (38). IL-2 ist ein Cytokin, das von den aktivierten T-Zellen selbst gebildet wird und das naive T-Zellen zur Proliferation und Differenzierung anregt. Außerdem stimuliert IL-2 das Wachstum von Natürlichen-Killer-Zellen und von B-Zellen (29). Eine Abnahme der IL-2-Produktion führt somit zu einer verminderten Proliferation der T-Zellen, zu einer Beeinträchtigung der Aktivität der Natürlichen-Killer-Zellen und zu einer herabgesetzten B-Zell-Stimulation, durch die es auch zu einer Abnahme der Antikörperproduktion kommt. Die immunologischen Veränderungen nach der Gabe von Blutprodukten scheinen dabei abhängig zu sein von der Art der Transfusionen. Homologe Bluttransfusionen führen zu stärkeren immunologischen Veränderungen als autologe Bluttransfusionen und sind deshalb auch mit einem größeren Risiko für das Auftreten einer postoperativen Infektion verbunden (46,52). Cousin und Mitarbeiter konnten beim Vergleich von homolog zu autolog transfundierten Patienten nach cardiochirurgischem Eingriff eine 2-fach erhöhte postoperative Infektionsrate für die homolog transfundierte Patientengruppe nachweisen (11).

Auch die Zahl der Blutprodukte ist für das Auftreten einer postoperativen Infektion entscheidend (16,39,40,64). Je mehr Blutkonserven ein Patient in dieser Arbeit erhalten hat, desto größer war das Risiko einer postoperativen Infektion. Bei der Transfusion von >5 Blutprodukten stieg das Risiko für eine postoperative Infektion um den Faktor 1,35, bei >10 Blutprodukten sogar um den Faktor 9,77 an.

### **Katecholamine als Risikofaktor**

Schon in mehreren Untersuchungen konnte ein Zusammenhang zwischen der Gabe von Katecholaminen und dem Auftreten von postoperativen Infektionen nach cardiochirurgischen Eingriffen gezeigt werden (40,64). Der Grund für das gehäufte Auftreten postoperativer Infektionen nach Katecholamingabe ist vermutlich eine Modulation des Immunsystems durch die Katecholamine. Katecholamine führen zu einer Veränderung der Zahl und der Funktion der Leukozyten (7). Nach exogener Zufuhr bei gesunden Probanden kommt es zu einer Leukozytose mit initialem Anstieg der Lymphozyten, dem eine Neutrophilie und relative Lymphopenie folgt (6,50,71). Diese Veränderungen führen wahrscheinlich zu einer Abschwächung der Immunantwort und erhöhen somit die Empfänglichkeit für eine postoperative Infektion. Neben dieser immunsuppressiven Wirkung konnte auch nachgewiesen werden, dass Katecholamine das Wachstum zahlreicher grampositiver und gramnegativer Keime direkt stimulieren (42) und somit das Risiko für postoperative Infektionen erhöhen. Werden Katecholamine infundiert, so kommt es außerdem zu einer schnelleren bakteriellen Besiedelung von Kathetern, mit Ausbildung eines bakteriellen Biofilms, der die Patienten für eine katheterassoziierte Infektion prädisponiert (42). Auch in der vorliegenden Untersuchung konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Gabe von Katecholaminen und dem Auftreten von postoperativen Infektionen nachgewiesen werden. Das Risiko, eine postoperative Infektion zu entwickeln, war dabei abhängig von der Dauer der Katecholamingabe. Je länger ein Patient Katecholamine erhielt, desto größer war sein Risiko, an einer postoperativen Infektion zu erkranken. Bei einer Katecholamingabe >1 Tag war das Risiko



1,45-fach, bei >2 Tagen bereits 7,25-fach und bei >3 Tagen sogar 14,83-fach größer, an einer postoperativen Infektion zu erkranken.

### **4.3 Infektionsdiagnose**

#### **4.3.1 Diagnostische Wertigkeit von Temperatur, CRP und Leukozyten**

Die Körpertemperatur stieg bei allen Patienten postoperativ signifikant an. Das Temperaturmaximum wurde am zweiten postoperativen Tag erreicht. Danach kam es zu einer stetigen Abnahme der Körpertemperatur. Erst am vierten postoperativen Tag zeigte sich ein unterschiedlicher Verlauf der Körpertemperatur in den beiden Patientengruppen: bei den Patienten mit postoperativer Infektion konnte ein erneuter Temperaturanstieg nachgewiesen werden, wohingegen bei den Patienten ohne Infektion die Körpertemperatur weiter absank. Miholic und Mitarbeiter fanden in ihrer Untersuchung sogar erst am sechsten postoperativen Tag eine statistisch signifikant höhere Körpertemperatur bei den Patienten mit postoperativer Infektion im Vergleich zu den Patienten ohne postoperative Infektion (47). Auch Aronen konnte erst im späteren postoperativen Verlauf eine höhere Körpertemperatur bei den Patienten beobachten, die eine postoperative Infektion entwickelten (2). Als Grenzwert, bei dessen Überschreiten das Risiko einer postoperativen Infektion steigt, ermittelte Bitkover et al. eine Körpertemperatur von  $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$  (3), Engelman und Mitarbeiter eine Körpertemperatur von  $\geq 38,3^{\circ}\text{C}$  (17). Die Körpertemperatur eignet sich also in den ersten postoperativen Tagen nicht zur Diagnose einer Infektion; erst im späteren postoperativen Verlauf kann ein Ausbleiben des Temperaturabfalls oder ein erneuter Temperaturanstieg als Hinweis auf eine mögliche postoperative Infektion gedeutet werden.

Beim C-reaktivem Protein (CRP), einem Akute-Phase-Protein, konnte postoperativ ebenfalls bei allen Patienten ein hoch signifikanter Anstieg beobachtet werden. Bei Aronen (2) und bei Boralessa et al. (4) wurde das CRP-Maximum am zweiten postoperativen Tag beobachtet. In dieser Arbeit sowie bei Bitkover et al. (3) und bei Ghoneim und Mitarbeitern (24) wurde der Spitzenwert am

