

Aus dem Institut für Hygiene und Umweltmedizin
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. Axel Kramer)
der Universitätsmedizin der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

**Prüfung der mikrobioziden Wirksamkeit von Octenidindihydrochlorid im
Prüfkörpertest**

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
(Dr. med.)
der
Universitätsmedizin
der
Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

2013

vorgelegt von: Uta Brautfeger
geboren am: 18.01.1984
in: Schwerin

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reiner Biffar

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Axel Kramer

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Thomas Eikmann

Tag der Disputation: 11.12.2013

Ort, Raum: Greifswald, Seminarraum Friedrich-Loeffler-Institut für Medizinische
Mikrobiologie

Meinen Eltern Norbert und Ursula Brautferger

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AKZ	Ausgangskoloniezahl
ATCC	American Type Culture Collection
BI	Biokompatibilitätsindex
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CSA	Trypton (Casein)-Soja-Agar
CSL	Nährlösung aus Casein, Soja, NaCl, Dikaliumhydrogenphosphat, Glucose
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
EN	Europäische Normen
Ery	Erythrozytenkonzentrat
FBS	fetales bovines Serumalbumin
HET-CAM	Hühner-Ei-Test an der Chorioallantoismembran
IC ₅₀	mittlere inhibitorische Konzentration
KbE	Kolonie bildende Einheiten
LD ₅₀	mittlere letale Dosis
MEM	Minimal Essential Medium Eagle
MRSA	Methicillin resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
NaCl	Natriumchlorid
Oct	Octenidin, Octenidindihydrochlorid
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PHMB	Polihexanid, Polyhexamethylenbiguanid
PVP-Iod	Povidon-Iod
RF	Reduktionsfaktor
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>S. marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>
spp.	mehrere nicht im Einzelnen benannte Spezies einer Gattung
Tab.	Tabelle

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Arbeit berechtigt nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften. Vielmehr handelt es sich häufig um gesetzlich geschützte, eingetragene Warenzeichen, auch wenn sie nicht in jedem Fall eigens als solche gekennzeichnet sind.

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung und Problemstellung	5
1.1	Problemstellung	5
1.2	Wundinfektion	6
1.3	Charakterisierung der Antiseptika Octenidindihydrochlorid und Polihexanid .	8
1.3.1	Octenidindihydrochlorid.....	8
1.3.2	Polihexanid (PHMB)	14
2	Eigene Untersuchungen	19
2.1	Materialien, Methoden, Versuchsdurchführung	19
2.1.1	Materialien	19
2.1.2	Methoden.....	21
2.1.3	Versuchsdurchführung	22
2.2	Ergebnisse.....	24
2.2.1	Validierungsversuche.....	24
2.2.2	Ergebnisse im Hauptversuch	28
2.3	Diskussion	55
2.3.1	Methodische Gesichtspunkte	55
2.3.2	Ergebnisse.....	57
2.4	Schlussfolgerungen und weiterführende Gedanken	66
3	Zusammenfassung	69
4	Summary	71
5	Literaturverzeichnis	73

Anhang

Danksagung

1 Einleitung und Problemstellung

1.1 Problemstellung

Die Behandlung von Wunden stellt hohe Anforderungen an ein Antiseptikum. Die Folgen von Wundinfektionen wie erhöhte Sterberaten, lange stationäre und intensivmedizinische Aufenthalte sowie gravierende Zusatzkosten führen dazu, dass gerade auf diesem Gebiet die Behandlung und die dafür einzusetzenden Wirkstoffe optimiert werden müssen (Kirkland et al. 1999). Durch forcierte Weiterentwicklungen konnten sich für diesen Bereich Polihexanid (PHMB) und Octenidin (Oct) durch ihre besonders gute Wirksamkeit und Verträglichkeit von anderen Wirkstoffen abgrenzen (Kramer et al. 2004a, Kramer et al. 2006, Kramer u. Müller 2007, Hübner u. Kramer 2010, Hübner et al. 2010, Kramer et al. 2010, Kramer et al. 2013).

Aktuell gelten auf Oct basierende Antiseptika als Mittel der ersten Wahl für infizierte akute Wunden (Hübner et al. 2010). Es besteht jedoch die Möglichkeit, dass sie sich ebenso wie PHMB für die Therapie chronischer Wunden eignen. Grund zu dieser Annahme gibt die Bestätigung, dass sich Octenisept® selbst bei Verdünnungen auf circa 0,002 % Oct (diese liegt weit unter der gebräuchlichen Konzentration) bei einer Einwirkzeit von 30 min noch antimikrobiell wirksam zeigte (Kramer u. Müller 2007). Ein weiterer wichtiger Faktor ist die starke Bindung von Oct an die Zellmatrix. Durch diese kann Oct nach und nach in nicht zytotoxischen Konzentrationen an die Umgebung abgegeben werden, ohne an Wirksamkeit einzubüßen. Es entsteht somit eine Depotwirkung, die bei chronischen Wunden erwünscht ist und im klinischen Alltag durch längere Zeitintervalle zwischen den einzelnen Wundbehandlungen von Vorteil sein dürfte (Kramer u. Müller 2007, Müller u. Kramer 2007).

In Bezug auf die Zytotoxizität und Mikrobiozidie wurde des Weiteren der Biokompatibilitätsindex eingeführt. Der BI ist ein Quotient aus der Konzentration, bei der 50 % der Zellen im Zytotoxizitätstest abgetötet werden (IC_{50}) und der Antiseptikumkonzentration, bei der eine Erregerreduktion um 3 lg-Stufen erreicht wird. Ein $BI > 1$ entspricht einer im Verhältnis höheren Wirksamkeit eines Antiseptikums im Vergleich zu seiner Zytotoxizität. Oct zeigt mit einem BI von 1,7 bei *E. coli* und 2,1 bei *S. aureus* sogar eine bessere Wirksamkeit bei relativ geringerer Zytotoxizität als PHMB (Müller u. Kramer 2008). Auf Grund dieser Information stellt sich die Frage, wie stark sich der prozentuale Anteil von Oct z. B. in einem Gel-Produkt senken lässt, um das Wirkspektrum beizubehalten und die Verträglichkeit in der klinischen Anwendung zu verbessern.

Ziel der Studie ist es, Oct-Gele verschiedener Konzentrationen in einem praxisnahen Prüfkörpertest hinsichtlich ihrer mikrobioziden Wirksamkeit gegen 6 Testorganismen zu untersuchen. Zur vergleichenden Darstellung wird der Test ebenfalls mit einem PHMB-Gel in einer handelsüblichen Konzentration (0,02 %) durchgeführt. Als Belastungssubstanz dient 10 % fetales bovines Serumalbumin (FBS) in MEM (Minimal Essential Medium Eagle). Zusätzlich wurde für einzelne Prüfsubstanzen 1 % humanes Erythrozytenkonzentrat hinzugegeben. Die vorliegenden Untersuchungen sollen klären, ob Oct-Gele mit geringer Antiseptikakonzentration bei Erhalt der mikrobioziden Wirksamkeit auch im Prüfkörpertest wirksam sind, um die Anwendbarkeit für chronische Wunden abschätzen zu können. Als Grundlage des entwickelten Testmodells dient der quantitative Suspensionstest, der unter Berücksichtigung der praxisnahen Bedingungen modifiziert wurde.

1.2 Wundinfektion

Eine häufige Ursache von Wundheilungsstörungen sind Wundinfektionen. Neben dem chirurgischen Débridement der Wunde wird der Auswahl der geeigneten Wundantiseptik zur Reduktion einer unerwünschten Besiedlung oder Kontamination eine entscheidende Bedeutung beigemessen (Hinz et al. 2007, Assadian u. Kramer 2008, Assadian u. Kramer 2012). Hierbei ist insbesondere das Erregerspektrum bei Wundinfektionen zu beachten. Bezüglich postoperativer Wundinfektionen bestehen nicht nur in verschiedenen Kliniken, sondern auch in einzelnen Fachbereichen Unterschiede (Tab. 1).

Tab. 1: Ätiologie postoperativer Wundinfektionen nach aseptischen Eingriffen (aus Hansis u. Jakschik 2001)

Species	Häufigkeit (%)			
	Allgemein-chirurgie	Gefäß-chirurgie	Thorax-chirurgie	Unfall-chirurgie
<i>S. aureus</i>	39	37	54	57
<i>S. epidermidis</i>	20	20	24	23
Streptococcus spp.	6	5	5	5
<i>E. coli</i>	15	14	4	2
Pseudomonas spp.	5	5	3	3
Mehrfach-besiedlung	15	20	10	10

S. aureus gewinnt seit etwa 1980 wieder an Bedeutung, da gerade Penicillinase bildende sowie Methicillin resistente Stämme (MRSA) zunehmen. Dieser Erreger wird

am häufigsten in Wunden nachgewiesen. Während exogene Infektionsquellen als Ursache postoperativer Wundinfektionen nachgeordnet sind, dominiert die endogene Infektion, vor allem ausgehend vom kolonisierten Nasen-Rachen-Raum (Wenzel u. Perl 1995). Als Bakterium der Hautflora gilt *S. aureus* insbesondere in der Traumatologie und Orthopädie als typischer Infektionserreger, während Erreger der Darmflora wie *E. coli* und Enterokokken vorrangig bei Infektionen im Rahmen allgemein- und abdominalchirurgischer Eingriffe nachgewiesen werden (Geffers et al. 2004). Gehäuft mit Kunststoffimplantaten und Venenkathetern assoziiert sind Koagulase negative Staphylokokken wie *S. epidermidis* (Kramer et al. 1993). Als Erreger der residenten Hautflora kann dieser auf Grund des Verbleibs in Haarfollikeln auch nach der Hautantiseptik in die Wunde gelangen (Lademann et al. 2011). Bei anderen Wundarten wie Brandwunden ist ein abweichendes Erregerspektrum zu beobachten. Hier dominieren Gram-negative Bakterien. Der Anteil von *P. aeruginosa* liegt nur unwesentlich unter dem von *S. aureus*. Auch Pilzen wie *C. albicans* wird eine größere Bedeutung zugeschrieben (Tompkins u. Burke 1992).

Die Ursachen von Wundinfektionen sind vielfältig. Bei operativen Eingriffen spielen sowohl die Art des Eingriffs als auch die Mitbeteiligung einzelner Organe eine Rolle, wie die deutschlandweit durchgeführte NIDEP Studie an 72 Krankenhäusern zeigt. Für die Patienten (n = 5377) chirurgischer Abteilungen ergab sich eine Prävalenz der postoperativen Wundinfektionen von 1,34 %. Geringere Raten konnten z. B. bei Patienten mit einer durchschnittlich langen Operationsdauer beobachtet werden. Die meisten Infektionen zeigten sich nach Amputationen (7,2 %), nach Operationen am Kolon oder Rektum (4,1 %) und nach Appendektomien (3,8 %; Kampf et al. 1996). Postoperative Wundinfektionen gehen mit gravierenden Folgen einher. Die Sterberate verdoppelt sich, die Notwendigkeit eines intensivstationären Aufenthalts steigt um 60 % und die Wahrscheinlichkeit der stationären Wiederaufnahme steigt um das Fünffache. Auch die zusätzlichen Kosten (etwa 3700 \$) für jeden Patienten mit einer Wundinfektion und die Verlängerung der Aufenthaltsdauer im Krankenhaus um durchschnittlich 6,5 d müssen beachtet werden (Kirkland et al. 1999).

Die Übergänge von einer akuten in eine chronische Wunde, die als Integritätsverlust der Haut mit fehlender Abheilung über zwölf Wochen definiert ist, sind fließend. Erschwerend kommen außerdem patientenspezifische Faktoren wie Diabetes mellitus, Adipositas, Mangelernährung, Anämie, Nikotinabusus, Immunsuppression, chronisch venöse Insuffizienz oder arterielle Durchblutungsstörungen hinzu, die in das Behandlungskonzept einzuschließen sind (Hinz et al. 2007, Kramer et al. 2011,

Rüttermann et al. 2013). Insbesondere infizierte chronische Wunden stellen eine therapeutische Herausforderung dar. Hier ist zu beachten, dass das Erregerspektrum stark variieren kann und nicht zwangsläufig mit dem Spektrum klinisch manifester Wundinfektionen übereinstimmen muss. Des Weiteren sind chronische Wunden häufig durch eine bakterielle Mischflora gekennzeichnet und bedürfen daher der Behandlung mit einem Antiseptikum, das über ein breites Wirkspektrum verfügt. Bei der Prüfung von Antiseptika ist zudem die Wirkung in Gegenwart von Blut sowie eiweißreichem Exsudat zu beachten. Kriterium der therapeutischen Antiseptik ist außerdem die lokale und systemische Verträglichkeit (Kramer et al. 2006, Assadian u. Kramer 2008).

Zur Behandlung chronischer Wunden werden gegenwärtig PHMB und Oct als geeignet angesehen (Kramer et al. 2004a, Kramer et al. 2006, Hübner u. Kramer 2010, Hübner et al. 2010, Koburger et al. 2010, Kramer et al. 2010, Kramer et al. 2013). Oct ist aufgrund aktueller *in vitro* Befunde bezüglich seiner therapeutischen Breite PHMB überlegen (Müller u. Kramer 2008), allerdings ist die Förderung der Wundheilung im Vergleich zu Ringer-Lösung bisher nur für PHMB nachgewiesen (Kramer et al. 2004b, Roth et al. 2010).

Als natürliche Antiseptika haben zusätzlich Medihoney[®] (Simon 2008), Chitosan (Kramer 2008) und die Madentherapie (Kramer u. Nickel 2008) spezifische Indikationen.

1.3 Charakterisierung der Antiseptika Octenidindihydrochlorid und Polihexanid

1.3.1 Octenidindihydrochlorid

Octenidindihydrochlorid (Oct) ist ein oberflächenaktiver Wirkstoff, der auf Grund seines breiten antimikrobiellen Wirkungsspektrums und seiner guten Gewebeverträglichkeit vor allem in der Haut- und Schleimhautantiseptik sowie in der antiseptischen Wundbehandlung Verwendung findet (Kramer et al. 2004a, Kramer u. Müller 2008, Hübner et al. 2010). Der Wirkstoff wird unter anderem 0,1 %ig in Kombination mit 2 % Phenoxyethanol als Schleimhautantiseptikum Octenisept[®] (Kramer u. Müller 2008) und 0,05 %ig als Wundspüllösung und -gel in Form von Octenilin[®] zur Wundbehandlung vertrieben (Kramer et al. 2013).

Chemisch-physikalische Eigenschaften: Oct ist lichtstabil, in wässriger Lösung bis 130 °C dampfsterilisierbar und im pH-Bereich von 1,6 - 12,2 stabil. Zu einer Wirkungsverstärkung kommt es in Kombination mit Alkoholen (Harke 1989, Kramer u.

Müller 2008). Ein Charakteristikum von Oct ist die fehlende Hydrolyseempfindlichkeit, da keine Ester-, Amid- oder Säureanhydridverbindung vorhanden ist. Außerdem besitzt es im Gegensatz zu Chlorhexidin keine Guanidinstruktur. Im Unterschied zu Chlorhexidin ist keine Abspaltung von Chloranilin möglich (Harke 1989).

Ein ökotoxisches Risiko ist nicht zu erwarten, da im geschlossenen OECD-Flaschentest eine vollständige Abbaubarkeit innerhalb von 5 d stattfindet (Zöllner et al. 1995).

Es besteht kein Hinweis auf carcinogene, mutagene, teratogene, embryotoxische oder fertilitätsbeeinträchtigende Wirkungen (Hübner et al. 2010). Der Wirkstoff ist gut haut- und schleimhautverträglich, ab 0,5 %, d. h. 5 - 10fach über der Anwendungskonzentration, kommt es zu Irritationen. Tierexperimentell war keine Sensibilisierungs- oder Photosensibilisierungspotenz nachweisbar (Harke u. Streeck 1989, Kramer 1993, Hübner et al. 2010). In der Vagina, auf der Haut oder in bis auf den Muskel gehenden Wunden war keine Resorption darzustellen, dennoch zeigte sich eine geringe Resorption über den Gastrointestinaltrakt (bis 6 %). Nach oraler Applikation bei Nagetieren und Hunden wurde die Substanz innerhalb von 8 - 72 h jedoch fast vollständig mit den Faeces ausgeschieden. Im Urin fanden sich jeweils nur Spuren (Harke 1989, Harke u. Streeck 1989, Hübner et al. 2010).

Es konnten nach subakuten, subchronischen und chronischen Applikationen dermal sowie oral keine systemischen Nebenwirkungen nachgewiesen werden. Die akute Toxizität ist mit einer oralen LD₅₀ von 800 mg/kg (bei Ratten) bzw. 933 mg/kg bei Mäusen relativ gering, während sie bei i. v. Applikation mit einer LD₅₀ von 10 mg/kg bedeutend höher ist (Harke 1989, Kramer u. Müller 2008, Hübner et al. 2010). Als NOAEL (no observed adverse effect level) ergab sich bei Ratten die Dosis von 32 mg/kg NOAEL bei täglicher oraler Gabe über 13 Wochen. Beim Kaninchen wurde die tägliche dermale Applikation 0,5 %iger Lösung während 6 Monaten ohne systemische Nebenwirkungen toleriert (Hübner et al. 2010).

Zur Beurteilung der Irritationsschwelle wurde der Einfluss verschiedener Antiseptika auf die Chorioallantoismembran im Hühner-Ei-Test (HET-CAM) bestimmt. Als Irritationsschwelle wurde die höchste Konzentration der Testsubstanz definiert, bei der nach 5 min Expositionszeit auf die Chorioallantoismembran von 3 Eiern nur geringe reaktive Veränderungen auftreten. Für Octenisept® lag die Irritationsschwelle bei einer 20 %igen Verdünnung (Kalteis et al. 2003).

Die substanzspezifische Wirkung von Oct auf die Mikrozirkulation wurde tierexperimentell am Mäuseohr untersucht. Geprüft wurden ein alkoholbasiertes Antiseptikum, Ethanol sowie Oct und PHMB. Oct und PHMB induzierten eine Gefäßerweiterung, während die anderen beiden Testsubstanzen zur Arteriolenverengung führten. Die funktionelle Kapillardichte und die Erythrozytenfließgeschwindigkeit wurden durch Oct nicht beeinträchtigt. Die anderen drei Testsubstanzen führten dagegen zu einer Reduktion der Erythrozytenfließgeschwindigkeit. Ebenso blieb die Leukozyten-Endothel-Interaktion bei Oct unbeeinflusst, während sie bei den anderen Wirkstoffen verstärkt wurde. Alle Substanzen außer Oct führten zu einer signifikanten Leckage für FITC-Dextran (irreversibel an Dextran gebundenes Fluoreszein-Iso-Thio-Cyanat), das den Tieren zur Visualisierung der Gefäße injiziert wurde (Langer et al. 2004).

Wirkungsweise: Oct ist ein kationenaktives Bispyridin, dessen positive Ladung auf zwei kationenaktive Zentren verteilt ist. In diesen Zentren wird die positive Ladung jeweils auf 2 Stickstoffatome mesomer verteilt. Diese Eigenschaft unterscheidet Oct deutlich von z. B. Cetylpyridiniumchlorid oder Benzalkoniumchlorid, da bei diesen Substanzen die positive Ladung auf nur ein Zentrum und nur ein Stickstoffatom beschränkt ist. Aus diesem Grund behält an Haut, Schleimhaut oder Wunden absorbiertes Oct seine antimikrobielle Wirkung (Harke 1989). Das Antiseptikum wird an negativ geladenen Zelloberflächen absorbiert und reagiert dort mit Polysacchariden der Zellwand sowie Phospholipiden der Zellmembran. Daraus resultiert eine Störung enzymatischer Systeme und es entsteht eine Leckage der Cytoplasmamembran (Harke u. Streeck 1989, Ghannoum et al. 1990, Kramer 1993).

Zu den besonderen Eigenschaften von Oct zählt die hohe Wirksamkeit bei gleichzeitig guter Gewebeerträglichkeit. Erste Ergebnisse weisen darauf hin, dass eine starke Adhärenz an Lipidkomponenten (z. B. Cardiolipin) besteht, die vor allem in bakteriellen Zellmembranen vorherrschen und nicht in menschlichem Zellgewebe. Das könnte erklären, warum Oct antimikrobiell hoch wirksam ist, aber gleichzeitig eine gute Verträglichkeit für menschliches Epithel und Wundgewebe aufweist (Kramer u. Müller 2007, Kramer u. Müller 2008).

Des Weiteren wurde beschrieben, dass Oct starke Wechselwirkungen mit Zellen bzw. Proteinen eingeht und Komplexe bildet, die eine reduzierte Zytotoxizität aufweisen, aber dennoch antimikrobiell wirksam bleiben. Eine Studie mit Mäusefibroblasten, menschlichen Epithelzellen und primären menschlichen Keratinocyten zeigte keine

Neutralisation der Wirkung durch die Zellbindung im Test gegen *E. coli* und *S. aureus* (Müller u. Kramer 2007). *In vivo* wird Oct in den oberen Zellschichten gebunden, so dass der Wirkstoff vermutlich aus den Komplexen in nicht zytotoxischen Konzentrationen in die Umgebung abgegeben wird. So könnte eine Wundversiegelung entstehen, die einer nachfolgenden bakteriellen Kolonisation entgegen wirkt (Kramer u. Müller 2007).

In Hinblick auf die Zytotoxizität und Mikrobiozidie wurde der BI eingeführt, ein Quotient, durch den die Verträglichkeit verschiedener Antiseptika vergleichbar gemacht werden kann. Bei einem BI > 1 handelt es sich um eine Substanz, die im Verhältnis zu ihrer Zytotoxizität über eine relativ höhere Wirksamkeit verfügt (Müller u. Kramer 2008). Gegenüber *E. coli* konnte Oct einen BI von 1,7, PHMB von 1,5, PVP-Iod von 0,7 und Chlorhexidin von 0,8 erreichen. Damit sind Oct und PHMB die am besten wirksamen Antiseptika bei verhältnismäßig geringer Zytotoxizität, was von besonderem Vorteil ist, wenn man angepasste Konzentrationen verwendet, wie es in der Therapie infizierter chronischer Wunden mit Oct notwendig wäre (Kramer u. Müller 2007, Müller u. Kramer 2008).

Mikrobiozide Wirksamkeit ohne Belastung: Oct besitzt ein breites Wirkungsspektrum, es ist wirksamer als Chlorhexidin und ohne Wirkungslücke gegen Gram-negative Bakterien inkl. Pseudomonaden. Es wird sogar eine gleichwertige Wirksamkeit gegen Gram-positive wie Gram-negative Erreger beschrieben (Harke 1989, Kramer u. Müller 2008, Koburger et al. 2010). Ebenfalls werden Plaque-bildende Bakterien wie *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus mutans* und *Streptococcus sanguis*, Pilze sowie einzelne Viren (Herpes-simplex-Virus, Hepatitis-B-Virus, jedoch nicht unbehüllte Viren) effektiv bekämpft (Slee u. O'Connor 1983, Kramer u. Müller 2008). Auch gegen MRSA ist Oct wirksam (Hübner et al. 2009). Bei Verwendung von Verdünnungen müssen die Herstellerangaben beachtet werden, um die Effektivität beizubehalten, da z. B. bei einer 1:1 Verdünnung eines auf Oct und Phenoxyethanol basierenden Antiseptikums ohne organische Belastung und bei Prüfung unterschiedlicher MRSA-Stämme die Einwirkzeit zwischen 30 s und mehr als 5 min variieren kann (Harke 1997). Der Wirkstoff führt im *in vitro* Modell, geprüft mit MRSA und MSSA (Methicillin sensibler *Staphylococcus aureus*) zu keiner Resistenzentwicklung (Al-Doori et al. 2007). Es besteht keine sporozide oder protozoozide Wirkung (Harke u. Streeck 1989).

Hinsichtlich der mikrobioziden Wirkung ist die Effektivität von Oct in geringen Konzentrationen hervorzuheben. Selbst bei einer Verdünnung von 22 µg/ml gegen *E. coli* bzw. 17 µg/ml gegen *S. aureus* (~ 0,0022 bzw. 0,0017 %), was der Verdünnung von Octenisept® auf 1/50 entspricht, war Oct nach 30 min Einwirkzeit noch wirksam (Kramer u. Müller 2007). Koburger et al. (2010) beschreiben als minimale mikrobiozide Konzentrationen gegen *S. aureus* 2 mg/l (~ 0,0002 %), gegen *Enterococcus faecalis* und *C. albicans* 1 mg/l (~ 0,0001 %) sowie gegen *E. coli* und *P. aeruginosa* 8 mg/l (~ 0,0008 %).

Da im klinischen Alltag häufig Therapieschemata aus lokaler Antiseptik und systemischer Antibiose verwendet werden, ist die Interaktion der Wirkstoffe von Bedeutung. Oct führte im Test mit *S. aureus*-Stämmen zu einer Wirkungsverstärkung von Gentamicin (Synergismus; Hübner et al. 2007).

Mikrobiozide Wirksamkeit unter Belastung: Um den Wirkstoff in Anwesenheit unterschiedlicher Belastungssubstanzen zu prüfen, wurden Kombinationen von Oct mit Fibroblasten, BSA (bovines Serumalbumin), Chondroitinsulfat, Lecithin, Cholesterol und Cardiolipin hinsichtlich ihrer mikrobioziden Wirkung auf *E. coli* und *S. aureus* sowie ihrer Zytotoxizität für Fibroblasten bei 30 min Kontaktzeit geprüft. Durch Cardiolipin wurde die mikrobiozide Wirkung von Oct komplett aufgehoben. Chondroitinsulfat verminderte die mikrobiozide Wirkung der Substanz. Die weiteren Kombinationen zeigten diesbezüglich keinen Effekt, jedoch führten alle Kombinationen zu einer Abnahme der Zytotoxizität (Müller u. Kramer 2005b). Es erfolgte keine Wirkungsminderung durch 10 % Albumin, Blut (bis 10 % geprüft) oder 1 % Muzin gegen *S. aureus*, *E. faecium*, *P. aeruginosa* und *E. coli*. Bei *C. albicans* zeigte sich in Anwesenheit von Muzin eine Wirkungsabschwächung (Kramer u. Müller 2007).

Kontraindikationen: Trotz der vielschichtigen Einsatzgebiete und guten Verträglichkeit ist die Anwendung in einigen Bereichen kontraindiziert. In seltenen Fällen kommt es zu vorübergehendem Brennen in der behandelten Region. Oct darf nicht zusammen mit Antiseptika auf PVP-Iod Basis angewendet werden, da Oct Iod-Radikale aus dem Polyvidon-Komplex freisetzen kann. Hierdurch kommt es zu einer intensiven braunen bis violetten Verfärbung der betreffenden Hautareale und ggf. zu Gewebereizungen (Kramer u. Müller 2008, Hübner et al. 2010). Eine weitere Kontraindikation für Oct-Phenoxyethanol-Kombinationen ist die intraoperative Spülung der Bauchhöhle, da eine chemische Peritonitis oder ein Aszites induzierbar ist (Hupuczsi u. Papp 2005). Dennoch belegen Studien, dass der Wirkstoff bei Peritonitis

die Entstehung von Adhäsionen verhindern kann (Güzelsagaltici et al. 2007). Harnblasenspülungen sowie die Anwendung am Trommelfell sind ebenfalls nicht mit Oct durchzuführen (Kramer et al. 2004a, Kramer u. Müller 2008). Eine *in vitro* Studie mit mehreren Antiseptika zeigte, dass Oct bereits in einer Verdünnung von 0,005 % knorpeltoxisch wirkt und somit nicht in antiseptisch wirksamen Konzentrationen zur Gelenkspülung geeignet ist. Im gleichen Modell wurden PVP-Iod 1 % und PHMB 0,005 % bei antiseptischer Wirksamkeit toleriert (Müller u. Kramer 2005a).