dritten postoperativen Tag erreicht. Danach begann der CRP-Wert wieder abzusinken; in der Patientengruppe ohne postoperative Infektion tendenziell schneller und stärker, so dass sich ab dem fünften postoperativen Tag ein statistisch signifikant höherer CRP-Wert in der Patientengruppe mit postoperativer Infektion gezeigt hat. Auch Boralessa et al. (4) fand erst am fünften postoperativen Tag einen signifikanten Unterschied im CRP-Verlauf, Ghoneim und Mitarbeiter (24) sogar erst ab der zweiten postoperativen Woche. Dies bedeutete, dass auch mit dem C-reaktiven Protein eine postoperative Infektion in den ersten postoperativen Tagen nicht erkannt werden kann. Erst im späteren postoperativen Verlauf sind anhaltend hohe CRP-Werte ein Hinweis für eine Infektion. Eine weitere Beobachtung dieser Arbeit ist, dass Patienten mit einem erhöhten präoperativen CRP-Wert ( $>1\text{mg/dl}$ ) deutlich häufiger an einer postoperativen Infektion erkrankten als Patienten mit CRP-Werten im Normbereich. Obwohl das Signifikanzniveau mit  $p=0,09$  nicht ganz erreicht werden konnte, deutet sich das C-reaktive Protein als prädiktiver Wert an. Kress und Mitarbeiter sahen in ihrer Untersuchung keine Korrelation zwischen erhöhten präoperativen CRP-Werten und dem gehäuften Auftreten von postoperativen Infektionen (36). Boralessa et al. hingegen konnten aus ihren Daten einen klaren Zusammenhang nachweisen (4) und sehen deshalb das C-reaktive Protein als möglichen prädiktiven Wert an. Weitere Untersuchungen des C-reaktiven Proteins sind sicherlich sinnvoll. Sollte es sich in diesen auch als prädiktiv erweisen, so wäre ein kostengünstiger, objektiv und einfach zu bestimmender Laborwert gefunden, mit dessen Hilfe Risikopatienten präoperativ identifiziert werden könnten.

Die Leukozyten waren bereits unmittelbar nach Ende der Operation signifikant erhöht, stiegen aber in den ersten postoperativen Stunden noch weiter an, so dass der Maximalwert noch am Tag der Operation erreicht wurde. Am ersten und zweiten postoperativen Tag war bereits eine leichte, ab dem dritten postoperativen Tag eine starke Abnahme der Leukozyten zu beobachten. Aufgefallen ist, dass die Patienten mit postoperativer Infektion an allen postoperativen Tagen eine höhere durchschnittliche Leukozytenzahl hatten, als

die Patienten ohne Infektion. Ein statistisch signifikanter Unterschied ließ sich jedoch nur für den ersten und den fünften postoperativen Tag ermitteln. Miholic et al. fanden innerhalb der ersten sechs postoperativen Tage keinen statistisch signifikanten Unterschied, erst nach dem sechsten postoperativen Tag konnten sie für die Patienten, die eine postoperative Infektion entwickelten, signifikant höhere Leukozytenzahlen nachweisen (47). Verdächtig für eine Infektion ist laut Bitkover et al. vor allem ein erneuter Anstieg der Leukozyten im postoperativen Verlauf (3). Leukozytenzahlen  $>13000/\mu\text{l}$  am ersten postoperativen Tag und  $>8000/\mu\text{l}$  am fünften postoperativen Tag gingen in dieser Arbeit mit dem größten Risiko einher, an einer postoperativen Infektion zu erkranken. Auch für den Tag vor der Operation ließ sich ein Grenzwert ermitteln: wurden bei einem Patienten präoperativ mehr als 9000 Leukozyten/ $\mu\text{l}$  gemessen, so entwickelte dieser 3,52-fach häufiger eine postoperative Infektion. Patienten die diesen Grenzwert überschreiten, sind somit als Risikopatienten anzusehen. Bei elektiven Eingriffen sollte nach einer möglichen Ursache geforscht, gegebenenfalls eine antimikrobielle Therapie erfolgen und die OP bis zum Unterschreiten des Grenzwertes verschoben werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass Temperatur, CRP und Leukozyten insbesondere im frühen postoperativen Verlauf unzuverlässige Parameter zur Diagnose einer postoperativen Infektion sind. Erst im späteren postoperativen Verlauf gelingt mithilfe der klassischen Entzündungsparameter eine Unterscheidung zwischen Inflammation und Infektion. Präoperativ erhöhte CRP-Werte ( $>1\text{mg/dl}$ ) und Leukozytenzahlen  $>9000/\mu\text{l}$  sind klare Risikofaktoren für das Auftreten einer postoperativen Infektion.

#### **4.3.2 Prognostische Wertigkeit von Score-Systemen**

In der vorliegenden Arbeit wurden auch Score-Systeme hinsichtlich ihrer Wertigkeit zur frühzeitigen Vorhersage infektiöser Komplikationen untersucht. Überprüft wurde der APACHE II (34) und der Multiple-Organ-Dysfunction-Score (43). Beide sind nicht infektionsspezifisch, sondern quantifizieren den allgemeinen Krankheitsschweregrad. Dennoch hat sich gezeigt, dass die

postoperative Beurteilung des allgemeinen Krankheitsschweregrades eine Risikostratifizierung im Hinblick auf eine postoperative Infektion erlaubt. Der APACHE II war dabei dem MOD-Score überlegen. Patienten, die eine postoperative Infektion entwickelten, hatten an allen postoperativen Tagen durchschnittlich höhere APACHE II und MOD-Score Werte, als Patienten ohne Infektion. Hohe Score-Werte am ersten postoperativen Tag bedingten weiterhin hohe Scores an den folgenden Tagen. Bei initial niedrigen Scores kam es im Verlauf der folgenden Tage zu einem weiteren Abfall der Score-Werte. Ein statistisch signifikanter Unterschied der Score-Werte ergab sich beim APACHE II bereits am zweiten, beim MOD-Score erst ab dem dritten postoperativen Tag. Mithilfe des APACHE-II-Scores konnten also Patienten mit postoperativem Infektionsrisiko einen Tag früher erkannt werden als mit dem MOD-Score. Entscheidend für die Früherkennung war die Höhe des Scores. Patienten, die am zweiten postoperativen Tag einen APACHE-II-Wert  $>18$  boten, hatten in dieser Arbeit ein 6-fach erhöhtes und damit das größte Risiko an einer postoperativen Infektion zu erkranken. Die Höhe des APACHE-II-Scores stellte auch in anderen herzchirurgischen Patientenkollektiven einen prädiktiven Faktor für die Entwicklung infektiöser Komplikationen dar (37,59). Pilz und Mitarbeiter beispielsweise demonstrierten, dass ein APACHE-II-Wert  $\geq 19$  am ersten postoperativen Tag sich zur Risikoabschätzung septischer Komplikationen eignet (59). Auch Kuhn et al. bestätigten, dass es mit dem APACHE II möglich ist, am ersten postoperativen Tag die Patienten herauszufiltern, die ein erhöhtes Sepsisrisiko nach Herzchirurgie haben (37). Obwohl sich in dieser Arbeit für den ersten postoperativen Tag kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den zwei Patientengruppen belegen ließ, so hat sich doch gezeigt, dass der APACHE II für ein prospektives Screening jener Patienten geeignet ist, die nach Herzchirurgie ein hohes Risiko für postoperative Komplikationen aufweisen.