Weitere unerwünschte Wirkungen konnten nach Wundspülung von tiefen, perforierenden Handverletzungen bei Kindern mit Octenisept[®] beobachtet werden. Es entstand ein ausgeprägtes interstitielles Ödem, das über Wochen persistierte, therapeutisch nicht beeinflussbar war und im Verlauf mitunter zu Kontrakturen führte (Hülsemann u. Habenicht 2009). Schupp und Holland-Cunz (2009) berichteten bei Anwendung von Octenisept[®] an Kindern im Alter von 2 Monaten bis 4 Jahren ebenfalls über Nebenwirkungen. Nach Säuberung und Lavage tiefer Wunden zeigten sich trotz adäquater Wunddrainage aseptische inflammatorische Reaktionen und subkutane Ödeme mit Gewebnekrosen. Auch bei Erwachsenen waren diese Wundreaktionen zu beobachten. Bei einer Stich-Riss-Verletzung des Daumenballens eines 39-jährigen Patienten wurde nach Spülung mit Octenisept[®] die Wunde mittels primärer Wundnaht verschlossen. Im Verlauf zeigten sich Entzündungen und Nekrosen, da (entgegen der Herstellerangaben) kein Abfluss des Antiseptikums durch eine entsprechende Drainage ermöglicht wurde (Högele u. Neu 2011).

Studien zur Wundheilung: Der Einfluss von Oct auf die Wundheilung ist ein wichtiges Kriterium für den Einsatz *in vivo*. Im Vollblutmodell (*in vitro*) ergab sich sowohl mit als auch ohne Lipopolysaccharid-Zugabe keine Stimulation von Tumornekrosefaktor α . Dementsprechend führt Octenisept[®] nicht zu einer Wirkstoff induzierten Entzündungsreaktion. Mit Lipopolysaccharid-Zugabe war dosisabhängig eine Stimulierung von PDGF-AB (Platelet-derived growth factor AB, Wachstumsfaktor) nachweisbar, die sich ohne Lipopolysaccharid-Zugabe nicht zeigte. Somit fungierte Octenisept[®] in diesem Fall als Co-Stimulator für die Wundheilung (Menke et al. 2001). In einer Parallelgruppenstudie (doppelblind, randomisiert, stratifiziert, kontrolliert) wurde Oct in Kombination mit Phenoxylethanol an oberflächlichen Wunden am Schwein bezüglich der Wundheilung untersucht. Es erwies sich als gleichwertig zu Ringer-Lösung, d. h. die Wundheilung wurde trotz der mikrobioziden Wirksamkeit nicht verzögert. Im Gegensatz dazu verkürzte PHMB in Kombination mit Macrogolum die Zeit bis zum Wundschluss signifikant (Kramer et al. 2004b). Auch Eisenbeiß et al.

(2012) berichteten von einer fehlenden Beeinflussung der Wundheilung durch Oct analog zu Ringerlösung. Stahl et al. (2010) nutzten in einem *in vivo* Modell ebenfalls Wunden der Schweinehaut, die täglich mit Octenisept® exponiert wurden. Es zeigte sich keine Wundheilungshemmung im Vergleich zur Kontrollgruppe. Eine weitere Studie (doppelblind, randomisiert, kontrolliert) zeigte an chronischen Wunden die Verbesserung der Granulation durch 0,1 % Oct in einem vierwöchigen Beobachtungszeitraum im Vergleich zu Ringer-Lösung (Vanscheidt et al. 2005).

Anwendungsbereiche: Der Wirkstoff Oct wird als remanenter Zusatz in alkoholischen Händedesinfektionsmitteln sowie zur wiederholten, zeitlich begrenzten Haut- und Schleimhautantiseptik (0,1 %ige Zubereitung) genutzt. Oct findet Anwendung im Anogenitalbereich, auf der Glans penis und Vulva, in der Vagina (auch als Alternative zu Clotrimazol bei Vulvovaginal-Candidose; Friese et al. 2003), in der Mundhöhle, vor Harnblasenkatheterisierung, vor invasiven oder diagnostischen Eingriffen sowie zeitlich begrenzt zur unterstützenden Therapie von Interdigitalmykosen (Kramer et al. 2004a, Kramer u. Müller 2008). Oct ist Mittel der Wahl bei akuten infizierten Wunden (Hübner et al. 2010). Außerdem wird es zur antiseptischen Körperwaschung in Kombination mit Mundhöhlen- und Nasenhöhlenantiseptik bei MRSA-Patienten verwendet (Sloot et al. 1999, Hübner et al. 2009).

1.3.2 Polihexanid (PHMB)

PHMB ist ein lokal anwendbarer antiseptischer Wirkstoff, der das Mittel der Wahl zur Behandlung chronischer und besonders sensibler Wunden (Brandwunden) darstellt (Kramer et al. 2004a, Daeschlein et al. 2007, Hübner u. Kramer 2010). Er zeichnet sich durch ein breites Wirkungsspektrum und positiven Effekt auf die Reepithelisation aus (Kramer et al. 2004a). Zur Wundbehandlung werden farblose 0,1 und 0,2 %ige Lavasept®-Ringer-Lösungen verwendet, die einer Konzentration von 0,02 % bzw. 0,04 % PHMB entsprechen. Bei sehr empfindlichen Geweben und kritisch kolonisierten chronischen Wunden kann eine 0,01 %ige Lösung eingesetzt werden, da die Wirksamkeit selbst noch bei 0,006 % gegeben ist (DAC 2006, Dissemond et al. 2009). Für den klinischen Gebrauch stehen außerdem diverse Wundgele wie Lavanid® Wundgel und Prontosan® Wundgel zur Verfügung (Dissemond et al. 2009).

Chemisch-physikalische Eigenschaften: PHMB ist leicht in Wasser löslich sowie löslich in aliphatischen Alkoholen, Glycolthern und Glycolen. In aromatischen und organischen Lösungsmitteln ist PHMB jedoch unlöslich. Kompatibilität besteht mit Säuren, quartären Ammoniumverbindungen (Quats) und nichtionogenen Detergentien.

Mit anionischen Detergentien, Alkylsulfonaten und Seifen ist der Wirkstoff inkompatibel. Der Zusatz von Polyethylenglykol (Macrogolum) dient der Herabsetzung der Oberflächenspannung und verbessert die Benetzbarkeit auf Hautoberflächen und Wunden (Kramer u. Roth 2008).

Es ist eine gute Verträglichkeit von PHMB bei der Anwendung an Haut, Schleimhaut und Augen beschrieben. Es besteht keine Sensibilisierungs- oder Photosensibilisierungstendenz (Kramer u. Roth 2008, Hübner u. Kramer 2010). Die Gewebe- und Zytotoxizität ist deutlich geringer als von Chlorhexidin, Oct und PVP-Iod (Kramer et al. 1998). Auf Wunden wird der Wirkstoff nicht resorbiert, ebenso nicht bei antiseptischer Abdeckung granulierender Wunden über mehrere Wochen (DAC 2006, Kramer u. Roth 2008).

Es bestehen keine Hinweise auf mutagene oder carcinogene Potenz, dennoch zeigte sich bei intraperitonealer Gabe ab 10 mg/kg/d und oraler Gabe ab 100 mg/kg/d (Ratte) eine teratogene Wirkung, die jedoch bei der Anwendung auf Wunden wegen fehlender Resorption auf Grund der Molekülgröße irrelevant ist (Fresenius 1991, Kramer et al. 2006, Kramer u. Roth 2008). Die akute Toxizität von PHMB ist sehr gering (LD₅₀ oral Ratte: 5g/kg; Kramer u. Roth 2008). Die chronische Applikation im Fütterungsversuch zeigte bei 200 mg/kg KM keine Nebenwirkungen (Kramer u. Wallhäußer 1993).

Im HET-CAM zur Beurteilung der Irritationsschwelle rief Lavasept® 0,2 % nach 5 min Expositionszeit auf die Chorioallantoismembran des Hühnereis keinerlei reaktive Veränderungen hervor (Kalteis et al. 2003). Bezogen auf die Mikrozirkulation führt PHMB, neben der positiven Gefäßerweiterung, zur Reduktion der funktionellen Kapillardichte und Verlangsamung der Erythrozytenfließgeschwindigkeit (Langer et al. 2004), was aber offensichtlich die Wundheilung nicht beeinträchtigt (Roth u. Kramer 2009).

Wirkungsweise: PHMB entfaltet seine Wirkung über eine kationische Ladung, die zur Erhöhung der Membranpermeabilität führt. Unter Verlust von Kalium und weiteren Zytoplasmabestandteilen kommt es zum Zelltod. Durch die Beeinflussung negativ geladener Membrananteile wird die Aggregation saurer Lipide in der Umgebung hervorgerufen. Die neutralen Lipide in humanen Zellmembranen werden nur gering beeinträchtigt. Daher verfügt der Wirkstoff über eine hohe Gewebeverträglichkeit (Ikeda et al. 1983, Ikeda et al. 1984).

Auch die Zusatzstoffe zu PHMB haben Einfluss auf die Wirkung des Antiseptikums. So wurde die unterschiedliche Wirksamkeit der Zubereitungen Lavasept® (Zusatz Macrogolum) und Prontosan® (Zusatz Undecylenamidopropyl-Betain) bezüglich der Bakteriozide im quantitativen Suspensionstest und der Zytotoxizität an Mäusefibroblasten verglichen. Prontosan® konnte bei höheren Polihexanidkonzentrationen gegen *P. aeruginosa* eine Wirkungsverstärkung bei verringerter Zytotoxizität aufweisen. Bei niedrigeren Konzentrationen und verlängerter Einwirkzeit > 1 min war Lavasept® wirksamer, was zu einer besseren Wundverträglichkeit im Rahmen der Behandlung chronischer Wunden führt (Müller et al. 2007).

Mikrobiozide Wirksamkeit ohne Belastung: Das Antiseptikum besitzt ein breites Wirkungsspektrum gegen Gram-positive und Gram-negative Bakterien (Kramer u. Roth 2008). Ebenso wird es gegen Aspergillus und Candida spp. eingesetzt, was unter anderem in der Therapie der fungalen Keratitis eine Rolle spielt (Messick et al. 1999). Die Therapie der Akanthamöbenkeratitis kann ebenfalls mit PHMB erfolgen (Behrens-Baumann u. Kramer 2002, Kramer et al. 2004a). *In vitro* wird eine Wirksamkeit gegen HIV-1 (Humanes Immundefizienz-Virus 1) beschrieben (Krebs et al. 2005). Die minimale mikrobiozide Konzentration von PHMB beträgt gegen *S. aureus* 0,1 µg/ml (~ 0,00001 %), gegen *Enterococcus faecalis*, *E. coli* und gegen *Enterobacter cloacae* 5 µg/ml (~ 0,0005 %) sowie gegen *P. aeruginosa* 25 µg/ml (~ 0,0025 %, Kramer u. Roth 2008).

Mikrobiozide Wirksamkeit unter Belastung: Der Einfluss von Belastungssubstanzen auf das Antiseptikum spielt eine entscheidende Rolle für die Anwendung *in vivo* und war daher Gegenstand mehrerer Studien. Im Belastungstest mit Humanblut und Albumin wurde die bakteriozide und fungizide Wirkung nicht beeinträchtigt, jedoch verlängerte sich die Einwirkzeit (Koburger et al. 2007). Im Agar-Diffusions-Test wurde der Einfluss von Muzin auf die Wirkung von PHMB gegen MRSA untersucht. Während der Erreger ohne Muzinbelastung schon bei einer Konzentration von 0,1 mg/ml (~ 0,01 %) inhibiert wurde, war bei einer Belastung mit 0,25 % Muzin eine Konzentration von 0,4 mg/ml (~ 0,04 %) notwendig. Belastungen von 0,5 % und 1 % (in der nasalen Mukosa ist der Muzinanteil höher) hoben die Wirkung von PHMB komplett auf (Ansorg et al. 2003). Im quantitativen Suspensionstest wurde 0,02 % PHMB mit Chondroitinsulfat-Belastung getestet. Nach 5 min Einwirkzeit zeigte sich kein mikrobiozider Effekt. Nach 60 min war die Wirkung gegen *S. aureus*, *E. faecium*,

E. coli und *C. albicans* immer noch aufgehoben, gegen *P. aeruginosa* konnte jedoch antimikrobielle Aktivität nachgewiesen werden (Müller u. Kramer 2000).

Kontraindikationen: Kontraindikationen bestehen bei der Anwendung an Gelenken, da es hier auf Grund der Inhibition der Zellorganellen (Mitochondrien) zu Knorpelschädigungen kommen kann (Ganzer et al. 2001). In Konzentrationen von 0,005 % wird PHMB jedoch vom Knorpel toleriert (Müller u. Kramer 2005a). Weitere Einschränkungen sind bei der Anwendung im ZNS, im Mittel- und Innenohr, im Innenaugen, bei Retentionsgefahr, intraperitoneal sowie in den ersten vier Schwangerschaftsmonaten beschrieben. Nur bei zwingender Indikation ist eine Anwendung im weiteren Schwangerschaftsverlauf, in der Stillzeit oder bei Säuglingen und Kleinkindern vertretbar (Kramer 2001, Kramer et al. 2004a, DAC 2006). Der Wirkstoff darf nicht mit anionischen Tensiden und anderen wundreinigenden Salben, Seifen, Ölen oder Enzymen kombiniert werden (Kramer u. Roth 2008). Zu den selten auftretenden Nebenwirkungen zählen Exantheme, Urtikaria und in einzelnen Fällen anaphylaktoide Reaktionen (Olivieri et al. 1998).

Studien zur Wundheilung: Ein besonderer Vorteil von PHMB ist der positive Effekt auf die Wundheilung (Kramer et al. 2004a, Kramer et al. 2004b). PHMB gilt als einziger antiseptischer Wirkstoff, der die Wundheilung fördert (Kramer et al. 2004b, Roth et al. 2010). Gerade bei der Behandlung chronischer Wunden zeigten sich Prontosan[®] bzw. Lavasept[®] 0,1 % geeignet (Kramer et al. 1998, Horrocks 2006, Dissemond et al. 2011). Wundauflagen mit PHMB (Suprasorb[®] X + PHMB) zeigten in einem *in vitro* Testmodell eine bessere Wirkung gegen Fibrinplaques als Alginatwundauflagen mit und ohne Silber (Suprasorb[®] A +/- Ag), was im Rahmen der Heilung chronischer Wunden von Bedeutung ist (Körber et al. 2008).

In einer Studie mit 2 Patientengruppen, in der jeder Patient an einem Ulcus cruris venosum seit mindestens 3 Monaten litt, wurde die feuchte Wundbehandlung mit Prontosan[®] der Versorgung mit Kochsalz-/Ringerlösung gegenüber gestellt. Während des Beobachtungszeitraums von 6 Monaten zeigte die Prontosan[®]-Gruppe eine häufigere und frühere Abheilung der Wunde bei besserer Wundreinigung als die Gruppe mit Kochsalz-/Ringerlösung (Eberlein et al. 2006). Behandlungsergebnisse von Roth und Kramer (2009) sprechen ebenfalls dafür, dass die antiseptische Begleittherapie mit PHMB bei Ulcera cruris maßgeblich zum Therapieerfolg beigetragen hat. Eine andere Studie, die sich mit der Lösung von Wundbelägen

befasste, beschrieb eine gründliche sowie wundreinigende Wirkung von Prontosan® (Kaehn 2007).

Prontosan® W Wundspüllösung und Wundreinigungsgel sind Kombinationen von PHMB mit Undecylenamidopropyl-Betain, die zur Reinigung, Dekontamination und zum Befeuchten von Wunden verwendet werden. Mit Lavasorb® und Lavanid® (auch als Wundgel im Handel) stehen weitere Wundspüllösungen zur Verfügung. Außerdem werden trockene Wundauflagen mit 0,2 % PHMB wie Telfa® A.M.D. (Antimicrobial dressing), Excilon® A.M.D., Kerlix® A.M.D. und Kendall® A.M.D. eingesetzt. Suprasorb® X + PHMB mit 0,3 % PHMB wird als feuchtigkeitsregulierender Verband bei kritisch kolonisierten und infizierten Wunden, die auch exsudierend und tief sein können, empfohlen (Dissemond et al. 2009, Eberlein u. Assadian 2010). Die Anwendung unter okklusiven oder semiokklusiven Abdeckungen ist möglich (Kramer et al. 2004a). Die Einwirkzeit von 10 - 15 min muss eingehalten werden, da es erregerspezifisch zu einem langsamen Wirkungseintritt von PHMB kommt (Werner u. Kramer 1995).

Anwendungsbereiche: Zu den Anwendungsgebieten zählen die Infektionsprophylaxe gefährdeter Wunden, die Therapie infizierter Wunden und die adjuvante Behandlung bei chirurgischer Versorgung akuter sowie chronischer Weichteil- und Knocheninfektionen (Seipp et al. 2005, DAC 2006). Im Rahmen der Versorgung akuter, stark verschmutzter Wunden kann PHMB nach vorherigem chirurgischem Débridement zur Wundspülung verwendet werden und reduziert die Rate postoperativer Wundinfektionen im Vergleich zu PVP-Iod, Wasserstoffperoxid und Ringerlösung signifikant (Roth et al. 2007). Besonders die Behandlung chronischer Wunden wie Ulcera cruris wird mit PHMB erfolgreich durchgeführt (Eberlein et al. 2006). In diesem Bereich gilt PHMB als Mittel der ersten Wahl (Kramer et al. 2006). Weitere Einsatzbereiche sind schwere Verbrennungen. Verbrennungen zweiten Grades zeigten sich nach 10 d reepithelialisiert mit dem zusätzlichen Effekt der Schmerzreduktion (Daeschlein et al. 2007). Für Augeninfektionen stehen Tropfen und Gelpräparate zur Verfügung. In einer Studie wurde Lavasept® präoperativ im Bindehautsack angewendet und zeigte sich bezüglich der antimikrobiellen Wirkung vergleichbar effektiv, aber länger wirksam als PVP-Iod 1,25 % und ist damit eine Alternative für PVP-Iod zur präoperativen Augenantiseptik (Hansmann et al. 2004). Außerdem ist PHMB als Mono-Dosis bei bakterieller Vaginose an Stelle von Metronidazol und Clindamycin wirkungsvoll (Gerli et al. 2003, Koban et al. 2012).

2 Eigene Untersuchungen

2.1 Materialien, Methoden, Versuchsdurchführung

2.1.1 Materialien

Nährmedien:

- Blutagar für das Anlegen der Stammkultur und der ersten Subkultur: 23 g Nährsubstrat (Hefeextrakt, Peptone, Leberhydrolysat), 5 g Natriumchlorid, 12 g Agar-Agar auf 1 l dest. Wasser. Danach erfolgt die Zugabe von 50 ml sterilem defibriniertem Schafs- oder Kaninchenblut.
- CSA (Trypton-Soja-Agar; Casein-Soja-Pepton-Agar): 15 g Trypton (Pankreasauflösung von Casein), 5 g Sojapepton (Papainauflösung von Sojabohnenmehl), 5 g Natriumchlorid, 15 g Agar und 1 l dest. Wasser.
- Sabouraud-Agar für *C. albicans*: 10 g Pepton-Mischung, 40 g Glucose, 17 g Agar und 1 l dest. Wasser.
- Verdünnungslösung: Tryptonnatriumchloridlösung (Trypton-NaCl): 1 g Trypton (Pankreasauflösung von Casein) und 8,5 g Natriumchlorid auf 1 l dest. Wasser.

Ansatz ohne und mit Belastung:

- CSL ohne Belastung (Casein-Soja-Pepton-Lösung): 17 g Pepton aus Casein (Pankreashydrolysat), 3 g Pepton aus Soja (Papainhydrolysat), 5 g Natriumchlorid, 2,5 g Di-Kaliumhydrogenphosphat und 2,5 g Glucose-Monohydrat auf 1 l dest. Wasser.
- Lösung zur Simulation von Wundsekret als Belastung: Minimal Essential Medium Eagle (MEM) mit Earle`s salts und L-glutamine (PAA Laboratories GmbH, Cölbe), ergänzt mit 10 % FBS (fetales bovines Serumalbumin, GIBCO Life Technologies GmbH Karlsruhe).
- Zusätzliche Belastung mit 1 % Blut entspricht der Wundsekretsimulationslösung mit Zusatz von humanem Erythrozytenkonzentrat SAGM und depletierten Leukozyten Lot:3775 08D03 REF:LQT 7297LC, AB+ 0801050410, zur Verfügung gestellt vom Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin, Abteilung Transfusionsmedizin der Universitätsmedizin Greifswald.

Neutralisationsmedien:

- Neutralisationsmedium bei Testung von *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecium* und *C. albicans*: 4 % Tween 80, 3 % Saponin, 0,4 % Lecithin und 1 % SDS (Sodium-dodecyl-sulfate) in 1 l dest. Wasser.

- Neutralisationsmedium bei Testung von *P. aeruginosa* und *S. marcescens*: 30 g CSL mit Zusatz von 30 g Tween 80, 30 g Saponin, 1 g Histidin und 1 g Cystein auf 1 l dest. Wasser.

Probenröhrchen:

- Greiner Probenröhrchen mit Stehrand, steril, mit 50 ml Fassungsvermögen (Greiner Bio-One GmbH Frickenhausen).
- Sarstedt Schraubröhren, steril, mit 15 ml Fassungsvermögen, 120 mm × 17 mm mit Spitzboden (Sarstedt AG & Co Nümbrecht).

Prüforganismen:

S. aureus (ATCC 6538), *S. epidermidis* (ATCC 12228), *E. faecium* (ATCC 6057), *P. aeruginosa* (ATCC 15442), *S. marcescens* (ATCC 13880) und *C. albicans* (ATCC 10231).

Prüfkörper:

- Metallplättchen: kreisförmig mit 2 cm Durchmesser und 1,5 mm Stärke, aus nichtrostendem Stahl (NIROSTA) 1.4301 nach EN 10088-1 mit einer Oberflächengüte der Qualität 2B auf Ober- und Unterseite gemäß den Anforderungen der EN 10088-2 (Cziotec GmbH Greifswald).
- Glasplättchen: Objektträger 76 mm × 26 mm, gebrauchsfertig (Menzel-Gläser, Glasbearbeitungswerk GmbH & Co. KG Braunschweig). Die Objektträger entsprechen der ISO Norm 8037/1 und haben die Standardstärke von 1 mm. Sie wurden auf die Größe von 26 mm × 26 mm zugeschnitten.
- Kunststoffobjektträger: kreisförmige Scheiben mit einem Durchmesser von 12,7 mm. Die Coupons bestehen aus Polycarbonat und werden für den CDC-Biofilmreaktor verwendet (RD 128-PC, Qty: 24 ea, BioSurface Technologies Corp. Montana, USA).

Prüfsubstanzen (zur Verfügung gestellt durch die Firma Schülke & Mayr GmbH Norderstedt):

- Octenidingel mit 0,1 %, 0,05 %, 0,02 %, 0,01 % bzw. 0,005 % Oct. Weitere Inhaltsstoffe: 2,85 % Glycerol 85 %, 94,65 % VE-Wasser (vollentsalztes Wasser), 2,5 % Hydroxyethylcellulose.
- Polihexanidgel mit 0,02 % PHMB. Weitere Inhaltsstoffe: 2,85 % Glycerol 85 %, 94,65 % VE-Wasser, 2,5 % Hydroxyethylcellulose.

- Placebo: Gelgrundsubstanz ohne zusätzlichen antiseptischen Wirkstoff: 2,85 % Glycerol 85 %, 94,65 % VE-Wasser, 2,5 % Hydroxyethylcellulose.

2.1.2 Methoden

Das in der Studie entwickelte praxisnahe Testverfahren orientiert sich z. T. an den Vorgaben der EN 13697 und EN 14561. Die Grundlage bildet der quantitative Suspensionstest, der zur Bestimmung der mikrobioziden Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln und Antiseptika entsprechend der EN 13727 und EN 13624 empfohlen wird. Als Wirkungskriterium dient die in Logarithmusstufen zur Basis 10 angegebene Reduktion der Kolonie bildenden Einheiten, die durch die Prüfsubstanz erreicht wird. Je nach Belastung und Testorganismus wird eine Reduktion zwischen 3 bis 5 lg gefordert, was einer Verminderung der Koloniezahl um 99,9 % bis 99,999 % entspricht (Steinhauer 2006).

Während in der Phase 1-Prüfung lediglich die prinzipielle Wirksamkeit geprüft wird, bezieht man in der Phase 2-Prüfung organische Belastung mit ein (Phase 2/Stufe 1). Des Weiteren nutzt man hier Prüfkörper oder Testflächen (Phase 2/Stufe 2), um die Anwendung möglichst praxisnah zu simulieren (Steinhauer 2006). Um ein großes Erregerspektrum darzustellen, werden Referenzstämme von Gram-positiven (*S. aureus*) sowie Gram-negativen (*P. aeruginosa*) Bakterien verwendet. Die Versuche mit der Hefe *C. albicans* dienen der Einschätzung der levuroziden Wirkung (Steinhauer 2006, Gebel et al. 2008).

Herstellung der Erregersuspension: Für die Herstellung der Stammkultur wurde eine gekühlte Perle mit Prüforganismen des jeweiligen Prüfstamms auf Blutagar aufgetragen und dieser für 24 h bei 36 ± 1 °C bebrütet. Danach wurde aus dieser Stammkultur eine Kolonie abgenommen, diese auf Blutagar überimpft und für 24 h bei 36 ± 1 °C bebrütet. Die so entstandene Subkultur wurde als Arbeitskultur für den jeweiligen Versuchstag verwendet und jeweils frisch 1 d zuvor angesetzt.

Für die Versuchsreihe ohne Belastung wurden 30 ml CSL mit 4 Kolonien der Subkultur beimpft und die Suspension erneut für 24 h bei 36 ± 1 °C bebrütet. Vor Versuchsbeginn wurde die Suspension verdünnt, indem 1 ml der Erregerlösung mit 9 ml Trypton-NaCl versetzt wurde. Parallel erfolgte für das Modell mit Belastung ein Ansatz in MEM mit Earle's salts und L-glutamine, ergänzt mit 10 % FBS. In einer weiteren Versuchsreihe wurden etwa 30 min vor Versuchsbeginn zusätzlich humane Erythrozyten zugegeben, so dass sich eine Blutbelastung von 1 % ergab.

Kontrolle der Erregerzahl und Ermittlung der AKZ: Um zu gewährleisten dass die Versuche mit einer ausreichenden Erregerzahl von etwa 10^8 bis 10^9 KbE/ml durchgeführt wurden, erfolgte die Kontrolle mittels mehrfacher Verdünnungen in Trypton-NaCl. Jeweils 0,1 ml der Verdünnungen 10^{-6} , 10^{-7} und 10^{-8} wurden im Doppelverfahren auf den für den spezifischen Erreger zu verwendenden Agar ausplattiert und für 48 h bei 36 ± 1 °C im Brutschrank bebrütet. Danach wurden die Kolonien ausgezählt und die AKZ berechnet.

Auswertung der Agarplatten: Generell wurden für die Versuche nur Agarplatten mit einer KbE-Anzahl zwischen 15 und 300 bei der Auswertung berücksichtigt. Das gewichtete Mittel der aufeinanderfolgenden Verdünnungen wurde wie folgt bestimmt:

$$\hat{C} = \frac{c}{(n_1 + 0,1n_2)d}$$

\hat{C} = gewichtetes Mittel

c = Summe der Kolonien auf allen ausgewerteten Nährböden

n_1 = Anzahl der ausgewerteten Nährböden mit der ersten Verdünnung

n_2 = Anzahl der ausgewerteten Nährböden mit der zweiten Verdünnung

d = Verdünnungsfaktor der ersten ausgewerteten Verdünnung

2.1.3 Versuchsdurchführung

Validierungstests: Um die Neutralisation zu kontrollieren wurden 8 ml Neutralisationsmittel mit 0,5 ml Prüfsubstanz der höchsten Konzentration vermischt und danach 1 ml der Erregersuspension hinzugefügt. Nach 5 min \pm 30 s wurden diesem Gemisch 0,1 ml entnommen und mit 10 ml Trypton-NaCl vermischt. Von den Verdünnungen 10^{-6} , 10^{-7} und 10^{-8} wurden jeweils 0,1 ml entnommen und im Doppelverfahren auf CSA/Sabouraud-Agar ausplattiert. Nach 48 h bei 36 ± 1 °C Bebrütung erfolgte das Auszählen der KbE im Vergleich zur Kontrolle ohne Prüfsubstanz.

Um zu prüfen ob das Rückgewinnungsverfahren (Abschwemmen der Erreger vom Prüfkörper mittels etwa 5 ml Glasperlen) konstante Ergebnisse liefert, wurden in Vorversuchen 40 Metallplättchen (nach unten genanntem Vorgehen) mit der Erregersuspension (*S. aureus*) kontaminiert, abgeschwemmt, ausplattiert und die Anzahl der KbE ermittelt.

Versuchsdurchführung auf Metallplättchen im Hauptversuch (alle Prüforganismen): Die Lagerung der Metallplättchen erfolgte während des Versuchs in Petrischalen. Mittels Pipette wurden 0,05 ml der Erregersuspension auf jedes Metallplättchen aufgetragen, gleichmäßig verteilt und unter Laminar air flow vollständig für die Dauer von max. 60 min getrocknet. Danach wurden 0,25 g der Prüfsubstanz auf jedes Metallplättchen aufgetragen und so verstrichen, dass die Erreger vollständig bedeckt waren. Parallel wurde als Kontrolle anstelle der Prüfsubstanz die Gelgrundsubstanz verwendet und ebenso verfahren. Ein Ansatz, in dem nur die Suspension auf die Plättchen pipettiert wurde (Negativkontrolle), lief parallel mit. Nach Ablauf der Einwirkzeiten von 5 min, 30 min, 3 h, 10 h und 24 h wurden die Plättchen aller Ansatzvarianten in Greiner-Röhrchen überführt, die zuvor mit etwa 5 ml Glasperlen und 10 ml Neutralisationsmittel befüllt wurden. Das Metallplättchen wurde so platziert, dass die kontaminierte Oberfläche nach unten zeigte und sich auf den Glasperlen frei in der Horizontalen bewegen konnte. Daraufhin erfolgte das Schütteln der Röhrchen für 2 min auf dem Vortexer[®], um die Prüforganismen von dem Prüfkörper in das Neutralisationsmedium zu überführen.

Nach einer Neutralisationszeit von 5 min wurde je 1 ml des Prüfsubstanz-Neutralisations-Gemisches entnommen und mit 9 ml Trypton-NaCl verdünnt. Auf diese Weise wurden noch weitere Verdünnungsstufen angelegt, um die Auszählbarkeit der Platten zu gewährleisten. Von dem Prüfsubstanz-Neutralisations-Gemisch sowie den verschiedenen Verdünnungsstufen wurden je 0,1 ml auf CSA/Sabouraud-Agar im Doppelverfahren ausplattiert, 48 h bei 36 ± 1 °C bebrütet und danach die KbE ausgezählt.

Die Berechnung des Reduktionsfaktors (nach der Einwirkzeit t) erfolgte aus dem arithmetischen Mittel von (2)3 - 7 Werten nach folgender Formel:

$$RF_t = \lg (\text{KbE } 1) - \lg (\text{KbE } 2)$$

KbE 1 Anzahl der KbE ohne Einwirkung der Prüfsubstanz (Gelgrundsubstanz, Placebo)

KbE 2 Anzahl der KbE nach Einwirkung der Prüfsubstanz

Versuchsdurchführung mit erhöhter Ausgangskoloniezahl (*S. aureus*, *P. aeruginosa*): Für *S. aureus* und *P. aeruginosa* wurde in einer weiteren Versuchsreihe ohne Belastung die AKZ erhöht, um eine höhere Erregerrückgewinnung

zu gewährleisten. Des Weiteren sollte so die Veränderung der Wirksamkeit der Prüfsubstanz in Anwesenheit einer erhöhten Erregerkonzentration dargestellt werden.

Versuchsdurchführung mit unvollständiger Trocknung (*P. aeruginosa*): Für *P. aeruginosa* (Belastung durch MEM, 10 % FBS und 1 % Ery) wurden zusätzlich Versuchsreihen durchgeführt, bei denen die Erregersuspension nur unvollständig bis gar nicht auf dem Objektträger getrocknet war, um auch hier eine bessere Rückgewinnung zu erreichen. Außerdem sollte der Test den Einfluss der Trocknung auf die unterschiedliche Anzahl zurückgewonnener KbE nachweisen.

Versuchsdurchführung mit unterschiedlichen Prüfkörpern (*P. aeruginosa*): Ein weiteres Modell beschäftigte sich mit der Rückgewinnung von *P. aeruginosa* (Belastung durch MEM, 10 % FBS und 1 % Ery) von unterschiedlichen Prüfkörpern, da dieser Erreger im Vergleich zu den anderen Prüforganismen nur in geringerer Zahl zurückgewonnen werden konnte. Die Herstellung der Erregersuspension erfolgte hierfür in gleicher Weise wie bei den vorangegangenen Tests. Als Objektträger dienten Metall, Kunststoff und Glas. Es wurden wiederum je 0,05 ml der Erregersuspension auf die Objektträger pipettiert, diese vollständig getrocknet und mit 0,25 g der Gelgrundsubstanz überschichtet. Nach 5 min, 30 min und 3 h erfolgte das Abschwemmen der Gemische vom Prüfkörper. Da der Objektträger aus Glas zu groß war, um sich im Greiner-Röhrchen ausreichend zu bewegen, wurde dieser in einem sterilen Becherglas mit Glasperlen und dem gleichen Neutralisationsmittelvolumen (10 ml) abgeschwemmt. Des Weiteren wurden die Objektträger nach dem Abschwemmen aseptisch aus dem Röhrchen entnommen und mit einem Tupfer die gesamte Oberfläche abgestrichen. Das Material vom Tupfer wurde nun auf CSA ausgestrichen, ebenfalls bebrütet und die Anzahl der Kolonien ermittelt.

2.2 Ergebnisse

2.2.1 Validierungsversuche

Eine Antrocknungszeit von max. 60 min wurde vorgegeben, um ein Absterben der Erreger durch den Trocknungsprozess zu minimieren. Das Auftragen von 0,05 ml Erregersuspension erwies sich im Bezug auf die Trocknungszeit von max. 60 min und das Überschichten durch die Prüfsubstanz als geeignete Menge gemäß EN 13697. Mit 0,25 g der Prüfsubstanz konnte in Vortests eine Menge ermittelt werden, die ausreichend auf den angetrockneten Erregern verstrichen werden konnte, aber nicht über den Rand des Prüfkörpers hinaus lief.

Eine Füllhöhe der Glasperlen von etwa 5 ml im Greiner-Röhrchen zeigte sich in Vorversuchen ausreichend, um das Plättchen im Proberöhrchen auch bei Drehung in unterschiedlichen Ebenen ausreichend zu umschließen und somit eine Erregerabschwemmung kontinuierlich zu gewährleisten.

Im Vorversuch wurde die Rückgewinnung der Erreger von 20 Metallobjektträgern (beschickt mit *S. aureus*) geprüft. Der Mittelwert der Erreger, die durch Abschwemmen nach der Trocknung zurückgewonnen werden konnten, betrug 7,9 lg-Stufen pro ml mit einer Standardabweichung von 0,09 lg. Somit liefert diese Technik der Erregerrückgewinnung hinreichend konstante Ergebnisse bezogen auf die verfahrensspezifischen Schwankungen.

Die Rückgewinnungsmenge der Prüforganismen von den Prüfkörpern nach Überschichtung mit der Gelgrundsubstanz (Placebo) unterschied sich erregerabhängig um bis zu 1,8 lg (*C. albicans*) im Vergleich zur AKZ ohne Belastung (Tab. 2). Jedoch differierte die Rückgewinnungsrate nicht nur abhängig vom Prüforganismus, sondern unterschied sich auch ohne und mit Belastung bei derselben Spezies (Tab. 2, 3, 4). Die Rückgewinnungsrate reduzierte sich erregerabhängig z. T. mit zunehmender Belastung um max. 2,7 lg (Tab. 4). Die konstanteste und insgesamt mit dem geringsten Verlust zu verzeichnende Rückgewinnung auch mit Belastung zeigte sich bei *S. epidermidis* und *E. faecium*, die stärksten Schwankungen in Abhängigkeit von der Belastung waren bei *S. marcescens*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* darstellbar (Tab. 2, 3, 4). Die Rückgewinnung von *P. aeruginosa* war im Test mit Ery (feucht, trocken, halbtrocken) bei feuchter Suspension am besten (Tab. 4).

Starke zeitabhängige Schwankungen zeigten sich im Versuch ohne Belastung z. B. bei *S. marcescens*. Nach 24 h war die Rückgewinnung um 1,7 lg höher als nach 5 min (Tab. 2). Nahezu einheitlich war bei allen Prüforganismen die zunehmende Rückgewinnungsrate mit zunehmender Zeitdauer der Exposition insbesondere im Ansatz mit MEM und 10 % FBS (Tab. 2, 3, 4).

Tab. 2: Rückgewinnung von Erregern aus der Gelgrundsubstanz ohne Belastung, ausgedrückt als Differenz (in lg-Stufen \pm Standardabweichung) zwischen AKZ und rückgewonnener KbE-Zahl

CSL	<i>C. albicans</i> AKZ 8,8 \pm 0,13 lg	<i>E. faecium</i> AKZ 9,5 \pm 0,11 lg	<i>S. aureus</i> AKZ 8,2 \pm 0,20 lg
5 min	1,8 \pm 0,58	0,8 \pm 0,13	0,5 \pm 0,34
30 min	1,0 \pm 0,33	0,7 \pm 0,11	0,5 \pm 0,29
3 h	0,9 \pm 0,40	0,8 \pm 0,14	0,3 \pm 0,33
10 h	0,6 \pm 0,35	0,7 \pm 0,10	-0,3 \pm 0,19
24 h	0,2 \pm 0,23	0,7 \pm 0,24	-0,7 \pm 0,40
CSL	<i>S. epidermidis</i> AKZ 8,8 \pm 0,12 lg	<i>S. marcescens</i> AKZ 9,7 \pm 0,19 lg	<i>P. aeruginosa</i> AKZ 8,8 \pm 0,23 lg
5 min	0,5 \pm 0,28	1,0 \pm 0,12	0,7 \pm 0,27
30 min	0,4 \pm 0,16	0,8 \pm 0,29	0,7 \pm 0,27
3 h	0,2 \pm 0,14	1,0 \pm 0,12	0,7 \pm 0,23
10 h	-0,1 \pm 0,09	-0,6 \pm 0,34	0,0 \pm 0,27
24 h	-0,2 \pm 0,12	-0,7 \pm 0,21	-0,7 \pm 0,23

Tab. 3: Rückgewinnung von Erregern aus der Gelgrundsubstanz bei Belastung mit MEM + 10 % FBS, ausgedrückt als Differenz (in lg-Stufen \pm Standardabweichung) zwischen AKZ und rückgewonnener KbE-Zahl

MEM + 10 % FBS	<i>C. albicans</i> AKZ 8,8 \pm 0,11 lg	<i>E. faecium</i> AKZ 8,4 \pm 0,34 lg	<i>S. aureus</i> AKZ 8,1 \pm 0,07 lg
5 min	1,5 \pm 0,19	0,9 \pm 0,31	1,3 \pm 0,30
30 min	1,0 \pm 0,09	0,6 \pm 0,26	1,4 \pm 0,53
3 h	1,0 \pm 0,09	0,6 \pm 0,20	1,1 \pm 0,48
10 h	0,6 \pm 0,14	0,5 \pm 0,18	0,6 \pm 0,12
24 h	0,3 \pm 0,10	0,7 \pm 0,33	-0,6 \pm 0,14
MEM + 10 % FBS	<i>S. epidermidis</i> AKZ 8,3 \pm 0,25 lg	<i>S. marcescens</i> AKZ 8,9 \pm 0,13 lg	<i>P. aeruginosa</i> AKZ 8,2 \pm 0,52 lg
5 min	0,5 \pm 0,09	2,1 \pm 0,58	1,5 \pm 0,97
30 min	0,5 \pm 0,12	1,8 \pm 0,22	1,6 \pm 1,02
3 h	0,5 \pm 0,12	2,3 \pm 0,30	1,5 \pm 0,96
10 h	0,5 \pm 0,07	1,1 \pm 0,22	0,8 \pm 0,74
24 h	0,7 \pm 0,16	-0,5 \pm 0,12	-0,8 \pm 0,48

Tab. 4: Rückgewinnung von Erregern aus der Gelgrundsubstanz bei Belastung mit MEM + 10 % FBS + 1 % Ery, ausgedrückt als Differenz (in Ig-Stufen \pm Standardabweichung) zwischen AKZ und rückgewonnener KbE-Zahl

MEM + 10 % FBS + 1 % Ery	<i>C. albicans</i> AKZ 9,0 \pm 0,00 lg	<i>E. faecium</i> AKZ 8,0 \pm 0,23 lg	<i>S. aureus</i> AKZ 8,0 \pm 0,01 lg	<i>S. epidermidis</i> AKZ 8,3 \pm 0,03 lg
30 min	0,3 \pm 0,00	0,4 \pm 0,21	0,8 \pm 0,07	0,1 \pm 0,14
3 h	0,2 \pm 0,00	0,5 \pm 0,32	0,6 \pm 0,03	0,0 \pm 0,04
10 h	0,2 \pm 0,00	0,2 \pm 0,11	-0,4 \pm 0,20	-0,1 \pm 0,13
24 h	0,0 \pm 0,00	0,0 \pm 0,10	-0,9 \pm 0,27	-0,3 \pm 0,38
MEM + 10 % FBS + 1 % Ery	<i>S. marcescens</i> AKZ 9,0 \pm 0,00 lg	<i>P. aeruginosa</i> trocken AKZ 8,5 \pm 0,73 lg	<i>P. aeruginosa</i> feucht AKZ 9,6 \pm 0,11 lg	<i>P. aeruginosa</i> halb trocken AKZ 9,5 \pm 0,20 lg
30 min	2,2 \pm 0,62	2,5 \pm 0,61	0,3 \pm 0,01	0,9 \pm 0,76
3 h	2,3 \pm 0,60	2,7 \pm 1,25	0,1 \pm 0,04	0,2 \pm 0,21
10 h	1,0 \pm 0,26	1,9 \pm 1,48	-0,1 \pm 0,07	0,1 \pm 0,13
24 h	1,2 \pm 0,81	-0,5 \pm 1,23	-0,2 \pm 0,09	-0,1 \pm 0,06

Zusätzlich zu dem metallischen Prüfkörper wurde die Rückgewinnbarkeit von *P. aeruginosa* auf Prüfkörpern aus Glas und Kunststoff untersucht. Außerdem wurde ein Abstrich angefertigt, der nach dem Abschwemmen auf dem Objektträger verbliebene Erreger erfasst.

Die Erregersuspension verteilte sich auf dem Glasobjektträger gleichmäßiger und trocknete schneller. Die verhältnismäßig unebene Oberfläche des Kunststoffs führte zur Tropfenbildung der Suspension. Eine verlängerte Trocknungszeit war festzustellen. Durch die ungleichmäßige Verteilung der Erregersuspension entstanden auf dem Prüfkörper Bereiche mit besonders hoher Erregerdichte.

Auch bei diesen beiden Materialien war ein Erregerverlust nach Rückgewinnung feststellbar. Hierbei zeigte der Glasobjektträger die schlechteste Rückgewinnungsrate, jedoch waren im Abstrich nur noch wenige Erreger nachweisbar. Der Kunststoffobjektträger zeigte eine ähnliche Verlustrate nach dem Abschwemmen wie der Metallprüfkörper bei deutlich höherem Verbleib von Erregern auf der Testoberfläche nach der Rückgewinnung (Abstrich; Tab. 5).

Tab. 5: Rückgewinnung von Erregern bei Belastung (MEM + 10 % FBS + 1 % Ery) von verschiedenen Objektträgern, ausgedrückt als Differenz (in lg-Stufen \pm Standardabweichung) zwischen AKZ und rückgewonnener KbE-Zahl und Anzahl der KbE im Objektträgerabstrich nach Abschwemmung (*P. aeruginosa*)

MEM + 10 % FBS + 1 % Ery	Metall AKZ 9,4 \pm 0,00		Kunststoff AKZ 9,5 \pm 0,00		Glas AKZ 9,5 \pm 0,00	
	RF	Abstrich (KbE)	RF	Abstrich (KbE)	RF	Abstrich (KbE)
5 min	1,6 \pm 0,07	37	1,6 \pm 0,10	183	2,8 \pm 0,09	7
30 min	2,1 \pm 0,16	14	2,1 \pm 0,12	41	2,9 \pm 0,08	5
3 h	2,3 \pm 0,10	7	2,5 \pm 0,35	41	3,4 \pm 0,15	7

Für alle Erreger wurde beobachtet, dass die Erregersuspension nach dem Auftragen des Octenidringels mit höherer Konzentration nach einigen Minuten eine Phasengrenze bildete. Bei niedrigeren Octenidinkonzentrationen bildeten die Erregersuspension und das Prüfgel eine optisch homogene Masse ohne sichtbare Phasentrennung.

Die Neutralisationsmedien konnten für jeden Erreger als nicht toxisch bzw. gegenüber der Prüfsubstanz als neutralisierend bestätigt werden.

Prüfkriterien: Ziel der Studie war es, Wundgele verschiedener Octenidinkonzentrationen gegen Gram-positive und Gram-negative Bakterien sowie gegen *C. albicans* im Vergleich zu 0,02 % PHMB zu testen. Als Kriterium für eine ausreichende Wirksamkeit wurde in Analogie zum quantitativen Suspensionstest (Pitten et al. 2003) ohne Belastung ein RF \geq 5 lg bei Bakterien und \geq 4 lg bei *C. albicans*, bei Belastung (MEM und 10 % FBS sowie zusätzlich 1 % Ery) für alle Prüforganismen ein RF \geq 3 lg zugrunde gelegt.

2.2.2 Ergebnisse im Hauptversuch

Die nachfolgenden Tabellen enthalten die RF in lg, die von den Prüfsubstanzen bezogen auf die Gelgrundsubstanz erreicht wurden. Neben dem mittleren Reduktionsfaktor ist jeweils die Standardabweichung dargestellt. Die Zahlenwerte sind als Logarithmus zur Basis 10 der KbE per 0,05 ml angegeben. Die Anzahl (n) der Einzelversuche ist jeweils aufgeführt.

Die Plus- und Minussymbole kennzeichnen die Ergebnisse der Einzelversuche mit folgender Bedeutung:

- ++ Alle Versuche erreichten die geforderte lg-Stufen-Reduktion.
- + Die Mehrzahl der Versuche erreichte die geforderte lg-Stufen-Reduktion.
- ± Die Anzahl der Versuche, die die Reduktion erreichte, entspricht der Anzahl der Versuche, die die Reduktion nicht erreichte.
- Die Mehrzahl der Versuche erreichte die geforderte lg-Stufen-Reduktion nicht.
- Kein Versuch erreichte die geforderte Reduktion.

Wirksamkeit gegen *S. aureus*: Für Octenidingel 0,005 % und Polihexanidgel wurde im Versuchsmodell ohne Belastung nach 10 h der geforderte RF > 5 lg-Stufen ermittelt (Tab. 6, Abb. 1).

Tab. 6: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in lg-Stufen für *S. aureus* ohne Belastung (AKZ $8,2 \pm 0,20$ lg)

Prüfsubstanz	5 min (x)	30 min (x)	3 h (x)	10 h	24 h
Oct 0,1 %	$\geq 4,4 \pm 0,14^-$ n=3	$\geq 4,5 \pm 0,15^-$ n=3	$\geq 4,6 \pm 0,17^-$ n=3	$\geq 5,2 \pm 0,10^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,21^{++}$ n=3
Oct 0,05 %	$3,2 \pm 1,26^-$ n=6	$\geq 4,5 \pm 0,15^-$ n=3	$\geq 4,6 \pm 0,17^-$ n=3	$\geq 5,2 \pm 0,10^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,21^{++}$ n=3
Oct 0,02 %	$3,3 \pm 1,34^-$ n=6	$\geq 4,5 \pm 0,15^-$ n=3	$\geq 4,6 \pm 0,17^-$ n=3	$\geq 5,2 \pm 0,10^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,21^{++}$ n=3
Oct 0,01 %	$2,4 \pm 0,98^-$ n=4	$\geq 4,5 \pm 0,15^-$ n=3	$\geq 4,6 \pm 0,17^-$ n=3	$\geq 5,2 \pm 0,10^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,21^{++}$ n=3
Oct 0,005 %	$0,8 \pm 0,95^-$ n=3	$\geq 4,5 \pm 0,15^-$ n=3	$\geq 4,6 \pm 0,17^-$ n=3	$\geq 5,2 \pm 0,10^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,21^{++}$ n=3
PHMB 0,02 %	$-0,1 \pm 0,14^-$ n=3	$0,5 \pm 0,11^-$ n=3	$2,8 \pm 0,31^-$ n=3	$\geq 5,2 \pm 0,10^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,21^{++}$ n=3
Negativ- kontrolle	$0,2 \pm 0,36^-$ n=4	$0,6 \pm 0,67^-$ n=4	$0,5 \pm 0,19^-$ n=3	$1,0 \pm 0,28^-$ n=3	$1,4 \pm 0,30^-$ n=3

(x): Die Rückgewinnungsrate in der Gelgrundsubstanz war < 5 lg

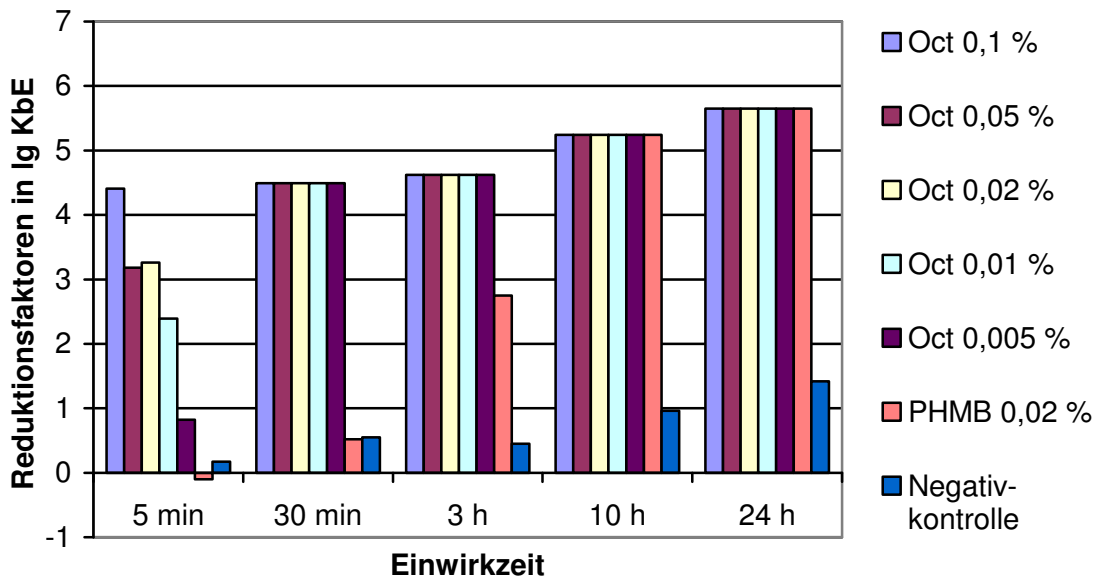


Abb. 1: Reduktionsfaktoren für *S. aureus* ohne Belastung, grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 6

Da die Rückgewinnung nach 5 min, 30 min und 3 h nicht ausreichte, um eine lg-Stufen-Reduktion ≥ 5 lg darzustellen, wurde der Versuch mit einer um 0,9 lg-Stufen erhöhten AKZ wiederholt. Hierbei konnte für Oct 0,01 % nach 3 h eine ausreichende Wirksamkeit nachgewiesen werden (Tab. 7, Abb. 2).

Tab. 7: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in lg-Stufen für *S. aureus* ohne Belastung bei erhöhter AKZ (AKZ $9,1 \pm 0,13$ lg)

Prüfsubstanz	5 min	30 min	3 h
Oct 0,1 %	$2,1 \pm 1,09^-$ n=5	$4,4 \pm 1,25^-$ n=5	$\geq 5,8 \pm 0,13^{++}$ n=3
Oct 0,05%	-	$3,3 \pm 1,72^-$ n=5	$\geq 5,8 \pm 0,13^{++}$ n=3
Oct 0,02 %	-	$2,9 \pm 0,94^-$ n=5	$\geq 5,8 \pm 0,13^{++}$ n=3
Oct 0,01 %	-	$1,7 \pm 0,46^-$ n=5	$\geq 5,8 \pm 0,13^{++}$ n=3
Oct 0,005 %	-	$1,3 \pm 0,50^-$ n=3	$2,6 \pm 0,49^-$ n=3

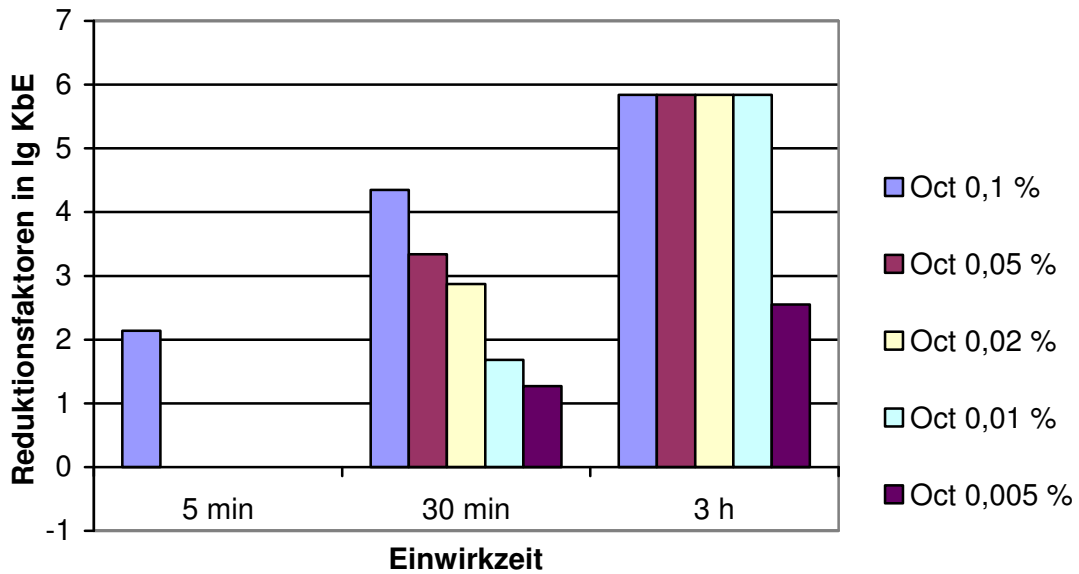


Abb. 2: Reduktionsfaktoren für *S. aureus* ohne Belastung mit erhöhter AKZ, grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 7

Mit Belastung (MEM und 10 % FBS) konnte für Oct 0,005 % nach 5 min die geforderte Reduktion von ≥ 3 lg-Stufen ermittelt werden. Für PHMB wurde eine Reduktion ≥ 3 lg-Stufen nach 3 h beobachtet (Tab. 8, Abb. 3).