### **4.3.3 Diagnostische und prognostische Wertigkeit immunologischer Parameter der spezifischen Immunantwort**

Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass große chirurgische Eingriffe zu einer gestörten spezifischen Immunabwehr führen (12,14,28,61,65,75). Nach cardiochirurgischen Eingriffen mit extrakorporaler Zirkulation ist vor allem die zelluläre Immunität, deren Träger die T-Zellen sind, beeinträchtigt (28,61). T-Zellen bestehen aus verschiedenen Subgruppen, die sich anhand von charakteristischen Oberflächenmerkmalen unterscheiden lassen. Postoperativ kommt es zu Veränderungen dieser Subpopulationen, wie bereits von einigen Autoren beschrieben (23,28,45,75). Gennari et al gelang es, für abdominal- und thoraxchirurgische Patienten (23), Menges et al. für Traumapatienten (45), einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer postoperativen Infektion und den Veränderungen der T-Zell-Subpopulationen postoperativ bzw. posttraumatisch herzustellen. In dieser Arbeit wurden Veränderungen der T-Zell-Subpopulationen nach herzchirurgischen Eingriffen mit extrakorporaler Zirkulation durchflußzytometrisch untersucht und mit dem Auftreten klinisch relevanter Infektionen korreliert, mit dem Ziel, einen Laborparameter zu finden, der eine frühe und zuverlässige Infektionsdiagnose ermöglicht. Untersucht wurden der CD4/CD8 Quotient, der Anteil CD4<sup>+</sup> und CD69<sup>+</sup> T-Zellen sowie der Anteil CD8<sup>+</sup> und CD69<sup>+</sup> T-Zellen an der Gesamtzahl der T-Zellen, außerdem der Anteil INF- $\gamma$  produzierender CD4 positiver T-Zellen und der Anteil IL-4 produzierender CD4 positiver T-Zellen an der Gesamtzahl der T-Zellen.

#### **CD4/CD8 Ratio**

Ide et al. (28) und De Angeli und Kollegen (14) beobachteten in ihren Untersuchungen eine Umkehr des CD4/CD8 Quotienten nach extrakorporaler Zirkulation, bedingt durch eine stärkere Abnahme der T-Helfer-Zellen als der cytotoxischen T-Zellen. Interpretiert wurde der inverse Quotient als Indikator für eine verminderte zelluläre Immunität. Eine Korrelation mit postoperativ auftretenden Infektionen erfolgte in beiden Studien jedoch nicht. In dieser Arbeit lag der CD4/CD8 Quotient sowohl bei Patienten mit postoperativer Infektion als auch bei Patienten ohne postoperative Infektion an allen Messtagen im

Referenzbereich, ohne dass es zu einer Umkehr des Quotienten gekommen wäre. Ein Zusammenhang zwischen dem Verhältnis von CD4<sup>+</sup> Zellen zu CD8<sup>+</sup> Zellen und dem Auftreten postoperativer Infektionen konnte nicht festgestellt werden. Der CD4/CD8 Quotient hatte somit weder eine diagnostische noch prognostische Bedeutung in dem untersuchten Patientenkollektiv. Dies deckt sich mit der von Zedler et al. gemachten Beobachtung, dass CD4<sup>+</sup> Zellen in gleichem Prozentsatz wie CD8<sup>+</sup> Zellen von Traumapatienten wie von gesunden Probanden gebildet werden und somit in diesem chirurgischem Patientenkollektiv kein Maß für die Infektanfälligkeit eines Patienten darstellen (80).

### **CD4 und CD69 positive T-Zellen**

Die Antwort des Immunsystems auf eine Infektion ist die frühe Leukozytenaktivierung. Diese geht einher mit einer Veränderung der Zelloberfläche der weißen Blutkörperchen (78). Eines der ersten Oberflächenantigene das von T-Zellen nach Aktivierung exprimiert wird, ist CD 69, es wirkt ko-stimulierend auf die T-Zell-Aktivierung und Proliferation (81). In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die extrakorporale Zirkulation zu einer Beeinträchtigung der Leukozytenaktivierung führt. Nach extrakorporaler Zirkulation kam es bei allen Patienten zu einer signifikanten Abnahme aktivierter CD4<sup>+</sup> T-Zellen. Darüber hinaus konnte demonstriert werden, dass Patienten, die eine postoperative Infektion entwickelten, einen geringeren Anteil aktivierter CD4<sup>+</sup> T-Zellen aufwiesen als Patienten ohne Infektion nach extrakorporaler Zirkulation. Je kleiner der Anteil der aktivierten CD4<sup>+</sup> Zellen postoperativ war, desto größer war das Risiko für Patienten, an einer Infektion zu erkranken. Schon Teodorczyk et al. konnte nach Verbrennungen eine gestörte T-Zell-Aktivierung beobachten, verbunden mit einem erhöhten Infektionsrisiko für die betroffenen Patienten (74). Ursache der erhöhten Infektanfälligkeit ist die aus der gestörten T-Zell Aktivierung resultierende verminderte IL-2 Sekretion (78), die zu einer verminderten Proliferation der T-Zellen, zu einer Beeinträchtigung der Aktivität der Natürlichen-Killer-Zellen und zu einer herabgesetzten B-Zell-Stimulation führt (29). Die Messung aktivierter CD4 und CD69 positiver T-Zellen könnte

somit nach Ermittlung von Grenzwerten in weiteren Untersuchungen ein vielversprechender Laborparameter für die frühe Infektionsdiagnose nach cardiochirurgischem Eingriff werden.

### **CD8 und CD69 positive T-Zellen**

Nach extrakorporaler Zirkulation kam es bei allen Patienten auch zu einer Abnahme der aktivierten cytotoxischen T-Zellen. Patienten, die eine postoperative Infektion entwickelten, hatten an allen Messtagen niedrigere Werte als Patienten ohne Infektion. Die Differenz der Werte fiel jedoch deutlich geringer aus, als die bei der Messung aktivierter CD4<sup>+</sup> T-Zellen. Ursache ist wahrscheinlich die von Shimaoka und Mitarbeitern (69) beschriebene, im Verhältnis zu den CD4<sup>+</sup> T-Zellen geringere Ausfallende Aktivierung von CD8<sup>+</sup> T-Zellen. Die Messung aktivierter cytotoxischer T-Zellen im Hinblick auf eine frühe Infektionsdiagnose erscheint daher weniger interessant.

### **INF- $\gamma$ bzw. IL4 produzierende CD4<sup>+</sup> T-Zellen**

Nach Trauma, Verbrennung oder großen chirurgischen Eingriffen kann es zu einer Imbalance der Th1/Th2-Antwort kommen (26,27,56). Dieser Shift ist, wie von Menges et al. (45), O'Sullivan und Mitarbeitern (56) sowie Zedler und Kollegen (79) beschrieben, verbunden mit einer Downregulation der zellulären Immunität, einer verminderten Infektabwehr und einer erhöhten Infektionsrate. Auch nach extrakorporaler Zirkulation deutete sich in dieser Untersuchung ein ähnliches Ergebnis an. Es kam zu einer hoch signifikanten Abnahme der INF- $\gamma$  produzierenden CD4<sup>+</sup> T-Zellen, die bei Patienten mit postoperativer Infektion noch deutlicher ausgeprägt war als bei Patienten ohne Infektion. Außerdem zeigte sich eine Zunahme der IL4-produzierenden CD4<sup>+</sup> T-Zellen bei Patienten, die eine Infektion entwickelten. Je stärker dieser sogenannte Th1/Th2-Shift ausgeprägt war und je länger er andauerte, desto größer war das Risiko für Patienten an einer Infektion zu erkranken. Die Messung INF- $\gamma$  bzw. IL-4 produzierende CD4 positive T-Zellen könnte somit eine einfache Methode darstellen, Patienten mit Infektion nach cardiochirurgischem Eingriff zu identifizieren.