Tab. 8: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in lg-Stufen für *S. aureus* mit Belastung (AKZ $8,1 \pm 0,07$ lg)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS	5 min	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,1 %	$\geq 3,5 \pm 0,45^{++}$ n=3	$\geq 3,4 \pm 0,57^{+}$ n=4	$\geq 3,7 \pm 0,59^{++}$ n=4	$\geq 4,2 \pm 0,19^{++}$ n=3	$\geq 5,4 \pm 0,22^{++}$ n=3
Oct 0,05 %	$\geq 3,5 \pm 0,45^{++}$ n=3	$\geq 3,4 \pm 0,57^{+}$ n=4	$\geq 3,7 \pm 0,59^{++}$ n=4	$\geq 4,2 \pm 0,19^{++}$ n=3	$\geq 5,4 \pm 0,22^{++}$ n=3
Oct 0,02 %	$\geq 3,5 \pm 0,45^{++}$ n=3	$\geq 3,4 \pm 0,57^{+}$ n=4	$\geq 3,7 \pm 0,59^{++}$ n=4	$\geq 4,2 \pm 0,19^{++}$ n=3	$\geq 5,4 \pm 0,22^{++}$ n=3
Oct 0,01 %	$\geq 3,5 \pm 0,45^{++}$ n=3	$\geq 3,4 \pm 0,57^{+}$ n=4	$\geq 3,7 \pm 0,59^{++}$ n=4	$\geq 4,2 \pm 0,19^{++}$ n=3	$\geq 5,4 \pm 0,22^{++}$ n=3
Oct 0,005 %	$3,1 \pm 0,73^{+}$ n=6	$\geq 3,4 \pm 0,57^{+}$ n=4	$\geq 3,7 \pm 0,59^{++}$ n=4	$\geq 4,2 \pm 0,19^{++}$ n=3	$\geq 5,4 \pm 0,22^{++}$ n=3
PHMB 0,02 %	$0,6 \pm 0,41^{-}$ n=3	$1,8 \pm 1,27^{-}$ n=4	$\geq 3,7 \pm 0,59^{++}$ n=4	$\geq 4,2 \pm 0,19^{++}$ n=3	$\geq 5,4 \pm 0,22^{++}$ n=3
Negativkontrolle	$0,0 \pm 0,35^{-}$ n=4	$0,7 \pm 0,47^{-}$ n=4	$0,5 \pm 0,36^{-}$ n=4	$0,8 \pm 0,54^{-}$ n=3	$2,2 \pm 0,39^{-}$ n=3

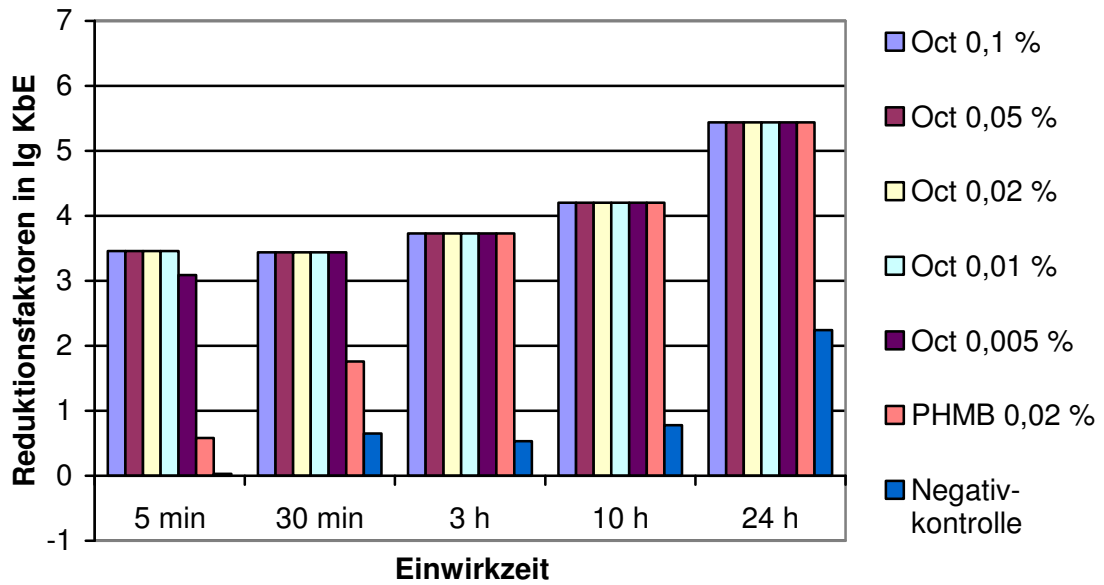


Abb. 3: Reduktionsfaktoren für *S. aureus* mit Belastung (MEM + 10 % FBS), grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 8

Durch Oct 0,01 % und PHMB konnte mit Belastung (MEM und 10 % FBS) sowie Ery-Zusatz nach 30 min eine ausreichende Reduktion dargestellt werden (Tab. 9, Abb. 4).

Tab. 9: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in lg-Stufen für *S. aureus* mit Belastung zzgl. Ery (AKZ $8,0 \pm 0,01$ lg)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS + 1 % Ery	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,01 %	$\geq 3,9 \pm 0,09^{++}$ n=2	$\geq 4,1 \pm 0,04^{++}$ n=2	$\geq 5,2 \pm 0,21^{++}$ n=2	$\geq 5,6 \pm 0,28^{++}$ n=2
PHMB 0,02 %	$\geq 3,9 \pm 0,09^{++}$ n=2	$\geq 4,1 \pm 0,04^{++}$ n=2	$\geq 5,2 \pm 0,21^{++}$ n=2	$\geq 5,6 \pm 0,28^{++}$ n=2
Negativkontrolle	$0,2 \pm 0,33^{--}$ n=2	$0,5 \pm 0,10^{--}$ n=2	$1,9 \pm 0,07^{--}$ n=2	$3,6 \pm 0,74^{++}$ n=2

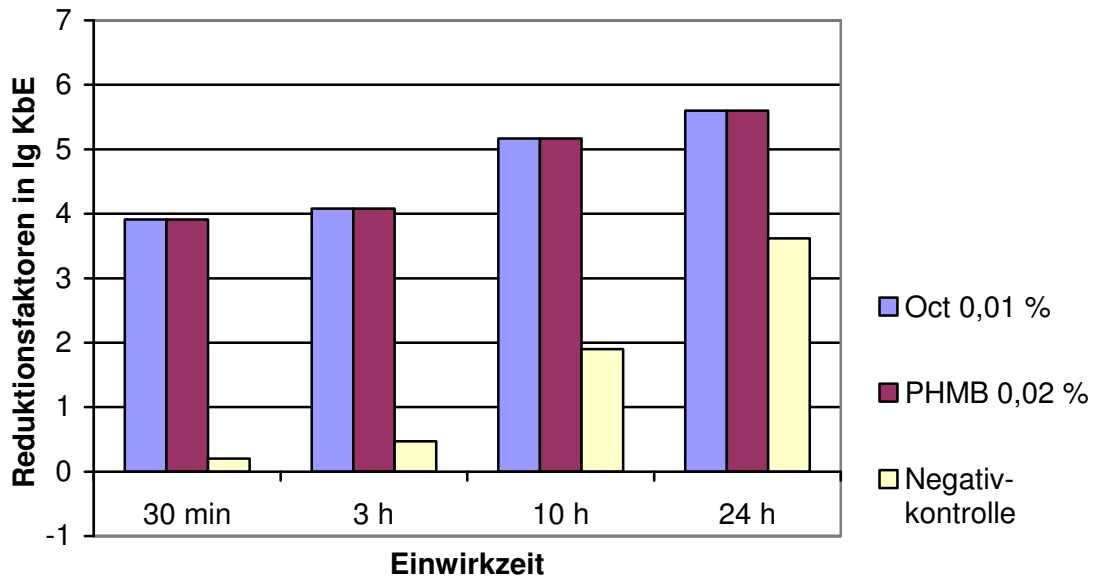


Abb. 4: Reduktionsfaktoren für *S. aureus* mit Belastung (MEM + 10 % FBS + 1 % Ery), grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 9

Wirksamkeit gegen *S. epidermidis*: Im Versuch ohne Belastung konnte für Oct 0,005 % nach 10 h, für Oct 0,02 % nach 3 h und für Oct 0,1 % nach 30 min ein $RF \geq 5$ beobachtet werden. Durch PHMB wurde der vorgegebene Reduktionsfaktor von mindestens 5 lg-Stufen dagegen nicht erreicht (Tab. 10, Abb. 5).

Tab. 10: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in lg-Stufen für *S. epidermidis* ohne Belastung (AKZ $8,8 \pm 0,12$ lg)

Prüfsubstanz	5 min (x)	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,1 %	$\geq 5,0 \pm 0,13^+$ n=7	$\geq 5,1 \pm 0,15^+$ n=3	$\geq 5,3 \pm 0,10^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,09^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,12^{++}$ n=3
Oct 0,05 %	$4,0 \pm 1,48^{\pm}$ n=6	$4,5 \pm 1,19^-$ n=4	$\geq 5,3 \pm 0,10^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,09^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,12^{++}$ n=3
Oct 0,02 %	$3,0 \pm 1,39^{--}$ n=4	$4,2 \pm 1,73^-$ n=4	$\geq 5,3 \pm 0,10^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,09^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,12^{++}$ n=3
Oct 0,01 %	$2,7 \pm 0,29^{--}$ n=3	$3,1 \pm 1,37^{--}$ n=6	$3,8 \pm 1,34^-$ n=6	$\geq 5,7 \pm 0,09^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,12^{++}$ n=3
Oct 0,005 %	$1,6 \pm 0,69^{--}$ n=4	$1,5 \pm 0,12^{--}$ n=3	$3,9 \pm 1,60^-$ n=6	$\geq 5,7 \pm 0,09^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,12^{++}$ n=3
PHMB 0,02 %	$0,2 \pm 0,20^{--}$ n=3	$0,4 \pm 0,29^{--}$ n=3	$0,6 \pm 0,12^{--}$ n=3	$0,9 \pm 0,06^{--}$ n=3	$1,1 \pm 0,32^{--}$ n=3
Negativ- kontrolle	$0,1 \pm 0,11^{--}$ n=4	$0,3 \pm 0,11^{--}$ n=4	$0,2 \pm 0,11^{--}$ n=4	$0,4 \pm 0,05^{--}$ n=3	$0,4 \pm 0,24^{--}$ n=3

(x): Die Rückgewinnungsrate in der Gelgrundsubstanz war < 5 lg

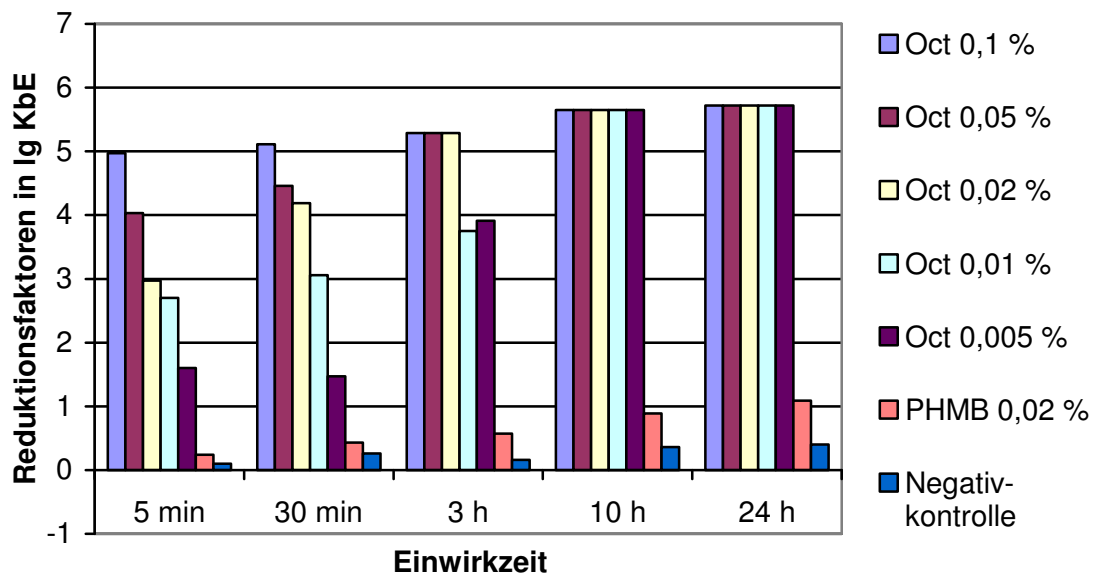


Abb. 5: Reduktionsfaktoren für *S. epidermidis* ohne Belastung, grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 10

Mit Belastung wurde für Oct 0,005 % nach 30 min, Oct 0,02 % nach 5 min und PHMB nach 10 h eine ausreichende Wirksamkeit bestätigt (Tab. 11, Abb. 6).

Tab. 11: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in Ig-Stufen für *S. epidermidis* mit Belastung (AKZ $8,3 \pm 0,25$ lg)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS	5 min	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,1 %	$\geq 4,4 \pm 0,22^{++}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,17^{++}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,16^{++}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,28^{++}$ n=3	$\geq 4,2 \pm 0,14^{++}$ n=3
Oct 0,05 %	$3,3 \pm 0,80^{\pm}$ n=4	$\geq 4,4 \pm 0,17^{++}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,16^{++}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,28^{++}$ n=3	$\geq 4,2 \pm 0,14^{++}$ n=3
Oct 0,02 %	$3,0 \pm 0,99^{-}$ n=4	$\geq 4,4 \pm 0,17^{++}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,16^{++}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,28^{++}$ n=3	$\geq 4,2 \pm 0,14^{++}$ n=3
Oct 0,01 %	$2,1 \pm 0,61^{--}$ n=4	$\geq 4,4 \pm 0,17^{++}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,16^{++}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,28^{++}$ n=3	$\geq 4,2 \pm 0,14^{++}$ n=3
Oct 0,005 %	$1,3 \pm 1,01^{--}$ n=4	$4,0 \pm 1,03^{+}$ n=6	$4,1 \pm 1,00^{+}$ n=6	$\geq 4,4 \pm 0,28^{++}$ n=3	$\geq 4,2 \pm 0,14^{++}$ n=3
PHMB 0,02 %	$0,6 \pm 0,34^{--}$ n=3	$2,0 \pm 0,66^{--}$ n=4	$2,4 \pm 0,40^{--}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,28^{++}$ n=3	$\geq 4,2 \pm 0,14^{++}$ n=3
Negativkontrolle	$0,0 \pm 0,04^{--}$ n=4	$0,0 \pm 0,03^{--}$ n=4	$-0,1 \pm 0,06^{--}$ n=4	$0,1 \pm 0,12^{--}$ n=3	$0,3 \pm 0,51^{--}$ n=3

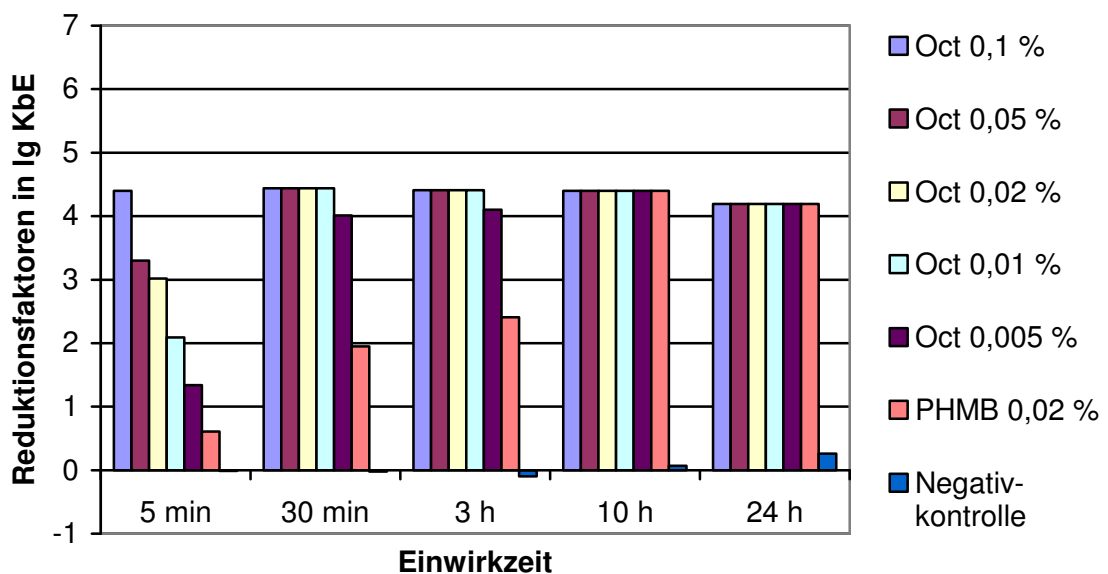


Abb. 6: Reduktionsfaktoren für *S. epidermidis* mit Belastung (MEM + 10 % FBS), grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 11

Mit Ery-Zusatz wurde durch Oct 0,01 % nach 30 min und durch PHMB nach 3 h eine Reduktion ≥ 3 Ig-Stufen nachgewiesen (Tab. 12, Abb. 7).

Tab. 12: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in Ig-Stufen für *S. epidermidis* mit Belastung zzgl. Ery (AKZ $8,3 \pm 0,03$ Ig)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS + 1 % Ery	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,01 %	$\geq 5,0 \pm 0,00^{++}$ n=2	$\geq 4,8 \pm 0,13^{++}$ n=2	$\geq 5,0 \pm 0,12^{++}$ n=2	$\geq 5,2 \pm 0,37^{++}$ n=2
PHMB 0,02 %	$1,4 \pm 0,25^{--}$ n=2	$3,0 \pm 1,51^{--}$ n=2	$\geq 5,0 \pm 0,12^{++}$ n=2	$\geq 5,2 \pm 0,37^{++}$ n=2
Negativkontrolle	$0,0 \pm 0,12^{--}$ n=2	$0,0 \pm 0,09^{--}$ n=2	$0,5 \pm 0,23^{--}$ n=2	$3,2 \pm 0,08^{++}$ n=2

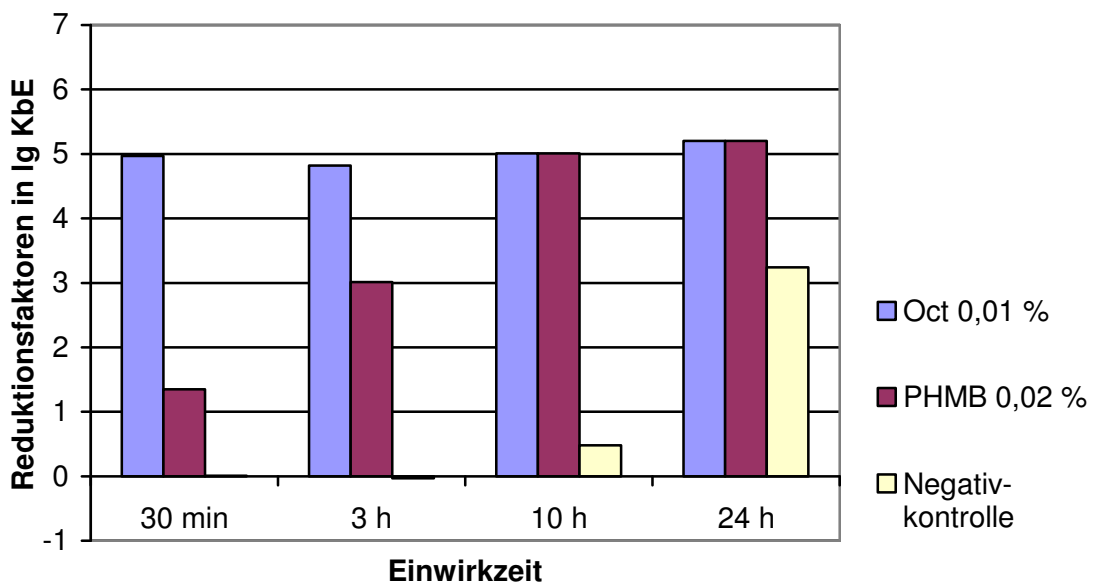


Abb. 7: Reduktionsfaktoren für *S. epidermidis* mit Belastung (MEM + 10 % FBS + 1 % Ery), grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 12

Wirksamkeit gegen *E. faecium*: Der Erreger erreichte keine genügend hohe AKZ in der Suspension. Die Suspensionen wurden daher vor Versuchsbeginn zentrifugiert.

Gegen *E. faecium* konnte im Modell ohne Belastung für Oct 0,02 % nach 24 h und für Oct 0,05 % nach 10 h eine Reduktion ≥ 5 Ig-Stufen dargestellt werden. Für PHMB wurde die notwendige Reduktion nicht beobachtet (Tab. 13, Abb. 8).

Tab. 13: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in Ig-Stufen für *E. faecium* ohne Belastung (AKZ $9,5 \pm 0,11$ Ig)

Prüfsubstanz	5 min	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,1 %	$1,5 \pm 0,50^{\text{--}}$ n=4	$2,1 \pm 0,37^{\text{--}}$ n=3	$4,7 \pm 0,94^{\pm}$ n=6	$\geq 5,6 \pm 0,06^{++}$ n=3	$\geq 5,5 \pm 0,12^{++}$ n=3
Oct 0,05 %	$1,4 \pm 0,28^{\text{--}}$ n=3	$2,3 \pm 0,32^{\text{--}}$ n=3	$3,4 \pm 1,78^{\text{--}}$ n=6	$\geq 5,6 \pm 0,06^{++}$ n=3	$\geq 5,5 \pm 0,12^{++}$ n=3
Oct 0,02 %	$1,4 \pm 0,20^{\text{--}}$ n=3	$1,8 \pm 0,32^{\text{--}}$ n=3	$2,3 \pm 0,92^{\text{--}}$ n=4	$4,2 \pm 1,55^{\pm}$ n=6	$\geq 5,5 \pm 0,12^{++}$ n=3
Oct 0,01 %	$0,7 \pm 0,33^{\text{--}}$ n=3	$1,3 \pm 0,76^{\text{--}}$ n=4	$2,8 \pm 1,82^{\text{--}}$ n=4	$3,6 \pm 1,37^{\text{--}}$ n=4	$4,4 \pm 1,66^{+}$ n=6
Oct 0,005 %	$0,5 \pm 0,27^{\text{--}}$ n=3	$0,7 \pm 0,33^{\text{--}}$ n=3	$1,4 \pm 0,74^{\text{--}}$ n=4	$1,3 \pm 0,31^{\text{--}}$ n=3	$2,9 \pm 1,81^{\text{--}}$ n=4
PHMB 0,02 %	$0,3 \pm 0,08^{\text{--}}$ n=3	$0,4 \pm 0,20^{\text{--}}$ n=3	$0,4 \pm 0,10^{\text{--}}$ n=3	$0,2 \pm 0,11^{\text{--}}$ n=3	$0,1 \pm 0,08^{\text{--}}$ n=3
Negativ- kontrolle	$0,2 \pm 0,10^{\text{--}}$ n=4	$-0,3 \pm 0,23^{\text{--}}$ n=4	$-0,2 \pm 0,18^{\text{--}}$ n=4	$-0,2 \pm 0,11^{\text{--}}$ n=4	$0,0 \pm 0,28^{\text{--}}$ n=4

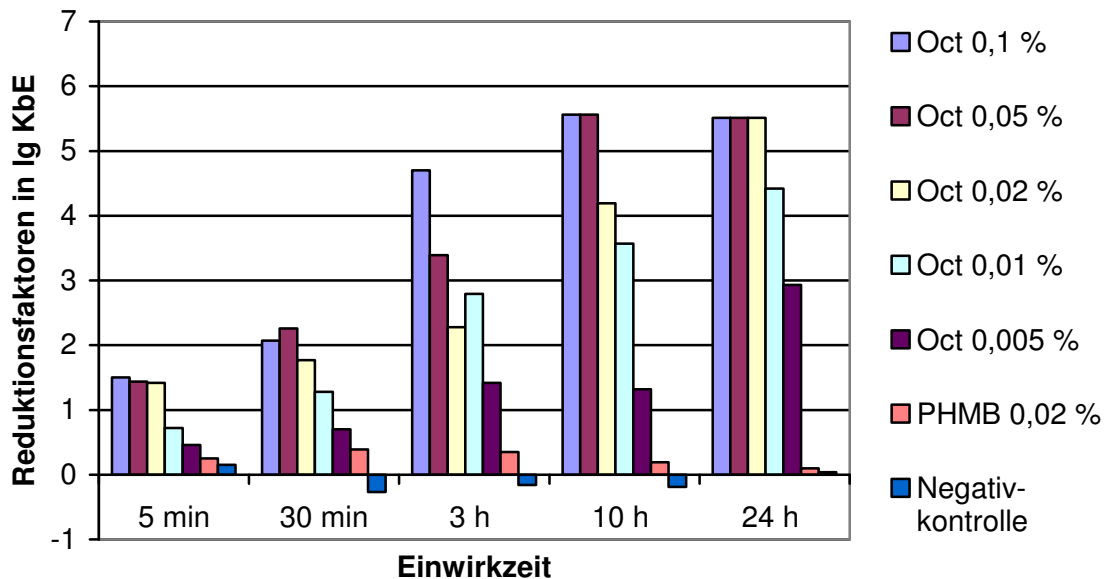


Abb. 8: Reduktionsfaktoren für *E. faecium* ohne Belastung, grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 13

Im Versuch mit Belastung wurde durch Oct 0,005 % nach 10 h und durch Oct 0,01 % nach 30 min ein RF ≥ 3 ermittelt. PHMB war nicht ausreichend wirksam (Tab. 14, Abb. 9).

Tab. 14: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in Ig-Stufen für *E. faecium* mit Belastung (AKZ $8,4 \pm 0,34$ lg)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS	5 min	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,1 %	$2,5 \pm 0,52^{\text{--}}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,39^{\text{++}}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,20^{\text{++}}$ n=3	$\geq 4,5 \pm 0,28^{\text{++}}$ n=3	$\geq 4,3 \pm 0,18^{\text{++}}$ n=3
Oct 0,05 %	$2,4 \pm 1,22^{\text{--}}$ n=4	$\geq 4,4 \pm 0,39^{\text{++}}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,20^{\text{++}}$ n=3	$\geq 4,5 \pm 0,28^{\text{++}}$ n=3	$\geq 4,3 \pm 0,18^{\text{++}}$ n=3
Oct 0,02 %	$2,3 \pm 0,32^{\text{--}}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,39^{\text{++}}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,20^{\text{++}}$ n=3	$\geq 4,5 \pm 0,28^{\text{++}}$ n=3	$\geq 4,3 \pm 0,18^{\text{++}}$ n=3
Oct 0,01 %	$1,3 \pm 0,65^{\text{--}}$ n=4	$3,5 \pm 0,44^{\text{++}}$ n=3	$\geq 4,4 \pm 0,20^{\text{++}}$ n=3	$\geq 4,5 \pm 0,28^{\text{++}}$ n=3	$\geq 4,3 \pm 0,18^{\text{++}}$ n=3
Oct 0,005 %	$0,9 \pm 0,57^{\text{--}}$ n=4	$1,5 \pm 0,54^{\text{--}}$ n=4	$2,5 \pm 1,20^{\text{--}}$ n=4	$\geq 4,5 \pm 0,28^{\text{++}}$ n=3	$\geq 4,3 \pm 0,18^{\text{++}}$ n=3
PHMB 0,02 %	$0,5 \pm 0,22^{\text{--}}$ n=3	$1,1 \pm 0,27^{\text{--}}$ n=3	$1,1 \pm 0,42^{\text{--}}$ n=3	$1,0 \pm 0,85^{\text{--}}$ n=4	$1,6 \pm 0,50^{\text{--}}$ n=3
Negativkontrolle	$0,0 \pm 0,10^{\text{--}}$ n=4	$0,2 \pm 0,27^{\text{--}}$ n=4	$0,4 \pm 0,20^{\text{--}}$ n=4	$1,2 \pm 0,85^{\text{--}}$ n=4	$1,5 \pm 1,33^{\text{--}}$ n=4

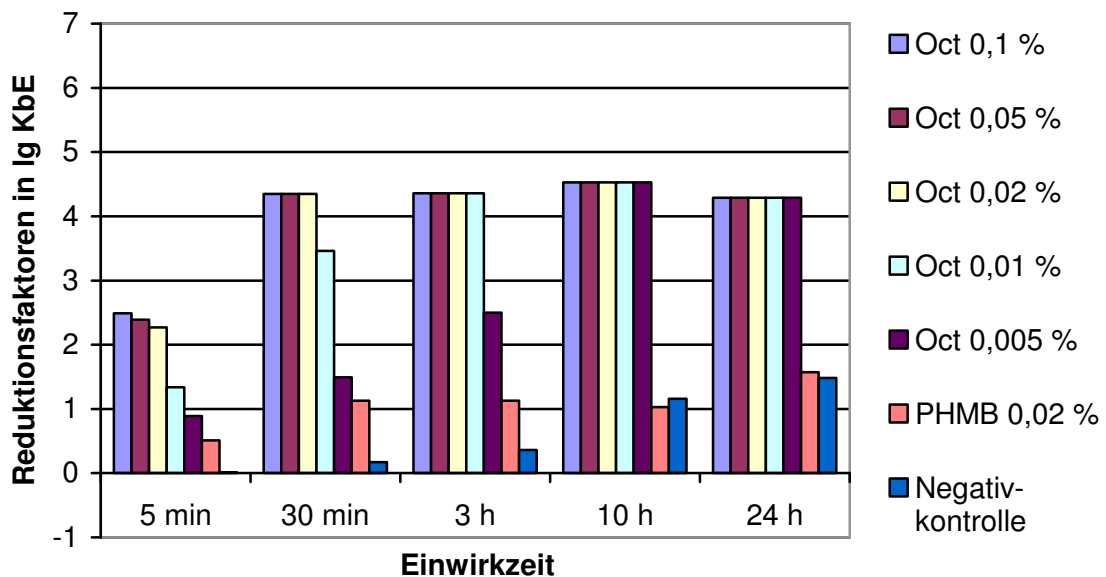


Abb. 9: Reduktionsfaktoren für *E. faecium* mit Belastung (MEM + 10 % FBS), grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 14

Im Modell mit Belastung und 1 % Ery konnte für 0,01 % Oct nach 3 h eine ausreichende Wirksamkeit ermittelt werden, für PHMB dagegen auch nicht nach der längsten getesteten Einwirkzeit von 24 h (Tab. 15, Abb. 10).

Tab. 15: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in Ig-Stufen für *E. faecium* mit Belastung zzgl. Ery (AKZ $8,0 \pm 0,23$ Ig)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS + 1 % Ery	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,01 %	$2,6 \pm 1,31^-$ n=4	$4,1 \pm 0,50^{++}$ n=2	$\geq 4,6 \pm 0,10^{++}$ n=2	$\geq 4,9 \pm 0,12^{++}$ n=2
PHMB 0,02 %	$1,0 \pm 0,37^-$ n=2	$0,8 \pm 0,33^-$ n=2	$1,2 \pm 0,39^-$ n=2	$1,2 \pm 0,59^-$ n=2
Negativ- kontrolle	$0,3 \pm 0,32^-$ n=2	$0,2 \pm 0,29^-$ n=2	$0,7 \pm 0,50^-$ n=2	$3,4 \pm 1,90^\pm$ n=2

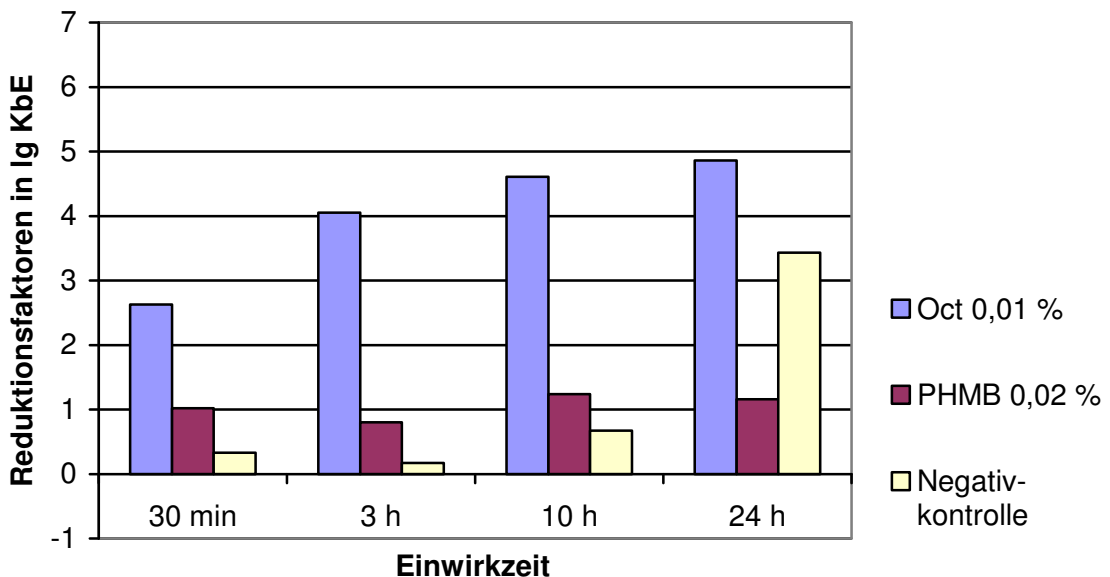


Abb. 10: Reduktionsfaktoren für *E. faecium* mit Belastung (MEM + 10 % FBS + 1 % Ery), grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 15

Wirksamkeit gegen *P. aeruginosa*: Im Versuch ohne Belastung war für Oct 0,005 % nach 24 h und für Oct 0,01 % nach 10 h die notwendige Reduktion ≥ 5 Ig-Stufen darstellbar. PHMB war nicht ausreichend wirksam (Tab. 16, Abb. 11).

Tab. 16: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in lg-Stufen für *P. aeruginosa* ohne Belastung (AKZ $8,8 \pm 0,23$ lg)

Prüfsubstanz	5 min (x)	30 min (x)	3 h (x)	10 h	24 h
Oct 0,1 %	$1,0 \pm 0,43^{\text{--}}$ n=4	$\geq 4,8 \pm 0,39^{\text{--}}$ n=3	$\geq 4,8 \pm 0,36^{\text{+}}$ n=3	$\geq 5,5 \pm 0,19^{\text{++}}$ n=3	$\geq 6,2 \pm 0,08^{\text{++}}$ n=3
Oct 0,05 %	$2,1 \pm 1,06^{\text{--}}$ n=4	$\geq 4,8 \pm 0,39^{\text{--}}$ n=3	$\geq 4,8 \pm 0,36^{\text{+}}$ n=3	$\geq 5,5 \pm 0,19^{\text{++}}$ n=3	$\geq 6,2 \pm 0,08^{\text{++}}$ n=3
Oct 0,02 %	$1,5 \pm 0,19^{\text{--}}$ n=3	$2,9 \pm 1,03^{\text{--}}$ n=4	$\geq 4,8 \pm 0,36^{\text{+}}$ n=3	$\geq 5,5 \pm 0,19^{\text{++}}$ n=3	$\geq 6,2 \pm 0,08^{\text{++}}$ n=3
Oct 0,01 %	$0,7 \pm 0,33^{\text{--}}$ n=3	$2,6 \pm 1,25^{\text{--}}$ n=4	$3,9 \pm 1,01^{\text{--}}$ n=4	$\geq 5,5 \pm 0,19^{\text{++}}$ n=3	$\geq 6,2 \pm 0,08^{\text{++}}$ n=3
Oct 0,005 %	$0,4 \pm 0,13^{\text{--}}$ n=3	$1,2 \pm 0,42^{\text{--}}$ n=3	$3,1 \pm 1,18^{\text{--}}$ n=4	$4,7 \pm 1,10^{\text{+}}$ n=6	$5,8 \pm 0,80^{\text{+}}$ n=4
PHMB 0,02 %	$0,4 \pm 0,64^{\text{--}}$ n=4	$0,2 \pm 0,30^{\text{--}}$ n=3	$1,2 \pm 0,83^{\text{--}}$ n=4	$1,5 \pm 0,37^{\text{--}}$ n=3	$1,4 \pm 0,63^{\text{--}}$ n=4
Negativ- kontrolle	$0,0 \pm 0,40^{\text{--}}$ n=4	$-0,1 \pm 0,28^{\text{--}}$ n=4	$-0,2 \pm 0,16^{\text{--}}$ n=4	$0,9 \pm 0,52^{\text{--}}$ n=3	$3,3 \pm 2,02^{\text{--}}$ n=4

(x): Die Rückgewinnungsrate in der Gelgrundsubstanz war < 5 lg

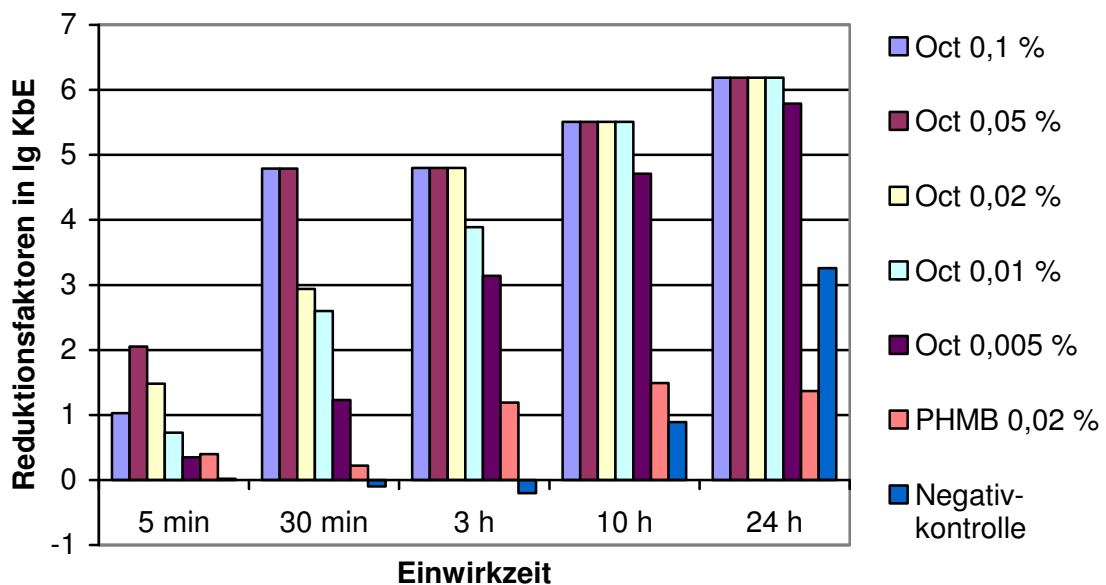


Abb. 11: Reduktionsfaktoren für *P. aeruginosa* ohne Belastung, grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 16

Da die Rückgewinnung auch bei *P. aeruginosa* bis 3 h nicht ausreichte, um eine Reduktion ≥ 5 lg-Stufen darzustellen, wurde der Versuch teilweise mit einer erhöhten

AKZ wiederholt. Hierbei war für Oct bis einschließlich 10 h keine ausreichende Wirksamkeit zu beobachten (Tab. 17, Abb. 12).

Tab. 17: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in lg-Stufen für *P. aeruginosa* ohne Belastung bei erhöhter AKZ (AKZ $10,3 \pm 0,43$ lg)

Prüfsubstanz	30 min	3 h	10 h
Oct 0,1 %	$1,1 \pm 0,55$ n=3	$2,3 \pm 1,30$ n=5	$2,9 \pm 2,08$ n=5
Oct 0,05 %	$0,8 \pm 0,56$ n=4	$1,9 \pm 0,66$ n=4	$2,6 \pm 2,30$ n=5
Oct 0,02 %	-	$1,1 \pm 0,13$ n=3	$1,5 \pm 0,06$ n=3
Oct 0,01 %	-	-	$1,0 \pm 0,09$ n=3
Oct 0,005 %	-	-	$0,7 \pm 0,14$ n=3

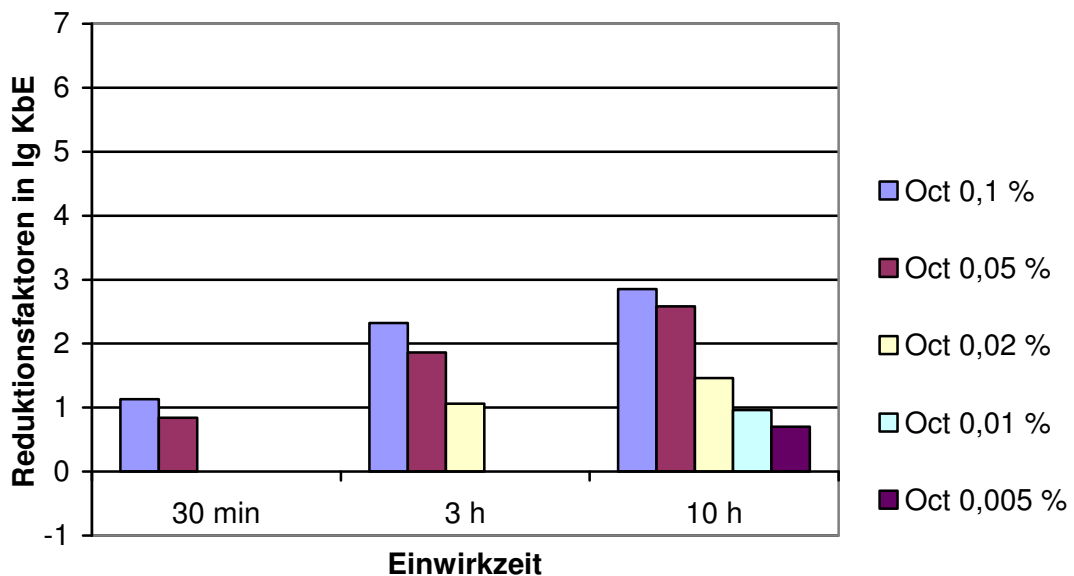


Abb. 12: Reduktionsfaktoren für *P. aeruginosa* ohne Belastung mit erhöhter AKZ, grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 17

Mit Belastung war Oct 0,005 % nach 3 h, Oct 0,01 % nach 30 min und PHMB nach 3 h ausreichend wirksam (Tab. 18, Abb. 13).

Tab. 18: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in Ig-Stufen für *P. aeruginosa* mit Belastung (AKZ $8,2 \pm 0,52$ Ig)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS	5 min	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,1 %	$1,1 \pm 1,04^{--}$ n=4	$\geq 3,8 \pm 0,28^{++}$ n=3	$\geq 3,8 \pm 0,19^{++}$ n=3	$\geq 4,2 \pm 0,13^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,09^{++}$ n=3
Oct 0,05 %	$1,5 \pm 0,08^{--}$ n=3	$\geq 3,8 \pm 0,28^{++}$ n=3	$\geq 3,8 \pm 0,19^{++}$ n=3	$\geq 4,2 \pm 0,13^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,09^{++}$ n=3
Oct 0,02 %	$1,6 \pm 0,12^{--}$ n=3	$\geq 3,8 \pm 0,28^{++}$ n=3	$\geq 3,8 \pm 0,19^{++}$ n=3	$\geq 4,2 \pm 0,13^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,09^{++}$ n=3
Oct 0,01 %	$0,8 \pm 0,22^{--}$ n=3	$3,0 \pm 0,71^{+}$ n=6	$\geq 3,8 \pm 0,19^{++}$ n=3	$\geq 4,2 \pm 0,13^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,09^{++}$ n=3
Oct 0,005 %	$0,9 \pm 0,50^{--}$ n=4	$2,1 \pm 1,10^{-}$ n=6	$\geq 3,8 \pm 0,19^{++}$ n=3	$\geq 4,2 \pm 0,13^{++}$ n=3	$\geq 5,7 \pm 0,09^{++}$ n=3
PHMB 0,02 %	$0,5 \pm 0,81^{--}$ n=4	$0,9 \pm 0,14^{-}$ n=3	$3,0 \pm 1,12^{+}$ n=5	$3,2 \pm 1,78^{+}$ n=4	$3,8 \pm 2,14^{+}$ n=5
Negativkontrolle	$0,0 \pm 0,35^{--}$ n=4	$0,3 \pm 0,41^{--}$ n=4	$1,1 \pm 0,22^{--}$ n=4	$2,8 \pm 0,77^{\pm}$ n=4	$5,4 \pm 0,68^{++}$ n=4

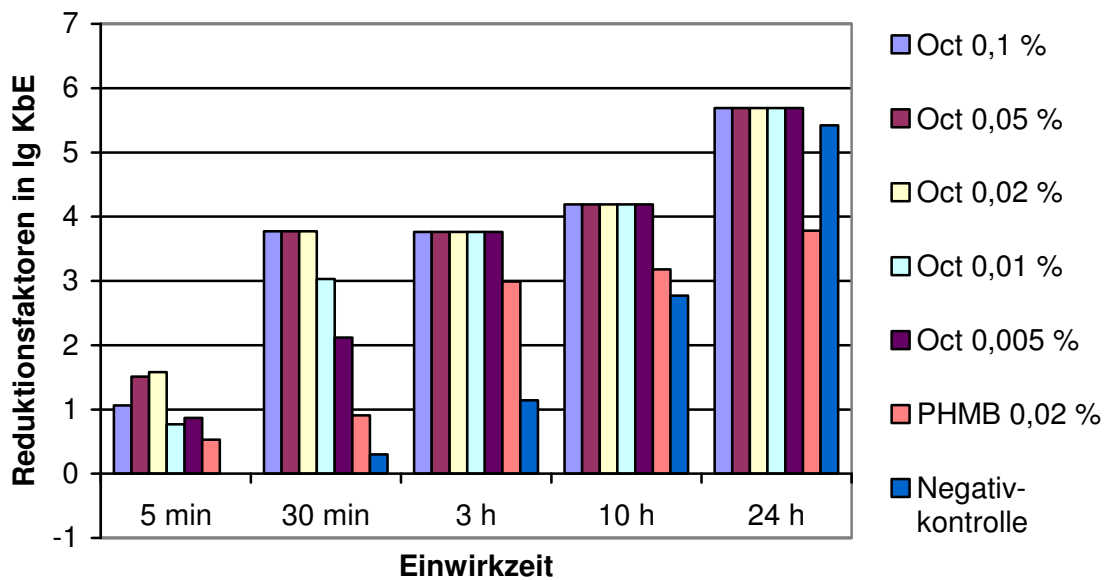


Abb. 13: Reduktionsfaktoren für *P. aeruginosa* mit Belastung (MEM + 10 % FBS), grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 18

Mit Ery-Zusatz war für beide Wirkstoffe nach 10 h eine ausreichende Reduktion nachweisbar (Tab. 19, Abb. 14).

Tab. 19: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in Ig-Stufen für *P. aeruginosa* (getrocknet) mit Belastung zzgl. Ery (AKZ $8,5 \pm 0,73$ Ig)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS + 1 % Ery getrocknet	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,01 %	$1,3 \pm 0,88^{\text{--}}$ n=3	$\geq 2,5 \pm 0,13^{\text{--}}$ n=3	$\geq 3,2 \pm 0,72^{\text{+}}$ n=3	$\geq 5,6 \pm 0,48^{\text{++}}$ n=3
PHMB 0,02 %	$0,7 \pm 1,45^{\text{--}}$ n=3	$\geq 2,5 \pm 0,13^{\text{--}}$ n=3	$\geq 3,2 \pm 0,72^{\text{+}}$ n=3	$\geq 5,6 \pm 0,48^{\text{++}}$ n=3
Negativkontrolle	$1,7 \pm 1,90^{\text{-}}$ n=3	$2,1 \pm 0,61^{\text{--}}$ n=3	$2,7 \pm 0,59^{\text{-}}$ n=3	$\geq 5,6 \pm 0,48^{\text{++}}$ n=3

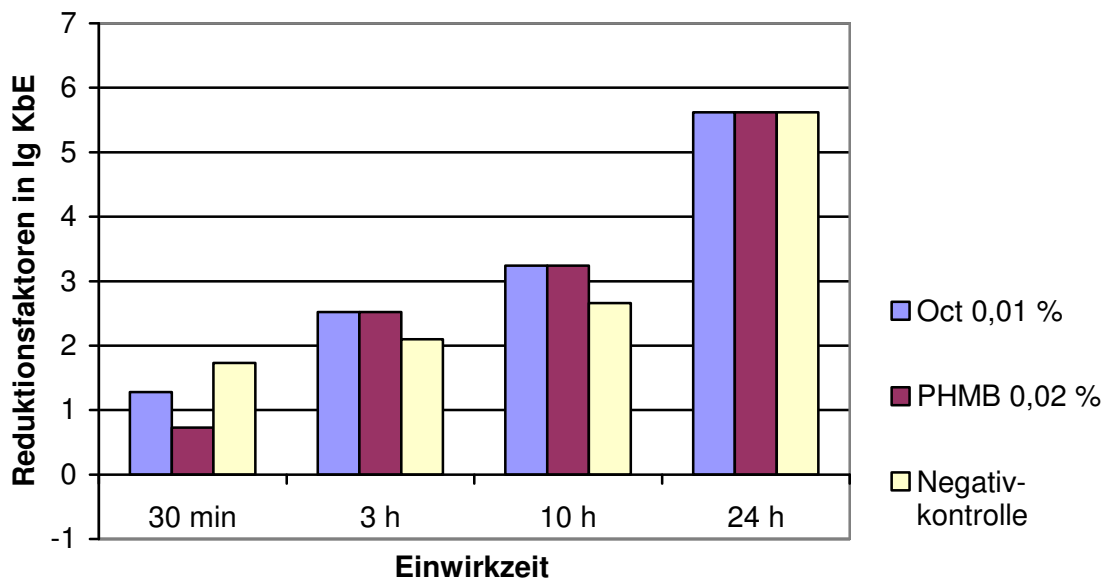


Abb. 14: Reduktionsfaktoren für *P. aeruginosa* (getrocknet) mit Belastung (MEM + 10 % FBS + 1 % Ery), grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 19

Der Versuch mit Ery-Zusatz wurde außerdem mit verkürzter Trocknungszeit der Erregersuspension auf Metall durchgeführt, da es auch ohne antiseptische Behandlung zu einer starken Abnahme der Erreger kam bzw. nur ein geringer Anteil der Erreger auf dem Vergleichsplättchen mit der Gelgrundsubstanz (Placebo) zurückgewonnen werden konnte (Tab. 4).

Im Versuch mit feuchter Erregersuspension war für Oct 0,01 % nach 24 h ein RF ≥ 3 ermittelbar, für PHMB dagegen zu keinem Zeitpunkt (Tab. 20, Abb. 15).

Tab. 20: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in Ig-Stufen für *P. aeruginosa* (feucht) mit Belastung zzgl. Ery (AKZ $9,6 \pm 0,11$ lg)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS + 1 % Ery feucht	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,01 %	$1,5 \pm 0,11^{--}$ n=2	$3,1 \pm 0,18^{\pm}$ n=2	$2,9 \pm 0,29^{--}$ n=5	$3,6 \pm 1,95^{+}$ n=4
PHMB 0,02 %	$0,9 \pm 0,16^{--}$ n=2	$1,5 \pm 0,11^{--}$ n=2	$1,6 \pm 0,27^{--}$ n=2	$0,9 \pm 0,02^{--}$ n=2
Negativ- kontrolle	$-0,1 \pm 0,07^{--}$ n=2	$0,1 \pm 0,06^{--}$ n=2	$0,3 \pm 0,00^{--}$ n=2	$1,3 \pm 0,06^{--}$ n=2

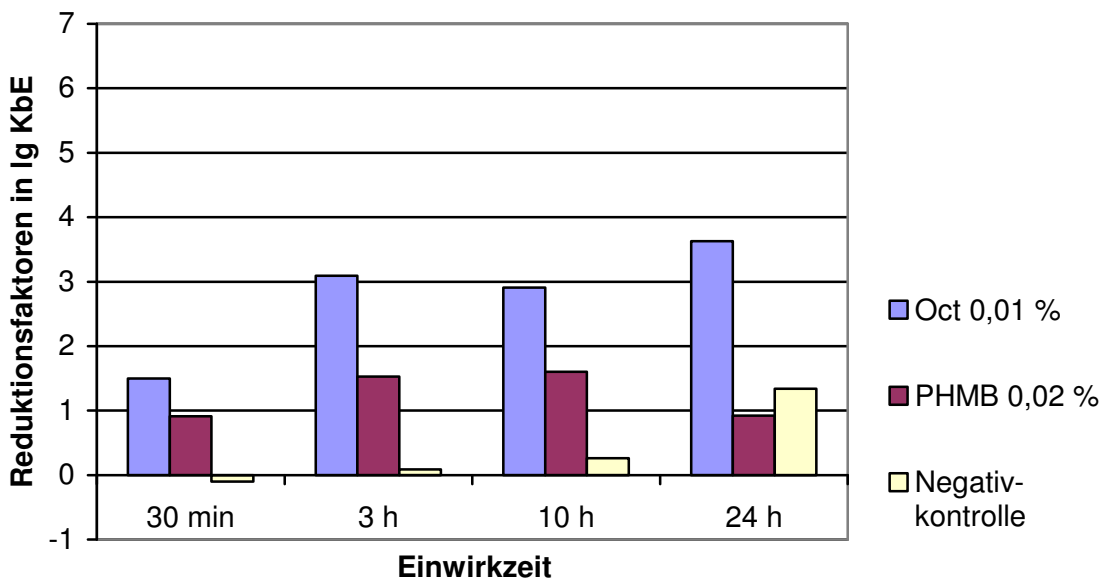


Abb. 15: Reduktionsfaktoren für *P. aeruginosa* (feucht) mit Belastung (MEM + 10 % FBS + 1 % Ery), grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 20

Der Versuch mit vorher unvollständig angetrockneter (halb trockener) Erregersuspension ergab für Oct 0,01 % nach 10 h einen RF ≥ 3 . Die Reduktion durch PHMB war zu niedrig, um die Kriterien für ein Antiseptikum zu erfüllen (Tab. 21, Abb. 16).