## 5. Zusammenfassung

Infektionen nach herzchirurgischen Eingriffen mit extrakorporaler Zirkulation stellen eine ernstzunehmende, zum Teil lebensbedrohliche Komplikation des postoperativen Verlaufs dar. Die Kenntnis von Risikofaktoren, die das Auftreten einer Infektion begünstigen, ist daher von großer Bedeutung, ermöglicht sie es doch, gefährdete Patienten frühzeitig zu identifizieren. Als klare Risikofaktoren erwiesen sich in dieser Arbeit die Transfusion von Blutprodukten sowie die Gabe von Katecholaminen. Das Risiko, eine postoperative Infektion zu entwickeln, war dabei abhängig von der Dauer der Katecholamingabe bzw. der Menge der transfundierten Blutprodukte. Bei einer Katecholamingabe >1 Tag war das Risiko an einer postoperativen Infektion zu erkranken 1,45-fach, bei >2 Tagen bereits 7,25-fach und bei >3 Tagen sogar 14,83-fach erhöht. Bei der Transfusion von >5 Blutprodukten stieg das Risiko für eine postoperative Infektion um den Faktor 1,35, bei >10 Blutprodukten sogar um den Faktor 9,77 an. Die häufig postulierten Risikofaktoren Geschlecht, Alter und Bypasszeit hatten in dem Patientenkollektiv dieser Arbeit keinen Einfluß auf das Auftreten einer Infektion.

Für die Prognose eines Patienten mit postoperativer Infektion ist die frühzeitige Diagnose der Infektion und der rasche Therapiebeginn entscheidend. Eine frühzeitige Diagnosestellung ist jedoch schwierig, kommt es doch durch die extrakorporale Zirkulation typischerweise zu einer systemischen Entzündungsreaktion mit einem Anstieg der klassischen Entzündungsparameter. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Temperatur, das CRP und die Leukozyten insbesondere im frühen postoperativen Verlauf unzuverlässige Parameter zur Diagnose einer postoperativen Infektion sind. Erst im späteren postoperativen Verlauf gelang mithilfe dieser klassischen Entzündungsparameter eine Unterscheidung zwischen Inflammation und Infektion.

Als mögliche Alternative zur frühzeitigen Vorhersage des Infektionsrisikos eignen sich die Score-Systeme APACHE II und MOD. Beide sind aber nicht infektionsspezifisch, sondern quantifizieren allgemein den Schweregrad einer Erkrankung. Dennoch konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass die



postoperative Beurteilung des allgemeinen Krankheitsschweregrades eine Risikostratifizierung im Hinblick auf eine sich anbahnende postoperative Infektion erlaubt. Der APACHE II war dabei dem MOD-Score überlegen. Entscheidend war die Höhe des Scores. APACHE-II-Werte  $>18$  am zweiten postoperativen Tag gingen mit einem 6-fach erhöhten Infektionsrisiko einher.

Da die extrakorporale Zirkulation insbesondere zu einer Beeinträchtigung der zellulären Immunität führt, könnte, wie in der Arbeit aufgezeigt, auch die durchflußzytometrische Messung der T-Zellsubpopulationen ein Weg sein, frühzeitig Patienten mit Infektionen zu identifizieren. Auch wenn die statistische Signifikanz knapp verfehlt wurde ( $p=0,07$ ), konnte gezeigt werden, dass Patienten mit geringem Anteil aktivierter  $CD4^+$  und  $CD69^+$  T-Zellen überdurchschnittlich häufig eine Infektion entwickelten. Je kleiner der Anteil der aktivierten  $CD4^+$  Zellen postoperativ war, desto größer war das Risiko für Patienten, an einer Infektion zu erkranken. Ähnliches gilt für die Messung der IL4 bzw. der  $INF-\gamma$  produzierenden  $CD4^+$  T-Zellen. Der statistische Nachweis, dass ein erniedrigter Anteil  $INF-\gamma$  produzierender bzw. ein erhöhter Anteil IL-4 produzierender  $CD4^+$  T-Zellen, im Sinne einer Imbalance der Th1/Th2-Antwort, zu einem erhöhten Risiko für das Auftreten einer postoperativen Infektion führt, gelang trotz der augenscheinlichen Unterschiede nicht. Je stärker dieser sogenannte Th1/Th2-Shift jedoch ausgeprägt war und je länger er andauerte, desto größer war das Risiko für Patienten, an einer Infektion zu erkranken.

Aktivierte  $CD4$  und  $CD69$  positive T-Zellen sowie IL4 bzw.  $INF-\gamma$  produzierenden  $CD4$  positive T-Zellen könnten nach Ermittlung von Grenzwerten in weiteren Untersuchungen somit interessante Laborparameter für die frühe Infektionsdiagnose nach herzchirurgischem Eingriff werden.

Weitere Anstrengungen sind nötig, um Risikofaktoren zu identifizieren, die eine postoperative Infektion nach Herzchirurgie begünstigen und um Laborparameter ausfindig zu machen, mit denen man in der Lage ist, Infektionen im postoperativen Verlauf frühzeitig zu erkennen. Nur wenn dies gelingt wird es möglich sein, die Zahl der Infektionen, die Mortalität der Patienten und die Behandlungskosten für die Kliniken weiter zu senken.

## 6. Anhang

### 6.1 Patienten mit postoperativer Infektion

Pat.	Geschlecht	Alter	OP	Postoperative Infektion	Erregernachweis	verstorben
2	m	53	ACVB	Oberflächliche Wundinfektion	-	nein
5	m	66	ACVB	Sepsis	Enterococcus faecium	nein
6	m	75	ACVB	Oberflächliche Wundinfektion	Staphylococcus epidermidis Corynebacterium accolens	nein
11	w	70	ACVB	Harnwegsinfekt	E. coli	nein
12	m	50	Re-Ascendens- Ersatz und AKE	Pneumonie	Grampositive Kokken Gramnegative Stäbchen	nein
30	m	79	ACVB	Sepsis	Staphylokokken	ja
49	m	66	ACVB	Oberflächliche Wundinfektion	-	nein
57	m	60	ACVB	Tiefe Wundinfektion	Staphylococcus epidermidis	nein
66	w	44	ACVB	Harnwegsinfekt	-	nein
81	w	43	ACVB	Oberflächliche Wundinfektion Harnwegsinfekt	-	nein
87	m	71	ACVB	Harnwegsinfekt	-	nein
93	m	73	ACVB und AKE	Tiefe Wundinfektion Pneumonie	Grampositive Kokken E.coli, Enterococcus faecalis Candida albicans	nein