Tab. 21: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in Ig-Stufen für *P. aeruginosa* (halb trocken) mit Belastung zzgl. Ery (AKZ $9,5 \pm 0,20$ lg)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS + 1 % Ery halb trocken	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,01 %	$0,3 \pm 0,59^{--}$ n=2	$1,8 \pm 0,21^{--}$ n=2	$5,2 \pm 1,82^{+}$ n=6	$5,7 \pm 1,78^{+}$ n=6
PHMB 0,02 %	$0,1 \pm 0,71^{--}$ n=2	$1,4 \pm 0,05^{--}$ n=2	$1,7 \pm 0,07^{--}$ n=2	$1,6 \pm 0,40^{--}$ n=2
Negativkontrolle	$1,0 \pm 0,90^{--}$ n=2	$0,7 \pm 0,20^{--}$ n=2	$2,3 \pm 0,06^{--}$ n=2	$6,2 \pm 0,00^{++}$ n=2

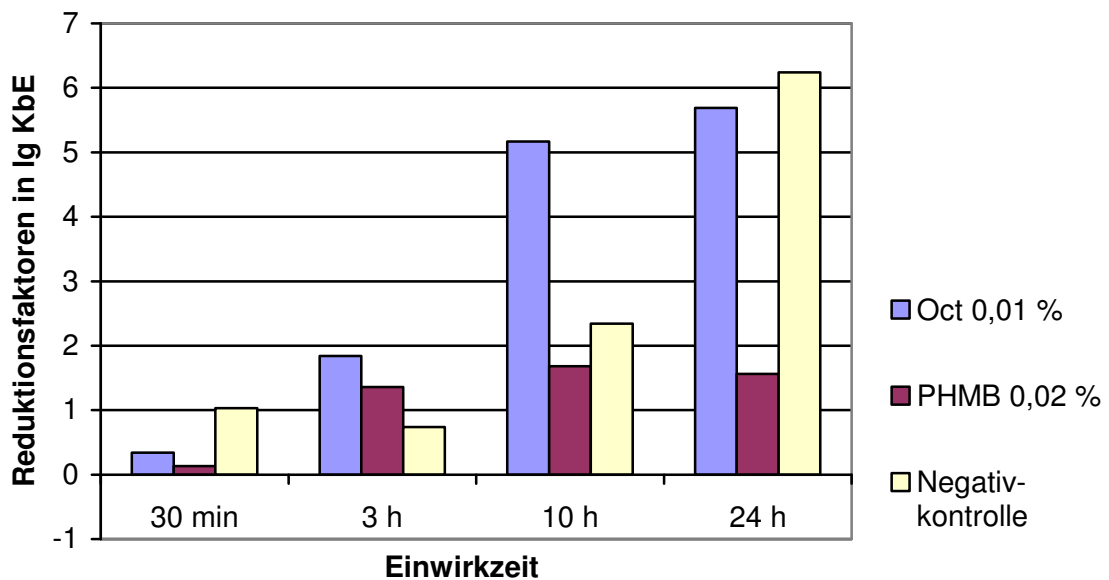


Abb. 16: Reduktionsfaktoren für *P. aeruginosa* (halb trocken) mit Belastung (MEM + 10 % FBS + 1 % Ery), grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 21

Wirksamkeit gegen *S. marcescens*: *S. marcescens* konnte im Versuch ohne Belastung durch Oct 0,1 % nach 10 h genügend (≥ 5 Ig-Stufen), durch PHMB dagegen auch nach 24 h nicht ausreichend reduziert werden (Tab. 22, Abb. 17).

Tab. 22: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in lg-Stufen für *S. marcescens* ohne Belastung (AKZ $9,7 \pm 0,19$ lg)

Prüfsubstanz	5 min	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,1 %	$0,7 \pm 0,52^{\text{--}}$ n=3	$2,1 \pm 0,81^{\text{--}}$ n=4	$2,2 \pm 0,32^{\text{--}}$ n=3	$5,8 \pm 1,96^{\text{+}}$ n=4	$6,2 \pm 1,97^{\text{+}}$ n=4
Oct 0,05 %	$0,4 \pm 0,18^{\text{--}}$ n=3	$1,3 \pm 0,26^{\text{--}}$ n=3	$2,0 \pm 0,93^{\text{--}}$ n=4	$2,0 \pm 0,42^{\text{--}}$ n=3	$3,2 \pm 1,48^{\text{--}}$ n=4
Oct 0,02 %	$0,3 \pm 0,20^{\text{--}}$ n=3	$1,3 \pm 0,40^{\text{--}}$ n=3	$1,0 \pm 0,46^{\text{--}}$ n=3	$1,9 \pm 0,45^{\text{--}}$ n=3	$1,4 \pm 0,31^{\text{--}}$ n=3
Oct 0,01 %	$-0,1 \pm 0,19^{\text{--}}$ n=3	$0,9 \pm 0,37^{\text{--}}$ n=3	$0,9 \pm 0,44^{\text{--}}$ n=3	$1,2 \pm 0,21^{\text{--}}$ n=3	$1,4 \pm 0,39^{\text{--}}$ n=3
Oct 0,005 %	$0,0 \pm 0,06^{\text{--}}$ n=3	$0,6 \pm 0,16^{\text{--}}$ n=3	$0,5 \pm 0,24^{\text{--}}$ n=3	$0,9 \pm 0,20^{\text{--}}$ n=3	$0,8 \pm 0,10^{\text{--}}$ n=3
PHMB 0,02 %	$-0,1 \pm 0,08^{\text{--}}$ n=3	$0,5 \pm 0,39^{\text{--}}$ n=3	$0,3 \pm 0,17^{\text{--}}$ n=3	$0,7 \pm 0,22^{\text{--}}$ n=3	$0,7 \pm 0,05^{\text{--}}$ n=3
Negativ- kontrolle	$0,0 \pm 0,13^{\text{--}}$ n=3	$0,3 \pm 0,16^{\text{--}}$ n=4	$0,5 \pm 0,31^{\text{--}}$ n=4	$2,9 \pm 0,82^{\text{--}}$ n=4	$3,8 \pm 1,10^{\text{--}}$ n=4

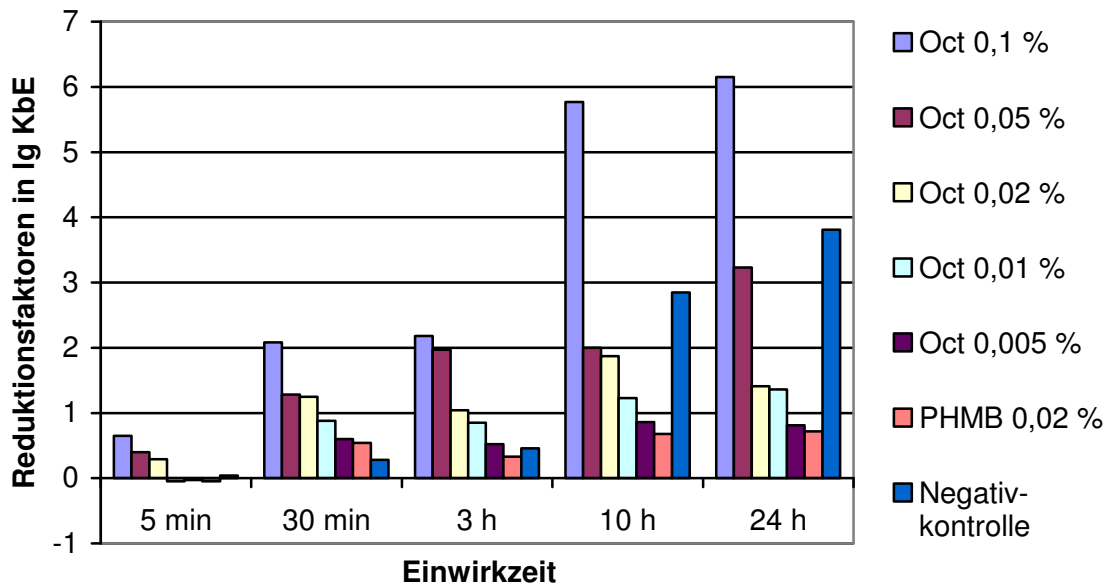


Abb. 17: Reduktionsfaktoren für *S. marcescens* ohne Belastung, grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 22

Mit Belastung wurde eine ausreichende Wirkung (≥ 3 lg-Stufen) von Oct 0,005 % nach 3 h, von Oct 0,01 % nach 30 min und von PHMB nach 10 h ermittelt (Tab. 23, Abb. 18).

Tab. 23: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in Ig-Stufen für *S. marcescens* mit Belastung (AKZ $8,9 \pm 0,13$ Ig)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS	5 min	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,1 %	$2,0 \pm 1,55^-$ n=6	$\geq 3,9 \pm 0,18^{++}$ n=3	$\geq 3,4 \pm 0,22^{++}$ n=3	$\geq 4,5 \pm 0,12^{++}$ n=3	$\geq 6,1 \pm 0,10^{++}$ n=3
Oct 0,05 %	$1,2 \pm 1,88^-$ n=4	$\geq 3,9 \pm 0,18^{++}$ n=3	$\geq 3,4 \pm 0,22^{++}$ n=3	$\geq 4,5 \pm 0,12^{++}$ n=3	$\geq 6,1 \pm 0,10^{++}$ n=3
Oct 0,02 %	$0,3 \pm 0,54^-$ n=3	$\geq 3,9 \pm 0,18^{++}$ n=3	$\geq 3,4 \pm 0,22^{++}$ n=3	$\geq 4,5 \pm 0,12^{++}$ n=3	$\geq 6,1 \pm 0,10^{++}$ n=3
Oct 0,01 %	$-0,3 \pm 0,20^-$ n=3	$3,0 \pm 1,33^+$ n=4	$\geq 3,4 \pm 0,22^{++}$ n=3	$\geq 4,5 \pm 0,12^{++}$ n=3	$5,7 \pm 0,99^{++}$ n=4
Oct 0,005 %	$-0,5 \pm 0,36^-$ n=3	$1,5 \pm 0,75^-$ n=4	$3,0 \pm 0,80^+$ n=6	$\geq 4,5 \pm 0,12^{++}$ n=3	$5,8 \pm 0,79^{++}$ n=4
PHMB 0,02 %	$-0,5 \pm 0,38^-$ n=3	$0,7 \pm 0,45^-$ n=4	$2,6 \pm 1,07^-$ n=5	$\geq 4,5 \pm 0,12^{++}$ n=3	$5,0 \pm 1,79^+$ n=5
Negativkontrolle	$-0,2 \pm 0,39^-$ n=4	$0,1 \pm 0,74^-$ n=4	$0,1 \pm 0,54^-$ n=4	$1,9 \pm 0,02^-$ n=3	$4,7 \pm 1,69^{++}$ n=4

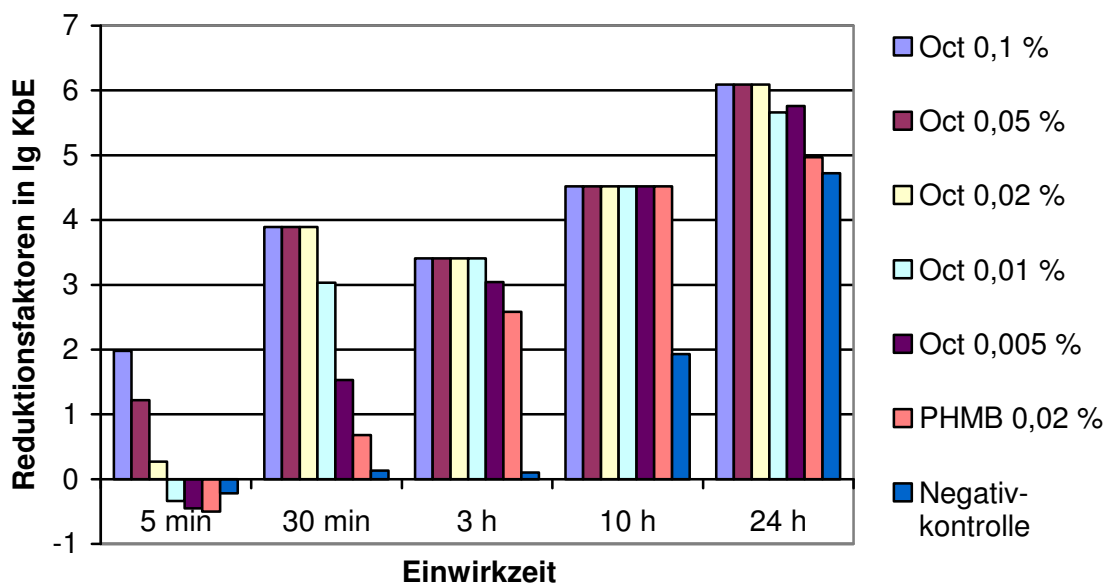


Abb. 18: Reduktionsfaktoren für *S. marcescens* mit Belastung (MEM + 10 % FBS), grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 23

Mit Ery-Zusatz konnte für Oct 0,01 % nach 3 h und für PHMB 0,02 % nach 10 h ein RF ≥ 3 beobachtet werden (Tab. 24, Abb. 19).

Tab. 24: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in Ig-Stufen für *S. marcescens* mit Belastung zzgl. Ery (AKZ $9,0 \pm 0,00$ lg)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS + 1 % Ery	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,01 %	$1,9 \pm 0,05^{--}$ n=2	$\geq 3,5 \pm 0,60^{++}$ n=2	$\geq 4,8 \pm 0,31^{++}$ n=2	$\geq 5,1 \pm 1,52^{++}$ n=2
PHMB 0,02 %	$0,4 \pm 0,20^{--}$ n=2	$1,8 \pm 0,07^{--}$ n=2	$\geq 4,8 \pm 0,31^{++}$ n=2	$\geq 5,1 \pm 1,52^{++}$ n=2
Negativkontrolle	$1,3 \pm 0,40^{--}$ n=2	$1,8 \pm 0,74^{--}$ n=2	$\geq 4,8 \pm 0,31^{++}$ n=2	$\geq 5,1 \pm 1,52^{++}$ n=2

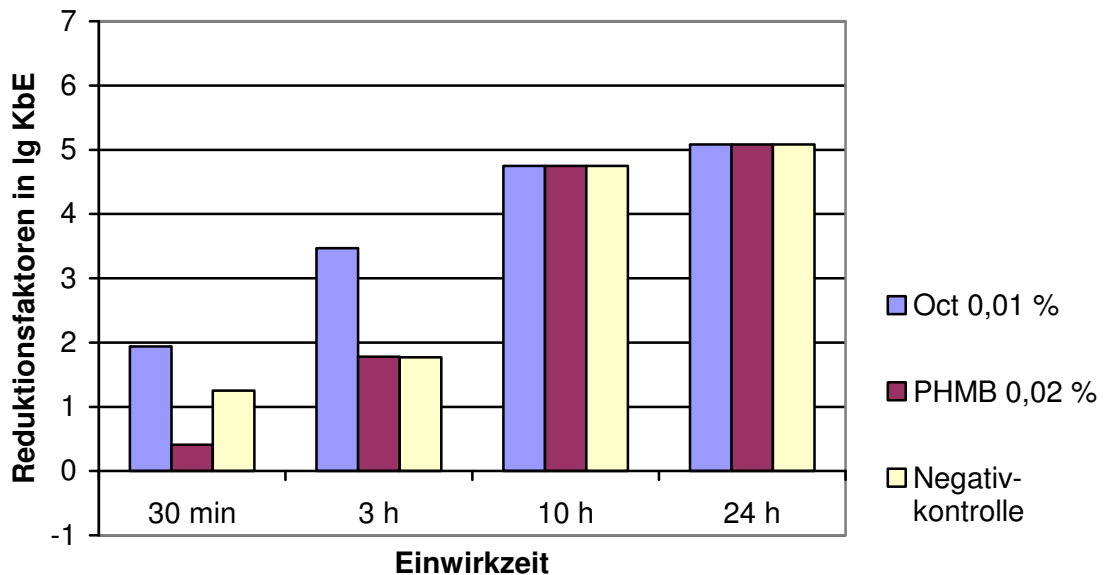


Abb. 19: Reduktionsfaktoren für *S. marcescens* mit Belastung (MEM + 10 % FBS + 1 % Ery), grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 24

Die Abnahme der Erregerrückgewinnung vom Objektträger ohne Gel war nicht auf eine Veränderung der Erregerzahl in der Suspension (CSL, MEM + 10 % FBS) bei Zimmertemperatur zurückzuführen (Tab. 25).

Tab. 25: Darstellung der Veränderung der AKZ bei Zimmertemperatur angegeben als RF in lg-Stufen zur AKZ-0 (zu Versuchsbeginn) für *S. marcescens*

Belastung/Zeit	3 h	10 h	24 h
CSL	0,0	0,0	-0,2
MEM + 10 % FBS	0,0	-0,1	-0,3

Wirksamkeit gegen *C. albicans*: Die Hefe konnte sich in der Suspension innerhalb 24 h nicht genügend vermehren. Die Einstellung der Suspension erfolgte daher für alle Versuche durch Abschwemmen von 3 über 24 h bebrüteten Blutagarplatten mit 10 ml der jeweiligen Nährlösung direkt vor Versuchsbeginn.

Im Versuch ohne Belastung wurde für 0,05 % Oct nach 24 h eine Reduktion von *C. albicans* ≥ 4 lg-Stufen nachgewiesen. 0,02 % PHMB sowie geringere Octenidinkonzentrationen konnten die Grenze von mindestens 4 lg-Stufen nicht erreichen (Tab. 26, Abb. 20).

Tab. 26: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in lg-Stufen für *C. albicans* ohne Belastung (AKZ $8,8 \pm 0,13$ lg)

Prüfsubstanz	5 min	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,1 %	$0,6 \pm 0,20^{\bar{}}$ n=3	$0,5 \pm 0,47^{\bar{}}$ n=4	$1,7 \pm 2,18^{\bar{}}$ n=4	$2,8 \pm 1,30^{\bar{}}$ n=4	$\geq 5,3 \pm 0,12^{++}$ n=3
Oct 0,05 %	$-0,4 \pm 0,42^{\bar{}}$ n=4	$0,4 \pm 0,55^{\bar{}}$ n=4	$0,9 \pm 0,59^{\bar{}}$ n=4	$2,1 \pm 0,77^{\bar{}}$ n=4	$\geq 5,3 \pm 0,12^{++}$ n=3
Oct 0,02 %	$-0,3 \pm 0,30^{\bar{}}$ n=3	$0,3 \pm 0,04^{\bar{}}$ n=3	$0,7 \pm 0,41^{\bar{}}$ n=3	$2,2 \pm 1,95^{\bar{}}$ n=4	$2,6 \pm 1,12^{\bar{}}$ n=4
Oct 0,01 %	$-0,4 \pm 0,33^{\bar{}}$ n=3	$0,2 \pm 0,04^{\bar{}}$ n=3	$0,3 \pm 0,38^{\bar{}}$ n=3	$1,2 \pm 0,46^{\bar{}}$ n=4	$1,1 \pm 0,14^{\bar{}}$ n=3
Oct 0,005 %	$-0,2 \pm 0,40^{\bar{}}$ n=3	$-0,1 \pm 0,08^{\bar{}}$ n=3	$0,3 \pm 0,39^{\bar{}}$ n=3	$0,5 \pm 0,53^{\bar{}}$ n=3	$1,0 \pm 0,32^{\bar{}}$ n=3
PHMB 0,02 %	$-0,4 \pm 0,17^{\bar{}}$ n=3	$0,1 \pm 0,10^{\bar{}}$ n=3	$0,1 \pm 0,45^{\bar{}}$ n=3	$0,2 \pm 0,04^{\bar{}}$ n=3	$0,4 \pm 0,07^{\bar{}}$ n=3
Negativ- kontrolle	$0,6 \pm 0,98^{\bar{}}$ n=4	$1,5 \pm 0,46^{\bar{}}$ n=4	$2,0 \pm 0,39^{\bar{}}$ n=4	$2,7 \pm 1,36^{\bar{}}$ n=4	$3,7 \pm 1,03^{\bar{}}$ n=4

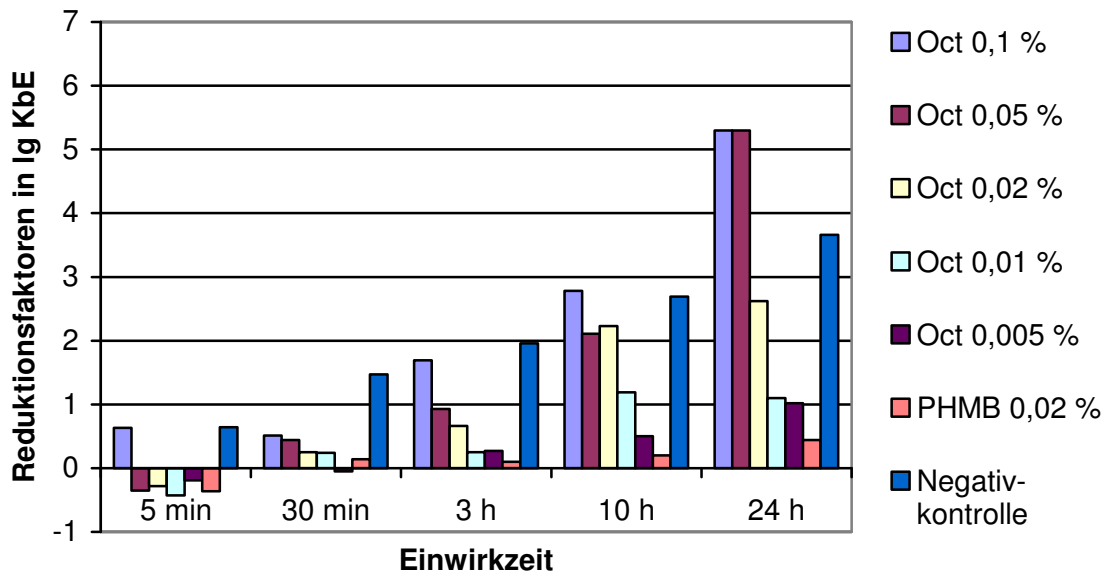


Abb. 20: Reduktionsfaktoren für *C. albicans* ohne Belastung, grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 26

Im Versuchsmodell mit Belastung war für Oct 0,02 % nach 24 h eine ausreichende Wirksamkeit darstellbar. PHMB erreichte die Reduktion ≥ 3 Ig-Stufen nicht (Tab. 27, Abb. 21).

Tab. 27: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in Ig-Stufen für *C. albicans* mit Belastung (AKZ $8,8 \pm 0,11$ Ig)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS	5 min	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,1 %	$0,3 \pm 0,28^{**}$ n=3	$0,8 \pm 0,36^{**}$ n=3	$1,8 \pm 0,37^{**}$ n=3	$2,9 \pm 1,56^{\pm}$ n=4	$\geq 5,1 \pm 0,05^{++}$ n=3
Oct 0,05 %	$0,3 \pm 0,18^{**}$ n=3	$0,5 \pm 0,50^{**}$ n=3	$1,0 \pm 0,61^{**}$ n=4	$2,8 \pm 1,36^{*}$ n=4	$\geq 5,1 \pm 0,05^{++}$ n=3
Oct 0,02 %	$0,0 \pm 0,10^{**}$ n=3	$0,5 \pm 0,27^{**}$ n=3	$0,8 \pm 0,48^{**}$ n=3	$2,1 \pm 0,33^{**}$ n=3	$3,4 \pm 0,43^{++}$ n=3
Oct 0,01 %	$0,1 \pm 0,30^{**}$ n=3	$0,4 \pm 0,20^{**}$ n=3	$0,2 \pm 0,13^{**}$ n=3	$1,0 \pm 0,13^{**}$ n=3	$1,6 \pm 0,35^{**}$ n=3
Oct 0,005 %	$0,1 \pm 0,19^{**}$ n=3	$0,2 \pm 0,32^{**}$ n=3	$0,1 \pm 0,05^{**}$ n=3	$0,8 \pm 0,23^{**}$ n=3	$1,4 \pm 0,14^{**}$ n=3
PHMB 0,02 %	$-0,2 \pm 0,08^{**}$ n=3	$0,3 \pm 0,20^{**}$ n=3	$0,1 \pm 0,16^{**}$ n=3	$0,4 \pm 0,14^{**}$ n=3	$0,4 \pm 0,07^{**}$ n=3
Negativkontrolle	$0,5 \pm 0,10^{**}$ n=3	$1,0 \pm 0,24^{**}$ n=3	$1,4 \pm 0,36^{**}$ n=4	$1,8 \pm 0,57^{**}$ n=4	$2,1 \pm 0,34^{**}$ n=3

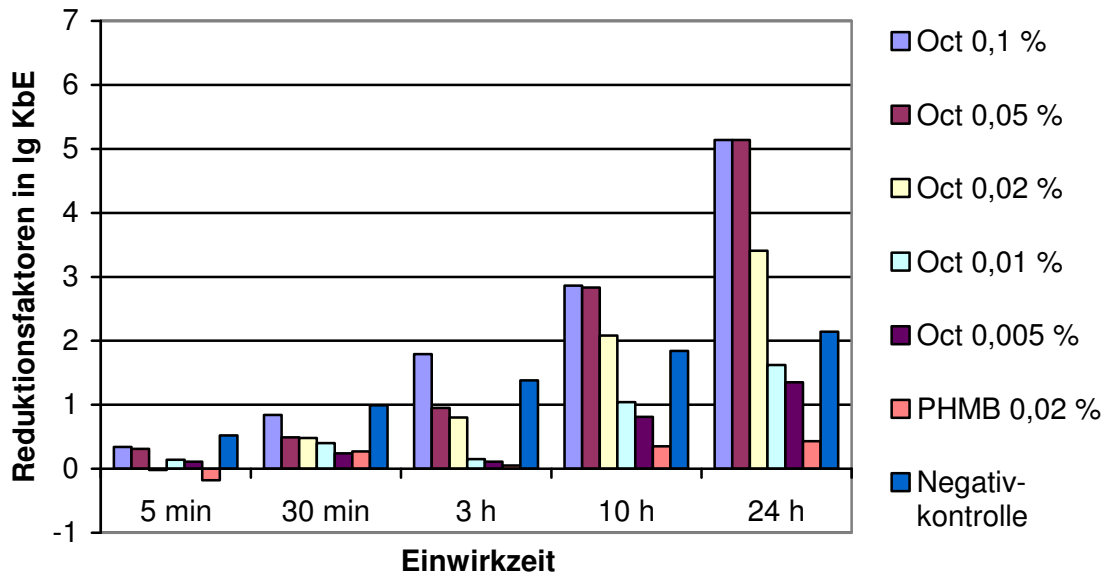


Abb. 21: Reduktionsfaktoren für *C. albicans* mit Belastung (MEM + 10 % FBS), grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 27

Nach 24 h nahm die AKZ in der Suspension ohne und mit Belastung (MEM + 10 % FBS) bei Zimmertemperatur um 0,1 lg-Stufen ab.

Die Hefe zeigte sich empfindlich gegenüber Trocknung und konnte besonders nach 24 h trotz optisch wieder feuchter Suspension auf dem Plättchen nur mit einer Reduktion von 3,7 lg-Stufen in CSL und 2,1 lg-Stufen in MEM und 10 % FBS zurückgewonnen werden (s. Negativkontrolle, Tab. 26, 27).

Im Versuch mit Ery-Zusatz konnte ein $RF \geq 3$ weder für Oct noch für PHMB nachgewiesen werden (Tab. 28, Abb. 22).

Tab. 28: Mittelwerte und Standardabweichung der Reduktionsfaktoren angegeben in Ig-Stufen für *C. albicans* mit Belastung zzgl. Ery (AKZ $9,0 \pm 0,00$ lg)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS + 1 % Ery	30 min	3 h	10 h	24 h
Oct 0,01 %	$0,5 \pm 0,03^{\text{--}}$ n=3	$0,5 \pm 0,05^{\text{--}}$ n=3	$0,5 \pm 0,01^{\text{--}}$ n=3	$0,9 \pm 0,08^{\text{--}}$ n=3
PHMB 0,02 %	$0,4 \pm 0,03^{\text{--}}$ n=3	$0,4 \pm 0,04^{\text{--}}$ n=3	$0,4 \pm 0,11^{\text{--}}$ n=3	$0,7 \pm 0,03^{\text{--}}$ n=3
Negativkontrolle	$0,5 \pm 0,12^{\text{--}}$ n=2	$1,0 \pm 0,26^{\text{--}}$ n=2	$1,1 \pm 0,01^{\text{--}}$ n=2	$1,4 \pm 0,01^{\text{--}}$ n=2

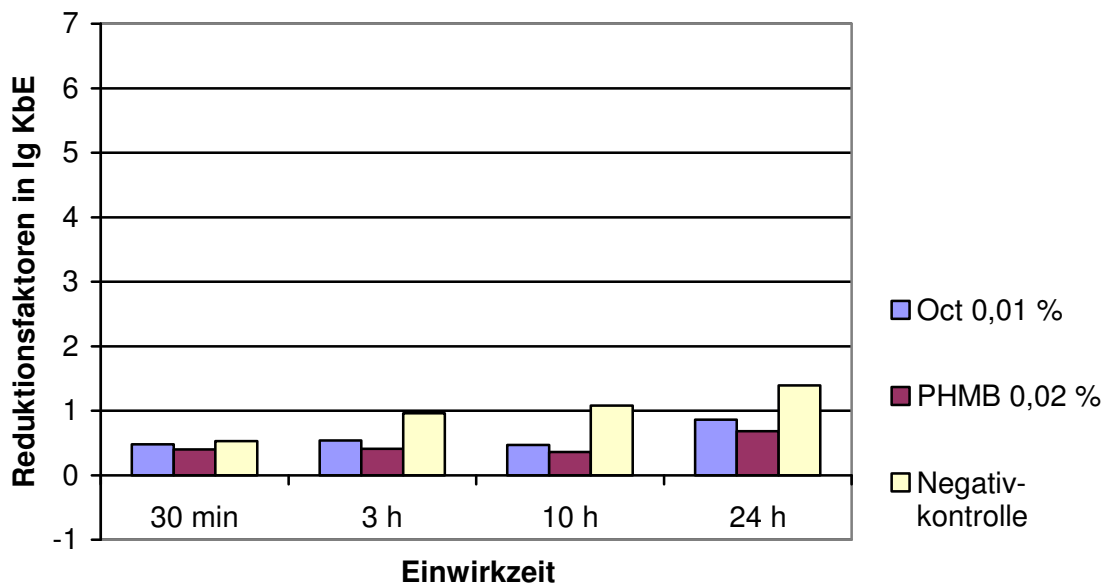


Abb. 22: Reduktionsfaktoren für *C. albicans* mit Belastung (MEM + 10 % FBS + 1 % Ery), grafische Darstellung der Ergebnisse aus Tab. 28

Vergleichende Darstellung der Ergebnisse für Oct 0,02 % und PHMB 0,02 % mit Belastung im zeitlichen Verlauf

Im Modell mit Belastung (MEM und 10 % FBS) konnte für Oct 0,02 % gegen alle Prüforganismen eine schnellere Reduktion beobachtet werden als für PHMB 0,02 %. Während für Oct 0,02 % ein RF > 3 gegen alle Erreger zwischen 5 min und 24 h darstellbar war (Abb. 23), zeigten sich für PHMB mit 3 h bis > 24 h deutlich längere notwendige Einwirkungszeiten (Abb. 24). Zudem wurde durch Oct 0,02 % ein höherer RF gegen *E. faecium*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* und *C. albicans* ermittelt.

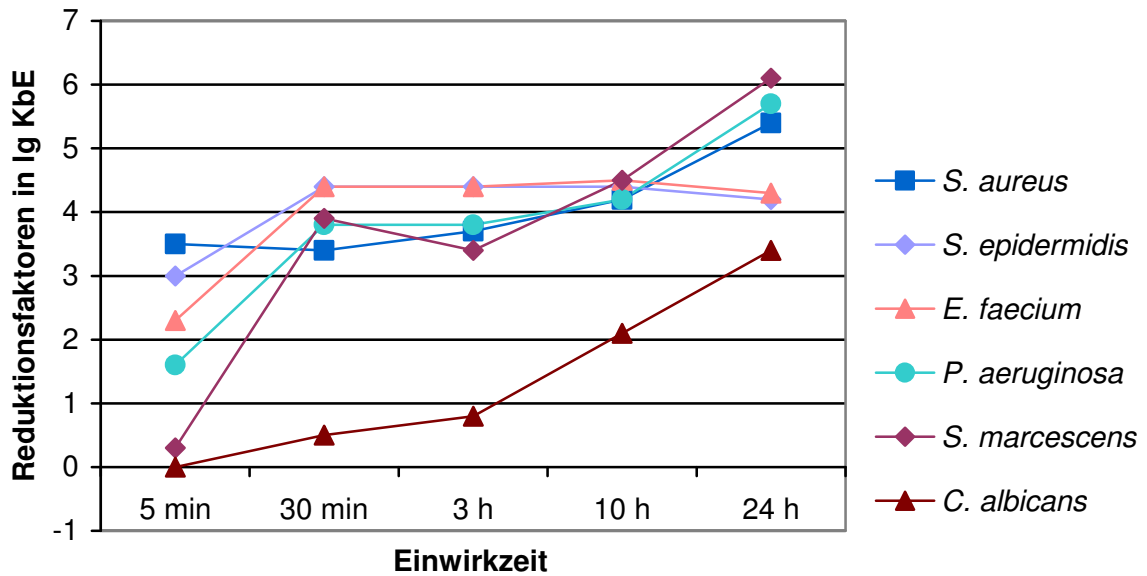


Abb. 23: Reduktionsfaktoren für Oct 0,02 % mit Belastung (MEM + 10 % FBS) gegen alle Prüforganismen

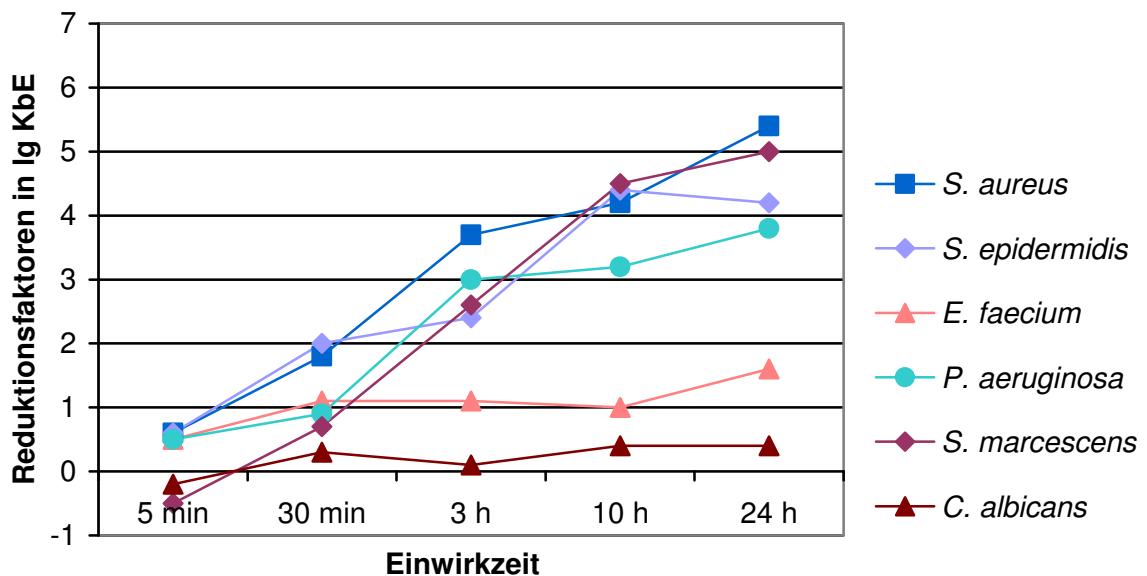


Abb. 24: Reduktionsfaktoren für PHMB 0,02 % mit Belastung (MEM + 10 % FBS) gegen alle Prüforganismen

Zusammenfassung aller Ergebnisse nach 24 h Einwirkungszeit

Im Versuch ohne Belastung zeigte Oct nach 24 h in allen getesteten Konzentrationen ein größeres Wirkspektrum als PHMB 0,02 % (Tab. 29).

Tab. 29: Zusammenfassung der Einzelversuche nach 24 h im Versuch ohne Belastung

Prüfsubstanz nach 24 h	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>C. albicans</i>
Oct 0,1 %	++	++	++	++	+	++
Oct 0,05 %	++	++	++	++	-	++
Oct 0,02 %	++	++	++	++	--	--
Oct 0,01 %	++	++	+	++	--	--
Oct 0,005 %	++	++	-	+	--	--
PHMB 0,02 %	++	--	--	--	--	--

Im Versuch mit Belastung (MEM + 10 % FBS) wurde die Wirksamkeit für Oct 0,02 % gegen alle geprüften Erreger mit einer Reduktion ≥ 3 lg-Stufen ermittelt, während PHMB 0,02 % die Anforderung gegen *C. albicans* und *E. faecium* nicht erfüllte (Tab. 30).

Tab. 30: Zusammenfassung der Einzelversuche nach 24 h im Versuch mit Belastung (MEM + 10 % FBS)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS nach 24 h	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>C. albicans</i>
Oct 0,1 %	++	++	++	++	++	++
Oct 0,05 %	++	++	++	++	++	++
Oct 0,02 %	++	++	++	++	++	++
Oct 0,01 %	++	++	++	++	++	--
Oct 0,005 %	++	++	++	++	++	--
PHMB 0,02 %	++	++	--	+	+	--

Im Versuch mit Ery-Zusatz wurde für Oct 0,01 % die geforderte Wirksamkeit gegen alle Erreger außer *C. albicans* beobachtet. PHMB 0,02 % erreichte die geforderte Reduktion gegen *C. albicans* und *E. faecium* nicht. Gegen *P. aeruginosa* zeigten die Versuche mit feuchter und halb getrockneter Suspension keine ausreichende Wirkung von PHMB 0,02 % (Tab. 31).

Tab. 31: Zusammenfassung der Einzelversuche nach 24 h im Versuch mit Belastung (MEM + 10 % FBS + 1 % Ery)

Prüfsubstanz + MEM + 10 % FBS + 1 % Ery nach 24 h	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>P. aeruginosa</i> *	<i>S. marcescens</i>	<i>C. albicans</i>
Oct 0,01 %	++	++	++	++/+/+	++	--
PHMB 0,02 %	++	++	--	++/--/--	++	--

*trocken, feucht, halbtrocken

2.3 Diskussion

2.3.1 Methodische Gesichtspunkte

Zur Wirkungsprüfung von Antiseptika sind die in den eigenen Untersuchungen verwendeten Testorganismen *S. aureus*, *E. faecium*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* Standard (Pitten et al. 2003). Als zusätzliche Prüforganismen wurden in der vorliegenden Studie *S. epidermidis* und *S. marcescens* einbezogen. Ersterer ist häufig Ursache von Implantatinfektionen einschließlich chirurgischem Nahtmaterial (Kramer et al. 1993). *S. marcescens* ist als typischer Feuchterreger unter anderem für Ausbrüche nosokomialer Infektionen einschließlich postoperativer Wundinfektionen verantwortlich (Völz 2010). Es wurde kein Vertreter der filamentösen Pilze wie z. B. *Aspergillus niger* getestet, weil diese nicht vordergründig für Wundinfektionen relevant sind. Obwohl immer die Möglichkeit besteht, zusätzliche Organismen zu testen, ermöglichen die für den vorliegenden Versuch ausgewählten Erreger eine Aussage über die Wirkung der Prüfsubstanzen (Steinhauer 2006). Des Weiteren wird durch die Auswahl eine Vergleichbarkeit mit anderen Studien gewährleistet.

Die Belastungen wurden hinsichtlich ihrer Bedeutung in der klinischen Praxis ausgewählt. MEM ist in Kombination mit 10 % FBS der physiologischen Wundflüssigkeit nachempfunden (Campbell et al. 2003, Müller u. Kramer 2008). Durch die Zugabe von Erythrozytenkonzentrat wird die Wundsituation noch realer simuliert, da Blutbeimengungen z. B. nach Wunddébridement vorkommen.

In den Validierungsversuchen wurde unter anderem die Rückgewinnung der Erreger von den Prüfkörpern nach Überschichtung mit der Gelgrundsubstanz (Placebo) untersucht. Die Rückgewinnung unterschied sich sowohl erreger- als auch zeitabhängig (Tab. 2, 3, 4). Nahezu einheitlich war bei allen Prüforganismen die zunehmende Rückgewinnungsrate mit zunehmender Zeitdauer der Exposition. Vor

allem bei *S. marcescens* und *P. aeruginosa* war die Differenz zur AKZ besonders unter Belastung mit MEM, 10 % FBS und 1 % Ery stark schwankend. Während für *S. marcescens* nach 30 min $> 2,2$ Ig-Stufen nach dem Abschwemmen nicht zurückgewonnen werden konnten, betrug die Reduktion im Vergleich zur AKZ nach 24 h nur etwa 1,2 Ig. Bei *P. aeruginosa* zeigte sich nach der längsten Zeit von 24 h sogar eine Zunahme der Erreger bezüglich der AKZ, obwohl nach 30 min eine Differenz zur AKZ von 2,5 Ig-Stufen ermittelt wurde (Tab. 4). Eine mögliche Ursache könnte das fortschreitende Ablösen der Erreger vom Metallplättchen in die Gelgrundsubstanz sein. Das Wachstum der Erreger in der Gelgrundsubstanz könnte diesen Effekt noch verstärken. Mittels elektronenmikroskopischer Untersuchungen wäre der Verbleib der Erreger auf dem Objektträger überprüfbar.

Die Rückgewinnung von *P. aeruginosa* war im Test mit unterschiedlich langer Trocknung erwartungsgemäß bei feuchter Suspension am besten (Tab. 4), da der Erreger als typischer Nasskeim empfindlich auf Austrocknung reagiert (Bader et al. 2002).

Auch andere Prüfkörper wurden bezüglich der Rückgewinnbarkeit von *P. aeruginosa* untersucht (Tab. 5). Bei Glas und Kunststoff war ebenfalls ein starker Verlust nach der Rückgewinnung feststellbar. Hierbei zeigte der Glasobjektträger möglicherweise durch das stärkere Austrocknen der Erreger die geringste Rückgewinnungsrate. Im Abstrich ließen sich nur noch wenige Erreger nachweisen, was für ein effektives Abschwemmen bei glatten Oberflächen sprechen könnte. Beim Kunststoffobjektträger zeigte sich eine ähnliche Verlustrate nach dem Abschwemmen wie bei den Metallprüfkörpern bei deutlich höherem Verbleib von Erregern auf der Testoberfläche. Dieser Effekt ist möglicherweise auf die relativ unebene, poröse Oberfläche zurückführbar. Der Vergleich der verschiedenen Testkörper zeigt, dass der Metallprüfkörper für die praxisnahe Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmittelwirkstoffen am geeignetsten ist. Analog dazu werden Metallplättchen in den Europäischen Normen für den Lebensmittel- und den veterinärmedizinischen Bereich verwendet bzw. erprobt (Gebel et al. 2008). Ein ähnliches Testmodell mit Metallplättchen wurde bereits bei der Testung der mikrobioziden Wirksamkeit von Medihoney® (Igelbrink et al. 2007) sowie von einer Silberwundaufgabe (Ebert et al. 2011) verwendet.

Für alle Erreger konnte eine ausreichend hohe AKZ ermittelt werden, um nach dem Abschwemmen vom jeweiligen Prüfkörper mit der Gelgrundsubstanz ≥ 5 Ig-Stufen (ohne Belastung) bzw. ≥ 3 Ig-Stufen (mit Belastung) zu gewinnen.

Schlussfolgernd stützten sich die durchgeführten Untersuchungen auf ein praxisnahes, reproduzierbares Testmodell.

2.3.2 Ergebnisse

Für den erfolgreichen Einsatz eines Antiseptikums, müssen die Kriterien bezüglich der Wirksamkeit erfüllt sein. Die Wirksamkeit ist bis zur Phase 2/Stufe 1 durch Europäische Standards geregelt. In Phase 2/Stufe 1 wird im quantitativen Suspensionstest innerhalb der deklarierten Einwirkungszeit ohne Belastung eine Reduktion der Testorganismen ≥ 5 lg, bei wundadäquater Belastung ≥ 3 lg gefordert (Pitten et al. 2003, Gebel et al. 2008). In Phase 2/Stufe 2 wird die Wirksamkeit auf Prüfkörpern ohne und mit Belastung geprüft. Bei Flächendesinfektionsmitteln muss das Produkt im Objektträgerest bei Einwirkzeiten von 1, 2 oder 4 h eine Reduktion von mindestens 4 lg-Stufen erreichen. Instrumentendesinfektionsmittel müssen innerhalb 1 h eine Reduktion der Testorganismen um 5 lg-Stufen aufweisen (Gebel et al. 2008). Für Antiseptika gibt es bisher keine Empfehlungen zur erforderlichen Wirksamkeit im Objektträgerest. Da im quantitativen Suspensionstest die Testorganismen mit dem Antiseptikum zu einer homogenen Suspension vermischt werden, im Objektträgerest die Suspension jedoch für 1 h angetrocknet wird, dürften auf dem Objektträger bei vergleichbarer Einwirkungszeit nicht so hohe Reduktionsfaktoren wie im Suspensionstest erreichbar sein. Ebert et al. (2011) haben daher als Merkmal für die Wirksamkeit eine signifikante Differenz zur Kontrolle zugrunde gelegt. In der vorliegenden Arbeit wurde vorgeschlagen, innerhalb der infrage kommenden Einwirkungszeit ohne Belastung einen RF ≥ 5 bzw. ≥ 4 (*C. albicans*), mit Belastung aber nur ≥ 3 als Wirksamkeitskriterium festzulegen.

S. aureus: Im Versuch ohne Belastung wurden teilweise nicht > 5 lg-Stufen zurückgewonnen, so konnte z. B. nur eine Reduktion von 4,5 lg für verschiedene Konzentrationen von Oct bei 30 min Einwirkzeit ermittelt werden (Tab. 6). Bei einer AKZ von 8,2 lg ist dennoch anzunehmen, dass eine Reduktion > 5 lg-Stufen erreichbar wäre. Aus diesem Grund wird Oct 0,005 % nach 30 min als ausreichend wirksam beurteilt, obwohl ein RF > 5 nicht erfassbar war. In Untersuchungen gemäß EN 1040 und EN 1275 wurden jedoch viel niedrigere Konzentrationen experimentell ermittelt. So wurde in einer Studie von Koburger et al. (2010) z. B. schon bei einer Konzentration von 0,001 % Oct in 1 min eine ausreichende Reduktion von 5 lg-Stufen gegenüber *S. aureus* erzielt, was methodisch im Suspensionstest begründet ist. In einer mit Belastung durchgeführten Phase 2/Stufe 1-Studie mit *S. aureus* (ATCC 6538) zeigte Octenisept® (Oct 0,1 %) in Anwesenheit von 10 % defibriniertem Schafsblut nach 30 s

einen RF > 6, ebenso bei Belastung mit 10 % bovinem Albumin (Pitten et al. 2003). In den eigenen Untersuchungen wurde durch Oct 0,1 % unter Belastung mit MEM und 10 % FBS in der kürzesten Einwirkungszeit von 5 min die vorgegebene Anforderung (> 3 lg) erfüllt, ebenso durch Oct 0,005 % (Tab. 8). Da die Ergebnisse der verschiedenen Octenidingle mit und ohne Belastung ähnlich waren, kann davon ausgegangen werden, dass die Belastung keinen wesentlichen Einfluss auf die Wirksamkeit des Antiseptikums gegen *S. aureus* hat und Oct deshalb für die Wundbehandlung bei *S. aureus*-Infektionen geeignet ist.

PHMB 0,02 % konnte im Versuch ohne Belastung die Anforderung, den Erreger um > 5 lg-Stufen zu reduzieren, erst nach 10 h erfüllen (Tab. 6). Mit MEM und 10 % FBS als Belastung wurde ein RF > 3 nach 3 h, mit Ery-Zusatz schon nach 30 min erreicht (Tab. 8, 9). Die Ergebnisse im Versuch mit und ohne Belastung waren ähnlich, was ebenfalls auf einen geringen bis keinen Einfluss der Belastung auf die Wirksamkeit des Produkts gegen *S. aureus* schließen lässt. Im Vergleich wurde im quantitativen Suspensionstest mit Belastung (bovines Serumalbumin 4,5 % + Blut 4,5 %) die Anforderung von > 3 lg-Stufen mit PHMB 0,02 % schon innerhalb von 30 s erreicht. Zusätzlich wurde die mikrobiozide Wirksamkeit von Lavasept® und Serasept® (beide enthalten 0,02 % PHMB) im quantitativen Suspensionstest ohne Belastung untersucht. Nach 5 min konnte eine Reduktion > 6 lg-Stufen ermittelt werden (Koburger et al. 2007). Dieses Ergebnis wird in einer Untersuchung von 0,02 % PHMB in Ringer-Lösung bestätigt. Nach 5 min erreichte das Antiseptikum gegen *S. aureus* 6 - 7 lg-Stufen Reduktion (Müller u. Kramer 2000). Allerdings wurde in einer weiteren Studie mit Prontosan® Wundspüllösung und Lavasept® (beide in einer Verdünnung mit 0,02 % PHMB) nur eine Reduktion des Erregers von 3,4 - 3,7 lg-Stufen nach 5 min Einwirkzeit mit Belastung (10 % Schafsblut) erzielt. Nach 15 min konnte für beide Testsubstanzen ein Reduktionsfaktor > 5 beobachtet werden (Müller et al. 2007). Die beschriebenen Resultate sind bezüglich der schnellen Erregerreduktion different zur eigenen Versuchsreihe, weil der Objektträger test höhere Anforderungen an die Wirksamkeit stellt.

Der Vergleich von Oct und PHMB im eigenen Modell zeigt, dass die Gelprodukte mit den geringsten Octenidinkonzentrationen (0,005 % und 0,01 %) in allen Versuchen eine gleichwertige Wirkung, in den Versuchszeiten 5 min und 30 min teilweise eine höhere Reduktion aufweisen als 0,02 % PHMB (Tab. 6, 8, 9).

S. epidermidis: Im Versuchsmodell ohne Belastung konnte Oct 0,005 % nach 10 h und Oct 0,02 % nach 3 h die Anforderung (RF > 5) erfüllen. Eine Reduktion von fast 5 lg-Stufen konnte außerdem mit Oct 0,1 % innerhalb von 5 min erreicht werden. Eine Rückgewinnung > 5 lg-Stufen war nach 5 min bei einer AKZ von 8,8 lg nicht möglich (Tab. 10). Es ist dennoch anzunehmen, dass Oct 0,1 % die Reduktion > 5 lg-Stufen nach 5 min erfüllen kann. Obgleich in dieser Studie bei Oct 0,005 % erst nach 10 h die geforderte Reduktion beobachtet werden konnte, ermittelten Sedlock und Bailey (1985) deutlich niedrigere Octenidinkonzentrationen und kürzere Einwirkzeiten bezogen auf *S. epidermidis* (ATCC 17917). Nach 15 min Einwirkzeit von 1,5 µM Oct (~ 0,0001 %) konnte der Erreger um 5 lg reduziert werden, wobei sich Antiseptikum und Erreger wiederum in Suspension befanden. Damit wird erneut deutlich, dass Ergebnisse des quantitativen Suspensionstests von Ergebnissen des Objektträgertests abweichen können, was die Notwendigkeit einer praxisnahen Prüfung im Objektträgertest unterstreicht.

Die Wirksamkeit von 0,1 % Oct konnte in einer Studie an 16 Patienten mit neoplastischen bakteriell kontaminierten Ulcera bestätigt werden. Bei täglich dreimaliger Anwendung über drei Wochen wurden *S. aureus* und *S. epidermidis* vollständig aus der Wunde eradiziert. Bei zwei Patienten wurde nach der Behandlung noch *Enterococcus faecalis* nachgewiesen, bei einem Patienten noch *P. aeruginosa*, bei allen war jedoch klinisch keine Infektion mehr feststellbar (Sopata et al. 2008). Auf Grund der Ergebnisse des Objektträgertests mit Belastung (Tab. 11, 12) wäre es von Interesse in weiteren Studien zu untersuchen, ob auch Konzentrationen < 0,1 % klinisch wirksam sind.

PHMB konnte im Test ohne Belastung auch nach der längsten Einwirkungszeit von 24 h die geforderte Reduktion von > 5 lg-Stufen nicht erfüllen, was die Eignung als Wundantiseptikum gegenüber *S. epidermidis* in Frage stellen könnte (Tab. 10). Mit Belastung wurde allerdings nach 10 h ein RF > 3 ermittelt (Tab. 11).

Der Vergleich von Oct mit PHMB zeigt, dass Oct in der geringsten getesteten Konzentration von 0,005 % ohne und mit Belastung schneller und viel effektiver wirksam ist als PHMB mit einer 4-fach höheren Konzentration (0,02 %; Tab. 10, 11, 12).

E. faecium: Im Versuch ohne Belastung konnte für Oct 0,02 % nach 24 h und für Oct 0,05 % nach 10 h eine Reduktion um > 5 lg-Stufen beobachtet werden (Tab. 13). Im

Modell mit MEM + 10 % FBS wurde der Erreger durch Oct 0,005 % nach 10 h und Oct 0,01 % bereits nach 30 min um > 3 lg-Stufen reduziert (Tab. 14). Mit zusätzlicher Erythrozytenbelastung erfüllte 0,01 % Oct nach 3 h die geforderte Reduktion (Tab. 15). Die höhere Erregerreduktion durch Oct im Ansatz mit MEM + 10 % FBS im Vergleich zum Versuch ohne Belastung in den Einwirkungszeiten bis 3 h lässt sich möglicherweise durch eine niedrigere AKZ im Versuch mit Belastung erklären. Auch Pitten et al. (2003) prüften die Wirksamkeit von Oct 0,1 % hinsichtlich verschiedener Belastungssubstanzen. Im quantitativen Suspensionstest mit 10 % Schafsblut konnte nach 30 s eine Reduktion um > 6 lg-Stufen dargestellt werden. Auch durch Zugabe von 10 % bovinem Albumin oder 1 % Muzin wurde diese Wirkung erzielt. Die Effektivität von Oct wird somit sowohl in der Studie von Pitten et al. (2003) als auch in den eigenen Untersuchungen im Bezug auf *E. faecium* nicht durch Belastung beeinträchtigt (Tab. 14, 15).