## 6.2 APACHE II

Physiologic Variable	High Abnormal Range				0	Low Abnormal Range			
	+4	+3	+2	+1		+1	+2	+3	+4
Temperature rectal (°C)	≥ 41	39 - 40.9		38.5 - 38.9	36 - 38.4	34 - 35.9	32 - 33.9	30 - 31.9	≤ 29.9
MAP (mmHg)	≥ 160	130 - 159	110 - 129		70 - 109		50 - 69		< 49
Heart rate ventricular response	≥ 180	140 - 179	110 - 139		70 - 109		55 - 69	40 - 54	< 39
Respiratory rate	≥ 50	35 - 49		25 - 34	12 - 24	10 - 11	6 - 9		≤ 5
Oxygenation									
FI O2 0.5 record (A-a) DO2	≥ 500	350 - 499	200 - 349		< 200				
FI O2 0.5 record only PaO2					> 70	61 - 70		55 - 60	< 55
Arterial pH	≥ 7.7	7.6 - 7.69		7.5 - 7.59	7.33 - 7.49		7.25 - 7.32	7.15 - 7.24	< 7.15
Serum sodium (mM/L)	≥ 180	160 - 179	155 - 159	150 - 154	130 - 149		120 - 129	111 - 119	≤ 110
Serum potassium (mM/L)	≥ 7	6.6 - 9		5.5 - 5.9	3.5 - 5.4	3 - 3.4	2.5 - 2.9		< 2.5
Serum creatinine (mg/100 mL)	≥ 3.5	2 - 3.4	1.5 - 1.9		0.6 - 1.4		< 0.6		
Hematocrit (%)	≥ 60		50 - 59.9	46 - 49.9	30 - 45.9		20 - 29.9		< 20
White blood cell count (Total/mm <sup>3</sup> )	≥ 40		20 - 39.9	15 - 19.9	3 - 14.9		1 - 2.9		< 1
Glasgow Coma Score (score=15-actual GCS)									

### 6.3 MOD-Score

Organ System	Score				
	0	1	2	3	4
Respiratory ( $P_{O_2}/F_{iO_2}$ ratio)	>300	226-300	151-225	76-150	≤75
Renal (serum creatinine $\mu\text{mol/L}$ )	≤100	101-200	201-350	351-500	>500
Hepatic (serum bilirubin $\mu\text{mol/l}$ )	≤20	21-60	61-120	121-240	>240
Cardiovascular ( $PAR = (HF \cdot ZVD) / MAP$ )	≤10	10.1-15.0	15.1-20.0	20.1-30.0	>30.0
Hematologic (platelet count platelets/ $\text{mL } 10^3$ )	>120	81-120	51-80	21-50	≤20
Neurologic Glasgow Coma Score	15	13-14	10-12	7-9	6

#### 6.4 Risikostratifikation nach Parsonnet et al.

Risk factor	Assigned weight
Female gender	1
Morbid obesity (>1.5 x ideal weight)	3
Diabetes (unspecified type)	3
Hypertension (systolic blood pressure >140 mmHg)	3
Ejection fraction (%)	
Good (> 50)	0
Fair (30 - 49)	2
Poor (< 30)	4
Age ( years )	
70 - 74	7
75 - 79	12
> 80	20
Reoperation	
First	5
Second	10
Preoperative IABP	2
Left ventricular aneurysm	5
Emergency surgery following PTCA or catheterization complications	10
Dialysis dependency	10
Catastrophic states ( e.g., acute structural defect, cardiogenic shock, acute renal failure )	10 - 50
Other rare circumstances ( e.g., paraplegia, pacemaker dependency, congenital heart disease in adult, severe asthma )	2 - 10
Valve surgery	
Mitral	5
Pulmonary artery pressure > 60 mmHg	8
Aortic	5
Pressure gradient > 120 mmHg	7
Coronary artery bypass graft at the time of valve surgery	2

Assigned weight	Preoperative Risk Classification
0 - 4	Good
5 - 9	Fair
10 - 14	Poor
15 - 19	High
>20	Extremely High

## 7. Literaturverzeichnis

- 1 Adam D., Daschner F. (1993)  
Infektionsverhütung bei operativen Eingriffen: Hygienemaßnahmen und Antibiotikaphylaxe  
*1. Aufl., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart*
- 2 Aronen M. (1990)  
Value of C-reactive protein in detecting complications after closed-heart surgery in children  
*Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 24:147-151
- 3 Bitkover C.Y., Hansson L.-O., Valen G., Vaage J. (2000)  
Effects of Cardiac Surgery on Some Clinically Used Inflammation Markers and Procalcitonin  
*Scand Cardiovasc J* 34:307-314
- 4 Boralessa H., De Beer F.C., Manchie A., Whitwam J.G., Pepys M.B. (1986)  
C-reactive protein in patients undergoing cardiac surgery  
*Anaesthesia* 41:11-15
- 5 Breyer R.H., Mills S.A., Hudspeth A.S., Johnston F.R., Cordell A.R. (1984)  
A Prospective Study of Sternal Wound Complications  
*Ann Thorac Surg* 37:412-416
- 6 Brohee D., Vanhaeverbeek M., Kennes B., Neve P. (1990)  
Leucocyte and lymphocyte subsets after a short pharmacological stress by intravenous epinephrine and hydrocortisone in healthy humans  
*International Journal of Neuroscience* 53:53-62
- 7 Burns A.M., Keogan M., Donaldson M., Brown D.L., Park G.R. (1997)  
Effects of inotropes on human leucocyte numbers, neutrophil function and lymphocyte subtypes  
*Br J Anaesth* 78:530-535
- 8 Butler J., Rucker G.M., Westaby S. (1993)  
Inflammatory Response to Cardiopulmonary Bypass  
*Ann Thorac Surg* 55:552-559
- 9 Cheung E.H., Craver J.M., Jones E.L., Murphy D.A., Hatcher C.R.Jr., Guyton R.A. (1985)  
Mediastinitis after cardiac valve operations  
*J Thorac Cardiovasc Surg* 90:517-522

- 10 Conklin C.M., Gray R.J., Neilson D., Wong P., Tomita D.K., Matloff J.M. (1988)  
Determinants of Wound Infection Incidence after Isolatec Coronary Artery Bypass Surgery in Patients Randomized to Receive Prophylactic Cefuroxime or Cefazolin  
*Ann Thorac Surg* 46:172-177
- 11 Cousin M.T., Pipien I., Bergaoui F., Massonnet-Castel S., Fabiani J.N. (1994)  
Infections bactériennes après chirurgie cardiaque sous circulation extra-corporelle : Effets des transfusions autologues et homologues  
*Ann Chir Thorac Cardiovasc* 48 :818-824
- 12 Cullen B.F., Belle G.van (1975)  
Lymphocyte Transformation and Changes in Leukocyte Count : Effects of Anesthesia and Operation  
*Anesthesiology* 43:563-569
- 13 Culliford A.T., Cunningham J.N.Jr., Zeff R.H., Isom O.W., Teiko P., Spencer F.C. (1976)  
Sternal and costochondral infections following open-heart surgery  
*J Thorac Cardiovasc Surg* 72:714-726
- 14 De Angeli S., Paccagnella A., Mordacchini M., Frugoni C., Zanardo G., Turolla L., Calò M.A., Rosi P., Nieri A., Simini G. (1994)  
The Effects of Prolonged Cardiopulmonary Bypass on Cell-Mediated Immunity  
*Thorac cardiovasc Surg* 42:14-20
- 15 DePalma L., Yu M., McIntosh C.L., Swain J.A., Davey R.J. (1991)  
Changes in lymphocyte subpopulations as a result of cardiopulmonary bypass  
The effect of blood transfusion  
*J Thorac Cardiovasc Surg* 101:240-244
- 16 El Oakley R., Paul E., Wong P.S., Yohana A., Magee P., Walesby R., Wright J. (1997)  
Mediastinitis in patients undergoing cardiopulmonary bypass: risk analysis and midterm results  
*J Cardiovasc Surg* 38:595-600
- 17 Engelman R.M., Willians C.D., Gouge T.H., Chase R.M.Jr., Falk E.A., Boyd A.D., Reed G.E. (1973)  
Mediastinitis Following Open-Heart Surgery  
Review of Two Years` Experience  
*Arch Surg* 107:772-778

- 18 Eskola J., Salo M., Viljanen M.K., Ruuskanen O. (1984)  
Impaired B Lymphocyte Function During Open-Heart Surgery  
Effects of Anaesthesia and Surgery  
*Br J Anaesth* 56:333-338
- 19 Faist E., Wichmann M.W. (1997)  
Immunologie bei Schwerverletzten  
*Chirurg* 68:1066-1070
- 20 Fernandez J., Chen C., Anolik G., Brdlik O.B., Laub G.W., Anderson W.A., McGrath L.B. (1997)  
Perioperative risk factors affecting hospital stay and hospital costs in open heart surgery for patients  $\geq 65$  years old  
*Eur J Cardiothorac Surg* 11:1133-1140
- 21 Garner J.S., Jarvis W.R., Emori T.G., Horan T.C., Hughes J.M. (1988)  
CDC definitions for nosocomial infections, 1988  
*Am J Infect Control* 16:128-140
- 22 Gastmeier P., Kampf G., Wischniewski N., Hauer T., Schulgen G., Schumacher M., Daschner F., Rüden H. (1998)  
Prevalence of nosocomial infections in representative German hospitals  
*J Hosp Infect* 38:37-49
- 23 Gennari R., Dominioni L., Imperatori A., Bianchi V., Maroni P., Dionigi R. (1994)  
Alterations in Lymphocyte Subsets as Prognosticators of Postoperative Infections  
*Eur J Surg* 161:493-499
- 24 Ghoneim A.T.M., McGoldrick J., Ionescu M.I. (1982)  
Serial C-reactive Protein Measurements in Infective Complications Following Cardiac Operation: Evaluation and Use in Monitoring Response to Therapy  
*Ann Thorac Surg* 34:166-175
- 25 Grmoljez P.F., Barner H.H., Willman V.L., Kaiser G.C. (1975)  
Major Complications of Median Sternotomy  
*Am J Surg* 130:679-681
- 26 Heidecke C.-D., Weighardt H., Hensler T., Bartels H., Holzmann B. (2000)  
Immunparalyse von T-Lymphozyten und Monocyten in der postoperativen abdominalen Sepsis  
Korrelation von Immunfunktion und Überleben  
*Chirurg* 71:159-165



- 27 Hensler T., Hecker H., Heeg K., Heidecke C.-D., Bartels H., Barthlen W., Wagner H., Siewert J.-R., Holzmann B. (1997)  
Distinct Mechanisms of Immunosuppression as a Consequence of Major Surgery  
*Infect Immun* 65:2283-2291
- 28 Ide H., Kakiuchi T., Furuta N., Matsumoto H., Sudo K., Furuse A., Asano K. (1987)  
The Effect of Cardiopulmonary Bypass on T Cells and Their Subpopulations  
*Ann Thorac Surg* 44:277-282
- 29 Janeway C.A., Travers P. (1997)  
Immunologie  
2. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford
- 30 Jensen L.S., Andersen A.J., Christiansen P.M., Hokland P., Juhl C.O., Madsen G., Mortensen J., Moller-Nielsen C., Hanberg-Sorensen F., Hokland M. (1992)  
Postoperative infection and natural killer cell function following blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery  
*Br J Surg* 79:513-516
- 31 Jensen L.S., Hokland M., Nielsen H.J. (1996)  
A randomized controlled study of the effect of bedside leucocyte depletion on the immunosuppressive effect of whole blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery  
*Br J Surg* 83:973-977
- 32 Kampf G., Gastmeier P., Wischnewski N., Schlingmann J., Schumacher M., Daschner F., Rüden H. (1996)  
Nosokomiale Infektionen in Deutschland – Erfassung und Prävention NIDEP-Studie, Teil 1: Zur Prävalenz in der Chirurgie  
*Chirurg* 67:637-642
- 33 Kaplan J., Sarnaik S., Gitlin J., Lusher J. (1984)  
Diminished Helper/Suppressor Lymphocyte Ratios and Natural Killer Activity in Recipients of Repeated Blood Transfusion  
*Blood* 64:308-310
- 34 Knaus W.A., Draper E.A., Wagner D.P., Zimmermann J.E. (1985)  
APACHE II: A severity of disease classification system  
*Crit Care Med* 13:818-829
- 35 Knudsen F., Andersen L.W. (1990)  
Immunological Aspects of Cardiopulmonary Bypass  
*J Cardiothorac Anesth* 4:245-258

- 36 Kress H.G., Gehrsitz P., Elert O. (1987)  
Predictive value of skin testing, neutrophil migration and C-reactive protein for postoperative infections in cardiopulmonary bypass patients  
*Acta Anaesthesiol Scand* 31:397-404
- 37 Kuhn C., Müller-Werdan U., Schmitt D.V., Lange H., Pilz G., Kreuzer E., Mohr F.W., Zerkowski H.-R., Werdan K. (2000)  
Improved outcome of APACHE II score-defined escalating systemic inflammatory response syndrome in patients post cardiac surgery in 1996 compared to 1988-1990: the ESSICS-study pilot project  
*Eur J Cardiothorac Surg* 17:30-37
- 38 Landers D.F., Hill G.E., Wong K.C., Fox I.J. (1996)  
Blood Transfusion-Induced Immunomodulation  
*Anesth Analg* 82:187-204
- 39 Leal-Noval S.R., Marquez-Vácaro J.A., García-Curiel A., Camacho-Laraña P., Rincón-Ferrari M.D., Ordoñez-Fernández A., Flores-Cordero J.M., Loscertales-Abril J. (2000)  
Nosocomial pneumonia in patients undergoing heart surgery  
*Crit Care Med* 28: 935-940
- 40 Leal-Noval S.R., Rincón-Ferrari M.D., García-Curiel A., Herruzo-Avilés A., Camacho-Laraña P., Garnacho-Montero J., Amaya-Villar R. (2001)  
Transfusion of Blood Components and Postoperative Infection in Patients Undergoing Cardiac Surgery  
*Chest* 119:1461-1468
- 41 Loop F.D., Lytle B.W., Cosgrove D.M., Mahfood S., McHenry M.C., Goormastic M., Stewart R.W., Golding A.R., Taylor P.C. (1990)  
Sternal Wound Complications After Isolated Coronary Artery Bypass Grafting: Early and Late Mortality, Morbidity and Cost of Care  
*Ann Thorac Surg* 49:179-187
- 42 Lyte M., Freestone P.P.E., Neal C.P., Olson B.A., Haigh R.D., Bayston R., Williams P.H. (2003)  
Stimulation of Staphylococcus epidermidis growth and biofilm formation by catecholamine inotropes  
*Lancet* 361:130-135
- 43 Marshall J.C., Cook D.J., Christou N.V., Bernard G.R., Sprung C.L., Sibbald W.J. (1995)  
Multiple Organ Dysfunction Score: A reliable descriptor of a complex clinical outcome  
*Crit Care Med* 23:1638-1652

- 44 Mehta R.H., Eagle K.A., Coombs L.P., Peterson E.D., Edwards F.H., Pagani F.D., Deeb G.M., Bolling S.F., Prager R.L. (2002)  
Influence of Age on Outcome in Patients Undergoing Mitral Valve Replacement  
*Ann Thorac Surg* 74:1459-1467
- 45 Menges T., Engel J., Welters I., Wagner R.-M., Little S., Ruwoldt R., Wollbrueck M., Hempelmann G. (1999)  
Changes in blood lymphocyte populations after multiple trauma: Association with posttraumatic complications  
*Crit Care Med* 27:733-740
- 46 Mezrow C.K., Bergstein I., Tartter P.I. (1992)  
Postoperative infections following autologous and homologous blood transfusions  
*Transfusion* 32:27-30
- 47 Miholic J., Hiertz H., Hudec M., Laczkovics A., Domanig E. (1984)  
Fever, Leucocytosis and Infection after Open Heart Surgery.  
A Log-linear Regression Analysis of 115 Cases  
*Thorac Cardiovasc Surg* 32:45-48
- 48 Miholic J., Hudec M., Domanig E., Hiertz H., Klepetko W., Lackner F., Wolner E. (1985)  
Risk Factors for Severe Bacterial Infections after Valve Replacement and Aortocoronary Bypass Operations: Analysis of 246 Cases by Logistic Regression  
*Ann Thorac Surg* 40:224-228
- 49 Miller B.E., Levy J.H. (1997)  
The Inflammatory Response to Cardiopulmonary Bypass  
*Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 11:355-366
- 50 Muir A.L., Cruz M., Martin B.A., Thommasen H., Belzberg A., Hogg J.C. (1984)  
Leukocyte kinetics in the human lung: role of exercise and catecholamines  
*Journal of Applied Physiology* 7:711-719
- 51 Murphy P., Heal J.M., Blumberg N. (1991)  
Infection or suspected infection after hip replacement surgery with autologous or homologous blood transfusions  
*Transfusion* 31:212-217
- 52 Murphy P.J., Connery C., Hicks G.L.Jr., Blumberg N. (1992)  
Homologous blood transfusion as a risk factor for postoperative infection after coronary artery bypass graft operations  
*J Thorac Cardiovasc Surg* 104:1092-1099

- 53 Napolitano L.M., Faist E., Wichmann M.W., Coimbra R. (1999)  
Immune Dysfunction in Trauma  
*Surg Clin North Am* 79:1385-1416
- 54 Oeveren W.van, Kazatchkine M.D., Descamps-Latscha B., Maillet F., Fischer E., Carpentier A., Wildevuur C.R.H. (1985)  
Deleterious effects of cardiopulmonary bypass  
A prospective study of bubble versus membrane oxygenation  
*J Thorac Cardiovasc Surg* 89:888-899
- 55 Orita H., Shimanuki T., Fukasawa M., Inui K., Goto S., Washio M., Horikawa H. (1992)  
A Clinical Study of Postoperative Infections Following Open-Heart Surgery: Occurrence and Microbiological Findings in 782 Cases  
*Surg Today* 22: 207-212
- 56 O`Sullivan S.T., Lederer J.A., Horgan A.F., Chin D.H.L., Mannick J.A., Rodrick M.L. (1995)  
Major Injury Leads to Predominance of the T Helper-2 Lymphocyte Phenotype and Diminished Interleukin-12 Production Associated with Decreased Resistance to Infection  
*Ann Surg* 222:482-492
- 57 Ottino G., De Paulis R., Pansini S., Rocca G., Tallone M.V., Comoglio C., Costa P., Orzan F., Morea M. (1987)  
Major Sternal Wound Infection after Open-Heart Surgery: A Multivariate Analysis of Risk Factors in 2579 Consecutive Operative Procedures  
*Ann Thorac Surg* 44:173-179
- 58 Parsonnet V., Dean D., Bernstein A.D. (1989)  
A Method of Uniform Stratification of Risk for Evaluating the Results of Surgery in Acquired Adult Heart Disease  
*Circulation* 79(suppl 1):I-3-I-12
- 59 Pilz G., Käab S., Kreuzer E., Werdan K. (1994)  
Evaluation of Definitions and Parameters for Sepsis Assessment in Patients after Cardiac Surgery  
*Infection* 22: 8-17
- 60 Rebollo M.H., Bernal J.M., Llorca J., Rabasa J.M., Revuelta J.M. (1996)  
Surgery for acquired heart disease  
Nosocomial infections in patients having cardiovascular operations: a multivariate analysis of risk factors  
*J Thorac Cardiovasc Surg* 112:908-913
- 61 Roth J.A., Golub S.H., Cukingnan R.A., Brazier J., Morton D.L. (1981)  
Cell-Mediated Immunity Is Depressed Following Cardiopulmonary Bypass  
*Ann Thorac Surg* 31:350-356

- 62 Rothenburger M., Tjan T.D.T., Schneider M., Berendes E., Schmid C., Wilhelm M.J., Böcker D., Scheld, H.H., Soeparwata R. (2003)  
The Impact of the Pro- and Anti-Inflammatory Immune Response on Ventilation Time After Cardiac Surgery  
*Cytometry* 53B:70-74
- 63 Royston D. (1997)  
The Inflammatory Response and Extracorporeal Circulation  
*Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 11:341-354
- 64 Ryan T., Mc Carthy J.F., Rady M.Y., Serkey J., Gordon S., Starr N.J., Cosgrove D.M. (1997)  
Early bloodstream infection after cardiopulmonary bypass: Frequency rate, risk factors, and implications  
*Crit Care Med* 25: 2009-2013
- 65 Ryhänen P., Herva E., Hollmen A., Nuutinen L., Pihlajaniemi R., Saarela E. (1979)  
Changes in peripheral blood leukocyte counts, lymphocyte subpopulations, and in vitro transformation after heart valve replacement  
Effects of oxygenator type and postoperative parenteral nutrition  
*J Thorac Cardiovasc Surg* 77:259-266
- 66 Ryhänen P., Huttunen K., Ilonen J. (1984)  
Natural Killer Cell Activity After Open-Heart Surgery  
*Acta Anaesthesiol Scand* 28:490-492
- 67 Sandick J.W.van, Gisbertz S.S., Berge J.M.ten, Boermeester M.A., Pouw Kraan T.C.T.M.van der, Out T.A., Obertop H., Lanschof J.J.B.van (2003)  
Immune Response and Prediction of Major Infection in Patients Undergoing Transhiatal or Transthoracic Esophagectomy for Cancer  
*Ann Surg* 237:35-43
- 68 Sanfelippo P.M., Danielson G.K. (1972)  
Complications associated with median sternotomy  
*J Thorac Cardiovasc Surg* 63:419-423
- 69 Shimaoka M., Hosotsubo K., Sugimoto M., Sakaue G., Taenaka N., Yoshiya I., Kiyono H. (1998)  
The Influence of Surgical Stress on T Cells: Enhancement of Early Phase Lymphocyte Activation  
*Anesth Analg* 87:1431-1435
- 70 Shuhaiber H., Chugh T., Portoian-Shuhaiber S., Ghosh D. (1987)  
Wound infection in cardiac surgery  
*J Cardiovasc Surg* 28:139-142

- 71 Steel C.M., French E.B., Aitchison W.R.C. (1971)  
Studies on adrenaline-induced leucocytosis in normal man.  
I. The role of the spleen and of the thoracic duct  
*British Journal of Haematology* 21:413-421
- 72 Steinberg J.B., Kapelanski D.P., Olson J.D., Weiler J.M. (1993)  
Cytokine and complement levels in patients undergoing cardiopulmonary  
bypass  
*J Thorac Cardiovasc Surg* 106:1008-1016
- 73 Stoney W.S., Alford W.C.Jr., Burrus G.R., Frist R.A., Thomas C.S.Jr. (1978)  
Median Sternotomy Dehiscence  
*Ann Thorac Surg* 26:421-426
- 74 Teodorczyk-Injeyan J.A., Sparkes B.G., Mills G.B., Peters W.J., Falk R.E.  
(1986)  
Impairment of T cell activation in burn patients: a possible mechanism of  
thermal injury-induced immunosuppression  
*Clin Exp Immunol* 65:570-581
- 75 Toft P., Hokland M., Hansen T.G., Tonnesen E. (1995)  
Changes in lymphocyte subpopulations and adhesion/activation molecules  
following endotoxemia and major surgery  
*APMIS* 103:261-266
- 76 Tonnesen E., Brinklov M.M., Christensen N.J., Olesen A.S., Madsen T.  
(1987)  
Natural Killer Cell Activity and Lymphocyte Function During and After  
Coronary Artery Bypass Grafting in Relation to the Endocrine Stress  
Response  
*Anesthesiology* 67:526-533
- 77 Triulzi D.J., Vanek K., Ryan D.H., Blumberg N. (1992)  
A clinical and immunologic study of blood transfusion and postoperative  
bacterial infection in spinal surgery  
*Transfusion* 32:517-524
- 78 Viedma Contreras J.A. (1999)  
Leucocyte Activation Markers in Clinical Practice  
*Clin Chem Lab Med* 37:607-622
- 79 Westaby S. (1987)  
Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass. A systemic inflammatory  
reaction initiated by the extracorporeal circuit  
*Intensive Care Med* 13:89-95

- 80 Zedler S., Bone R.C., Baue A.E., Donnersmarck G.H.v., Faist E. (1999)  
T-cell reactivity and its predictive role in immunosuppression after burns  
*Crit Care Med* 27:66-72
- 81 Ziegler S.F., Ramsdell F., Alderson M.R. (1994)  
The Activation Antigen CD69  
*Stem Cells* 12:456-465





---

## Lebenslauf

### Persönliche Angaben

04.09.1974 geboren in Böblingen

### Schulbildung

1981-1995 Grundschule und Gymnasium im Kreis Böblingen

### Zivildienst

11.95-11.96 Rettungsdienst  
Deutsches Rotes Kreuz Kreisverband Böblingen

### Hochschulbildung

1996-2003 Studium der Humanmedizin  
an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

25.03.1999 Ärztliche Vorprüfung  
23.03.2000 1. Staatsexamen  
13.09.2002 2. Staatsexamen  
05.11.2003 3. Staatsexamen

### Praktisches Jahr

10.02-02.03 Prof. Dr. Gregor, Medizinische Klinik und Poliklinik  
Eberhard-Karls-Universität Tübingen  
02.03-04.03 Prof. Dr. Becker, Klinik für Allgemeine Chirurgie  
Eberhard-Karls-Universität Tübingen  
04.03-06.03 Prof. Dr. Ziemer, Klinik für Thorax-, Herz- und  
Gefäßchirurgie  
Eberhard-Karls-Universität Tübingen  
06.03-08.03 Prof. Dr. Unertl, Klinik für Anästhesiologie u.  
Intensivmedizin  
Eberhard-Karls-Universität Tübingen

### Beruflicher Werdegang

Seit 07.04 Arzt in der Medizinischen Klinik  
Klinikum am Steinenberg Reutlingen



---

## Danksagung

Danken möchte ich allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt:

Professor Dr. Klaus Unertl für die Betreuung des gesamten Promotionsvorhabens.

Privatdozentin Dr. med. Alexandra Heininger für die freundschaftliche und hilfreiche Unterstützung vom Entstehen bis zum Abschluß dieser Arbeit.

Dr. rer. nat. Dipl. Biol. Jens-Jörg Schnorr für die Einarbeitung in die Methode der Durchflußzytometrie und die kompetente Beratung bei allen Fragen rund um die durchgeführten Messungen und deren Auswertung.

Daniel für die gute Zusammenarbeit im Labor sowie beim Zusammentragen aller klinischer Daten.

Meinen Eltern für ihre Motivation, ihren Rat und ihr Vertrauen.

Meiner Frau Antje, die mit ihrem fröhlichen Wesen und ihren Formatierkünsten einen großen Beitrag zur Realisierung dieser Arbeit geleistet hat. Danke!