Für PHMB konnten weder im Versuch ohne Belastung noch in den Tests mit MEM, 10 % FBS und 1 % Ery mehr als 1,6 lg-Stufen Reduktion ermittelt werden (Tab. 13, 14, 15). In der Literatur werden - allerdings wiederum im quantitativen Suspensionstest - bessere Wirksamkeiten für PHMB bezogen auf *E. faecium* beschrieben. So konnten Koburger et al. (2007) mit Lavasept® und Serasept® (beide enthalten 0,02 % PHMB) Reduktionen von 4 - 5 lg-Stufen nach 5 min und von > 6 lg-Stufen nach 60 min im Ansatz ohne Belastung beobachten. Die Zugabe von 0,2 % bovinem Serumalbumin führte zu keiner Veränderung der Ergebnisse. Von Müller und Kramer (2000) konnte eine Reduktion von 4 - 5 lg-Stufen nach 5 min und 6 - 7 lg-Stufen nach 60 min durch 0,02 % PHMB ohne Belastung ermittelt werden. Ersichtlich ist, dass PHMB im praxisnahen Prüfmodell eine durchweg schlechtere Wirksamkeit aufweist als in quantitativen Suspensionstests. Das wirft die Frage auf, ob PHMB bei einer Wundinfektion durch *E. faecium* als Wundantiseptikum geeignet ist.

Der Vergleich von Oct und PHMB in dieser Studie zeigt, dass Oct gegen *E. faecium* in den niedrigsten Testkonzentrationen (0,005 % und 0,01 %) PHMB 0,02 % überlegen ist (Tab. 13, 14, 15).

P. aeruginosa: Im Versuchsmodell ohne Belastung konnte durch Oct 0,005 % nach 24 h und durch Oct 0,01 % nach 10 h eine Reduktion um > 5 lg-Stufen ermittelt werden (Tab. 16). Da die Rückgewinnung des Erregers trotz einer AKZ von 8,8 lg in den Versuchszeiten 30 min und 3 h nicht ausreichend war, um eine Reduktion > 5 lg-Stufen darzustellen, wurden die Durchgänge mit einer AKZ von 10,3 lg wiederholt. Hierbei wurde für Oct in keiner Konzentration bis einschließlich 10 h eine Reduktion des Erregers um > 5 lg-Stufen nachgewiesen (Tab. 17). Bei einer AKZ von 8,8 lg ist jedoch anzunehmen, dass Oct 0,05 % in 30 min bei einem RF von 4,8 lg-Stufen und Oct 0,02 % in 3 h bei einem RF von 4,8 lg-Stufen den Anforderungen genügt (Tab. 16).

Im quantitativen Suspensionstest ohne Belastung zeigte sich eine schnellere Wirkung bei deutlich geringeren Octenidinkonzentrationen. So wurde für Oct in der Konzentration 50 mg/l (~ 0,005 %) die Reduktion um etwa 5 lg-Stufen in 1 min und für Oct 10 mg/l (~ 0,001 %) die Reduktion > 5 lg-Stufen in 10 min beobachtet (Koburger et al. 2010). Ein Test mit Objektträgern aus Polycarbonat erbrachte dagegen ähnliche Ergebnisse (Harbs u. Siebert 2007) wie in den eigenen Untersuchungen. Nachdem die Objektträger für eine Woche in einem Biofilm-Reaktor mit *P. aeruginosa* inkubiert wurden, erfolgte das Überführen des Testkörpers für 60 min in 0,05 % Oct. Danach wurde das Antiseptikum inaktiviert und eine 60 s dauernde Ultraschallbehandlung angeschlossen. Nach Anlegen von Verdünnungen, Ausplattieren und Auszählen der Kolonien konnte für Oct 0,05 % ein RF von 4,7 lg-Stufen ermittelt werden. Im eigenen Versuch erreichte Oct 0,05 % nach 30 min eine Reduktion von 4,8 lg-Stufen (Tab. 16). In der eigenen Studie sowie im Modell von Harbs und Siebert (2007) wird erneut deutlich, dass in praxisnahen Prüfkörpermodellen differierende Ergebnisse zum quantitativen Suspensionstest ermittelt werden und diese somit unerlässlich zur Beurteilung der Wirksamkeit in der klinischen Praxis sind.

Mit Belastung konnte für Oct 0,005 % nach 3 h die geforderte Reduktion > 3 lg-Stufen dargestellt werden (Tab. 18). Mit Ery-Zusatz war die Anforderung durch Oct 0,01 % nach 10 h erfüllt (Tab. 19). Der Belastungsversuch mit Ery-Zusatz wurde außerdem mit verkürzter Trocknungszeit der Erregersuspension auf den Metallplättchen durchgeführt, da es auch ohne antiseptische Behandlung (Placebo) zu einer Abnahme der Erreger um bis zu 2,7 lg-Stufen im Vergleich zur AKZ kam (Tab. 4). Im Versuch mit feuchter Suspension konnte für Oct 0,01 % die geforderte Reduktion erst nach 24 h beobachtet werden (Tab. 20). Der Versuch mit halb angetrockneter Suspension zeigte für Oct 0,01 % nach 10 h einen RF > 3 (Tab. 21). Aus den eigenen Untersuchungen lässt sich feststellen, dass die Effektivität von Oct nicht bzw. nur gering durch die Belastung beeinträchtigt wird. Auch Pitten et al. (2003) kamen in einem Phase 2/Stufe

1-Test mit *P. aeruginosa* (ATCC 15442) einschließlich der Zugabe von 10 % bovinem Albumin zu diesem Ergebnis.

In den Versuchen ohne Belastung wurde für PHMB zu keiner Zeit eine Reduktion > 1,5 lg-Stufen nachgewiesen (Tab. 16). Dagegen wurde *P. aeruginosa* im quantitativen Suspensionstest ohne Belastung durch 50 mg/l (~ 0,005 %) nach 10 min um > 5 lg-Stufen reduziert. Für eine Reduktion > 5 lg-Stufen in 5 min war eine Konzentration von 125 mg/l (~ 0,0125 %) erforderlich, für eine entsprechende Reduktion in 1 min von 500 mg/l (~ 0,05 %; Koburger et al. 2010). Andere Studien erzielten im quantitativen Suspensionstest durch PHMB 0,02 % nach 5 min sowohl ohne als auch mit Belastung (4,5 % bovines Serumalbumin + 4,5 % Blut) eine Reduktion > 6 lg-Stufen (Koburger et al. 2007). Andererseits existieren auch Testreihen, die eine geringere Wirksamkeit von PHMB 0,02 % bezogen auf den Gram-negativen Erreger bestätigen. In diesen wurde durch PHMB nach 5 min eine Reduktion um 3 - 4 lg sowie nach 60 min um 5 - 6 lg-Stufen ermittelt. Im Vergleich zu anderen Prüforganismen konnte PHMB bei *P. aeruginosa* nur langsam seine volle Wirkung entfalten (Müller u. Kramer 2000).

In der bereits zitierten Studie von Harbs und Siebert (2007) wurde wie im eigenen Modell die Wirkung von PHMB 0,02 % auf Objektträgern untersucht. Bezüglich der Inaktivierung der *P. aeruginosa*-Biofilme konnte durch PHMB eine Reduktion von 3,7 lg-Stufen nach 60 min ermittelt werden. Somit zeigt sich auch in dieser Studie eine schwächere Wirkung von PHMB im Prüfkörpertest als im quantitativen Suspensionstest, wobei in den eigenen Untersuchungen nach 60 min eine noch geringere Reduktion zwischen 0,2 - 1,2 lg-Stufen zu erwarten wäre (Tab. 16).

Im vorliegenden Test wurde durch PHMB im Modell mit MEM + 10 % FBS nach 10 h und 24 h eine Reduktion von *P. aeruginosa* um > 3 lg-Stufen beobachtet, jedoch mit einer Standardabweichung von bis zu 2,1 lg (Tab. 18). Auf Grund dieser starken Schwankungen ist zu vermuten, dass eine sichere Wirkung in praxi möglicherweise nicht gewährleistet ist. Im Versuch mit Ery-Zusatz konnte durch PHMB zwar nach 10 h die geforderte Reduktion ermittelt werden, jedoch war auch hier die Rückgewinnung der Erreger im Placebodurchlauf so gering, dass der Versuch mit nasser und halbtrockener Erregersuspension wiederholt wurde (Tab. 19). In diesen Testreihen konnte PHMB die Anforderungen an ein Antiseptikum nicht erfüllen (Tab. 20, 21). In einem quantitativen Suspensionstest wurde wiederum eine höhere Effektivität des Antiseptikums bei Belastung mit 10 % Schafsblut beobachtet. Nach 5 min konnte für Lavasept® eine Reduktion von 1,7 lg und für Prontosan® (beide verdünnt auf 0,02 %

PHMB) von 1,5 lg-Stufen beobachtet werden. Nach 30 min reduzierte Lavasept® den Erreger um 4,4 lg und Prontosan® um 4,1 lg-Stufen (Müller et al. 2007). Im eigenen Versuch mit feuchter bzw. halbtrockener Suspension erreichte PHMB 0,02 % zu keiner Zeit eine Reduktion von *P. aeruginosa* > 1,7 lg-Stufen, was die Vermutung nahe legt, dass PHMB zur Wundantiseptik hinsichtlich *P. aeruginosa* nicht geeignet ist (Tab. 20, 21).

Der Vergleich der Antiseptika Oct und PHMB in den eigenen Versuchen zeigt, dass Oct 0,005 % bzw. 0,01 % eine schnellere und höhere Erregerreduktion bezüglich *P. aeruginosa* aufweist als 0,02 % PHMB (Tab. 16, 18, 19, 20, 21).

***S. marcescens*:** Im Versuch ohne Belastung konnte für Oct 0,1 % nach 10 h eine Reduktion > 5 lg-Stufen ermittelt werden (Tab. 22). Bei niedrigeren Octenidinkonzentrationen wurde keine ausreichende Wirkung beobachtet. In einem Suspensionsversuch von Sedlock und Bailey (1985) wurde jedoch durch eine deutlich geringere Octenidinkonzentration von 2,0 µM (~ 0,000125 %) nach nur 15 min Einwirkzeit eine Reduktion von *S. marcescens* um 5,8 lg-Stufen ohne Belastung erfasst.

Mit Belastung wurde die Anforderung (RF > 3 lg-Stufen) durch Oct 0,005 % nach 3 h und durch Oct 0,01 % nach 30 min erfüllt (Tab. 23). Mit 1 % Ery-Zusatz konnte für Oct 0,01 % nach 3 h die geforderte Reduktion dargestellt werden (Tab. 24). Die höhere Wirksamkeit im Versuch mit Belastung ist möglicherweise auf die niedrigere AKZ von 8,9 lg zurückzuführen. Der Test ohne Belastung erfolgte jedoch mit einer AKZ von 9,7 lg. Denkbar ist auch ein synergistischer Effekt der Belastungssubstanzen mit dem antiseptischen Wirkstoff. Die antiseptische Wirkung allein durch die Belastung (MEM + 10 % FBS) ist auszuschließen, da die Kontrolle der AKZ bei Zimmertemperatur nach 24 h eine Zunahme der Erreger aufwies (Tab. 25). Abschließend kann festgestellt werden, dass Oct unter Belastungsbedingungen in weitaus geringeren (0,01 % und 0,005 %) als den handelsüblichen Konzentrationen gegen *S. marcescens* wirksam ist (Tab. 23, 24).

PHMB konnte die Anforderungen im Test ohne Belastung nicht erfüllen, erreichte jedoch im Test mit MEM + 10 % FBS und im Versuch mit Ery-Zusatz eine Reduktion von *S. marcescens* > 3 lg-Stufen nach 10 h (Tab. 22, 23, 24).

Im Vergleich von Oct mit PHMB ist festzustellen, dass *S. marcescens* mit Belastung durch Oct 0,01 % und 0,005 % teilweise stärker und generell schneller als durch 0,02 % PHMB reduziert wurde (Tab. 22, 23, 24).

***C. albicans*:** Im Versuchsmodell ohne Belastung konnte durch Oct 0,05 % nach 24 h ein RF > 5 beobachtet werden (Tab. 26). In einem quantitativen Suspensionstest wurde jedoch durch Oct in der Konzentration von 25 mg/l (~ 0,0025 %) nach 1 min eine Reduktion von 4,0 lg-Stufen dargestellt (Koburger et al. 2010). Im eigenen Prüfkörpermodell wurde die Suspension auf Grund des schwachen Wachstums des Erregers in den Nährlösungen durch Abschwemmen von beimpften Agarplatten hergestellt. So enthielt sie möglicherweise zusätzliches organisches Material. Beim Auftragen des Prüfgels war vermutlich dadurch bedingt eine Phasenbildung zwischen dem Antiseptikum und der Erregersuspension zu beobachten. Die fehlende Durchmischung könnte ursächlich für die geringere Reduktion im Vergleich zum quantitativen Suspensionstest sein.

Im Modell mit Belastung zeigte sich Oct effektiver. So war bereits eine Konzentration von 0,02 % ausreichend, um eine Reduktion von *C. albicans* > 3 lg-Stufen nach 24 h nachzuweisen (Tab. 27). Die Suspension wurde ebenfalls am Versuchstag durch Abschwemmen hergestellt. Da aber in der Kontrolle nur eine Abnahme der AKZ bei Zimmertemperatur nach 24 h um 0,1 lg ermittelt wurde, spricht das gegen ein antifungielles Potential der Lösung MEM + 10 % FBS.

Im quantitativen Suspensionstest von Pitten et al. (2003) führte Oct (0,1 %) gegen *C. albicans* (ATCC 10231) in Anwesenheit von 10 % bovinem Albumin nach 10 min zu einer Reduktion > 5 lg-Stufen. Nach 1 min wurde ein RF von 4,7 beobachtet. Die Wirksamkeit war jedoch nach 30 s und 1 min durch die Belastung beeinträchtigt, erst nach 10 min konnten ähnliche Reduktionsfaktoren wie in den Versuchen ohne Belastung ermittelt werden. Insgesamt legen die Studien den Schluss nahe, dass Oct zwar wirksam gegen *C. albicans* ist, sich jedoch die notwendige Einwirkzeit unter Belastung verlängert. Ein Ergebnis > 5 lg-Stufen konnte im eigenen Modell mit Belastung erst nach 24 h für Oct 0,05 % ermittelt werden (Tab. 27). Im Versuch mit Ery-Zusatz erfüllte Oct 0,01 % auch nach 24 h die Anforderung (RF > 3) nicht (Tab. 28).

Für PHMB konnte in keinem Durchlauf (CSL, MEM + 10 % FBS, MEM + 10 % FBS + 1 % Ery) eine Reduktion > 0,7 lg-Stufen dargestellt werden (Tab. 26, 27, 28). In einem

quantitativen Suspensionstest ohne Belastung wurde jedoch durch PHMB 0,02 % nach 30 s eine Reduktion > 5 lg-Stufen ermittelt, nach 10 min > 6 lg (Koburger et al. 2007). Eine andere Studie konnte nach 5 min eine Reduktion von 4 - 5 lg-Stufen feststellen (Müller u. Kramer 2000). Ebenfalls im quantitativen Suspensionstest konnte nachgewiesen werden, dass die Wirkung niedrigerer Polihexanidkonzentrationen nach verhältnismäßig längerer Einwirkzeit zunimmt. Während nach 1 min noch eine Konzentration von 5000 mg/l (~ 0,5 %) notwendig war, um eine Reduktion von 4,1 lg-Stufen darzustellen, zeigte PHMB in der Konzentration von 25 mg/l (~ 0,0025 %) nach 6 h ein vergleichbares Ergebnis (Koburger et al. 2010). Auch unter Belastung (4,5 % bovines Serumalbumin + 4,5 % Blut) war PHMB im quantitativen Suspensionstest wirksam. Durch 0,02 % PHMB wurde die Hefe nach 30 s um 4 lg-Stufen reduziert (Koburger et al. 2007). Da der Prüfkörpertest eher die Wirkung in der klinischen Praxis widerspiegelt als der quantitative Suspensionstest, erscheint PHMB 0,02 % zur Behandlung von *C. albicans*-Infektionen offensichtlich ungeeignet.

Der Vergleich von Oct und PHMB zeigt, dass Oct 0,05 % im Ansatz ohne Belastung und Oct 0,02 % im Ansatz mit MEM + 10 % FBS die Anforderungen erfüllt. Für PHMB konnte eine effektive Wirkung gegen *C. albicans* weder ohne noch mit Belastung ermittelt werden (Tab. 26, 27, 28).

Vergleich von Oct 0,02 % und PHMB 0,02 % mit Belastung (MEM + 10 % FBS) im zeitlichen Verlauf: Im Modell mit einer der physiologischen Wundflüssigkeit nahekommenden Belastung (Campbell et al. 2003, Müller u. Kramer 2008) wurde festgestellt, dass Oct 0,02 % gegen alle getesteten Erreger eine schnellere Reduktion (zwischen 5 min und 24 h) bewirkt als 0,02 % PHMB (zwischen 3 h und > 24 h; vgl. Abb. 23 und 24). In quantitativen Suspensionstests mit Belastung (10 % Albumin) konnte der zügige Wirkungseintritt von Oct 0,1 % in 30 s mit einer Reduktion > 6 lg-Stufen gegen Gram-positive und Gram-negative Erreger bestätigt werden. Gegen *C. albicans* war in diesen Testreihen eine Reduktion > 4 lg bereits nach 1 min darstellbar (Pitten et al. 2003, Kramer u. Müller 2007). Auch für niedrigere Octenidinkonzentrationen ($\leq 0,005$ %) konnte ein rascher Wirkungseintritt gegen *S. aureus*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* in 1 min mit einem RF > 4 lg im quantitativen Suspensionstest ohne Belastung beobachtet werden (Koburger et al. 2010). Für PHMB wurden in Analogie zu den vorliegenden Ergebnissen auch im quantitativen Suspensionstest ein relativ langsamer Wirkungseintritt und damit eine längere Einwirkzeit ermittelt (Werner u. Kramer 1995). Außerdem konnten Koburger et al.

(2007) feststellen, dass sich die Wirkung von 0,02 % PHMB unter Belastung mit Albumin und Blut zusätzlich verlangsamt.

Obgleich sowohl für Oct als auch für PHMB in der Literatur gute Wirksamkeiten gegen Gram-positive Erreger und Gram-negative Erreger sowie Pilze aufgeführt sind (Harke 1989, Messick et al. 1999, Kramer u. Müller 2008, Kramer u. Roth 2008, Koburger et al. 2010), bestätigte sich das breite Wirkungsspektrum für PHMB im vorliegenden Versuchsmodell nicht. So konnte bei *E. faecium* und *C. albicans* durch PHMB 0,02 % mit Belastung selbst nach 24 h keine ausreichende Reduktion beobachtet werden. Für Oct 0,02 % wurde dagegen ein RF > 3 gegen alle getesteten Erreger ermittelt (Tab. 30).

Somit ist Oct 0,02 % im praxisnahen Prüfkörpertest PHMB 0,02 % hinsichtlich der mikrobioziden Wirksamkeit überlegen.

2.4 Schlussfolgerungen und weiterführende Gedanken

Insgesamt zeigte sich erwartungsgemäß, dass die geprüften Antiseptika im Objektträgertest höher konzentriert angewendet werden müssen, um die gleiche Wirksamkeit wie im quantitativen Suspensionstest zu erzielen. Auch andere Autoren weisen auf diesen Sachverhalt hin. In einer Studie von Sedlock und Bailey (1985) wurde die Wirkung von Oct an Händen und Füßen von Affen getestet. Die Untersuchungen ergaben, dass eine ca. 16000fach höhere Konzentration notwendig war, um Ergebnisse zu erreichen wie im quantitativen Suspensionstest. Außerdem musste für eine gleichwertige Wirkung die Anzahl der Applikationen erhöht werden. Bei einmaliger Anwendung konnte mit einer 0,2 %igen Octenidinlösung lediglich eine Reduktion der Erregerzahl um 90 % (1 lg) beobachtet werden, mit einer 1,6 %igen Lösung um 97,5 % (1 - 2 lg). Erst nach vier Anwendungen konnten für die genannten Testkonzentrationen Reduktionen zwischen 99,6 - 99,89 % (2 - 3 lg) ermittelt werden.

In einer ebenfalls diese Auffassung stützenden Studie wurden orthopädische Implantate aus Metall als Prüfkörper verwendet. Diese wurden mit Erregern kontaminiert, um die Wirkung von Oct und Gentamicin, bezogen auf die Bildung von Biofilmen und das Überleben der Bakterien, zu untersuchen. Als Prüforganismen fanden *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* und *Enterobacter* spp. Verwendung. Obgleich beide Testsubstanzen wirksam gegen die Erreger in Suspension waren, zeigte Oct in diesem Modell eine bedeutend stärkere Wirkung auf Biofilme als Gentamicin. Dabei

ergab die Untersuchung, dass die minimale wirksame Konzentration gegenüber den Biofilmen auch in diesem Modell erheblich höher ausfiel als im Suspensionstest (Bartoszewicz et al. 2007).

Als mögliche Erklärung für die geringere Wirkung der Antiseptika im Objektträgerstest ist anzunehmen, dass sich die Erregersuspension mit dem Antiseptikum nicht zu einer homogenen Suspension vermischt, sondern als angetrocknete Schicht separiert unter der antiseptischen Substanz liegt. Optisch war das durch Bildung zweier Phasen nach ca. 1 - 4 min bei allen getesteten Erregern und insbesondere höheren Octenidinkonzentrationen zu beobachten. Die Erregersuspension bleibt somit im Prüfkörperstest unter dem Antiseptikum in sich geschlossen und kommt nur an der Grenzfläche zum antiseptischen Gel mit dem Wirkstoff in Kontakt. Daraus ergibt sich eine weitaus kleinere Angriffsfläche als im quantitativen Suspensionstest. Diese minimiert sich möglicherweise zusätzlich durch den Effekt, dass bereits getötete Organismen einen Wall um die darunter liegenden Erreger bilden und diese somit gegen das Antiseptikum „abschotten“. Eine besonders starke Phasenbildung zeigte sich bei *S. marcescens* und *C. albicans*, da hier die Suspension durch die Abschwemmung vom Agar zusätzlich organisches Material enthielt. Ursache für die Auftrennung in zwei Phasen ist möglicherweise die hohe Bindungsfähigkeit von Oct an Eiweiß. Diese führt zur Aggregation der Erreger, während sich die eiweißfreie Restflüssigkeit als nicht aggregierte flüssige Phase über der optisch dichteren Phase befindet (Müller u. Kramer 2007).

Die im Prüfkörperstest erzielten Ergebnisse haben im Vergleich zum quantitativen Suspensionstest eine höhere Standardabweichung. Als Grund hierfür kommen vermutlich die oben gegebenen Erläuterungen zur fehlenden Durchmischung der Erreger mit dem antiseptischen Wirkstoff in Betracht. So können kleinste Unterschiede in der Flächenausbreitung der Erregersuspension auf dem Testkörper zu abweichenden Ergebnissen führen. In Bereichen hoher Erregerdichte können diese nicht so effektiv erfasst werden wie in Bereichen niedriger Erregerdichte. Dieser Effekt spiegelt sich auch in der geringeren Wirkung von Oct im Versuch mit *P. aeruginosa* in CSL mit der höheren AKZ wieder (Tab. 17). Während für Oct 0,05 % schon nach 30 min die Reduktion von fast 5 lg-Stufen beobachtet wurde, konnten bei Erhöhung der AKZ um 1,5 lg für Oct 0,1 % nach 10 h lediglich 2,9 lg-Stufen Reduktion ermittelt werden (Tab. 16, 17). Der Reduktionsfaktor ist demnach im Prüfkörperstest abhängig von der AKZ. In diesem Zusammenhang ist in weiterführenden Studien ggf. zu prüfen, wie hoch die jeweilige Erregerzahl in Wunden ist, damit diese als AKZ verwendet wird.

Es ist fraglich, ob die Vorgabe, eine AKZ von 10^8 bis 10^9 zu verwenden, überhaupt Praxisrelevanz hat. Bei einer geringeren Erregerzahl wären dementsprechend auch niedrigere Wirkstoffkonzentrationen effektiv.

Da die gewählte Belastung zumindest teilweise dem physiologischen Wundsekret entspricht (Campbell et al. 2003, Müller u. Kramer 2008), stellt sich ferner die Frage, ob im Prüfkörpertest auf die Testung ohne Belastung verzichtet werden kann.

Das Prüfkörpermodell erwies sich als reproduzierbar. Die Auswahl einer der physiologischen Wundflüssigkeit nahe kommenden Belastung erscheint sinnvoll, da nur so eine Aussage über die tatsächliche Wirksamkeit eines Antiseptikums in der klinischen Praxis getroffen werden kann. Das vorliegende Versuchsmodell zeigt, dass Antiseptika in praxi höher konzentriert bzw. mit längerer Einwirkungszeit bzw. mit wiederholter Applikation angewendet werden müssen, als aus dem quantitativen Suspensionstest ableitbar ist. Die endgültige Beurteilung ist nur im Ergebnis klinischer Studien möglich.

Oct 0,02 % erreichte nach 24 h unter Belastung gegen alle Erreger einen RF > 3 und war damit PHMB 0,02 % gegenüber *E. faecium* und *C. albicans* in hohem Maße überlegen (Tab. 30). Durch die Verwendung von Octenidinkonzentrationen $\leq 0,02$ % wird eine antiseptische Wundtherapie mit Produkten unterhalb der Gewebeerirritationsschwelle möglich (Kalteis et al. 2003). Zudem wird durch die starke Bindung von Oct in den oberen Zellschichten und die daraus resultierende verlängerte Abgabe des Wirkstoffs in nicht zytotoxischen Konzentrationen zusätzlich die Gewebeverträglichkeit gesteigert (Kramer u. Müller 2007). Aus den eigenen Untersuchungen lässt sich somit möglicherweise eine Alternative zur Anwendung von PHMB in der Therapie chronischer Wunden ableiten.

3 Zusammenfassung

Hintergrund: Aktuell gelten auf Octenidin basierende Antiseptika mit einer Wirkstoffkonzentration von 0,1 % als Mittel der ersten Wahl zur Behandlung infizierter akuter Wunden. Die Behandlung chronischer Wunden erfordert jedoch neben der antiseptischen Wirksamkeit eine gute lokale Gewebeverträglichkeit, die mit niedrigerer Octenidinkonzentration zunimmt. Deshalb war es Anliegen der Arbeit, die mikrobiozide Wirksamkeit von Octenidin auch bei niedrigeren Konzentrationen mit der am häufigsten eingesetzten Polihexanid-Konzentration von 0,02 % zu vergleichen. Anstelle des Suspensionstests sollte das im Prüfkörper test (Phase 2 / Stufe 2) durchgeführt werden, weil dieser der klinischen Anwendung näher kommt.

Material und Methoden: Geprüft wurden Gele mit einem Gehalt an Octenidin von 0,1 %, 0,05 %, 0,02 %, 0,01 % bzw. 0,005 % und ein Gel mit 0,02 % Polihexanid. Als Prüforganismen wurden *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecium*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* und *C. albicans* eingesetzt. Die Testungen erfolgten ohne Belastung sowie mit einer dem physiologischen Wundsekret nahekommenden Belastung (Minimal Essential Medium Eagle + 10 % fetales bovines Serumalbumin) +/- 1 % Erythrozytenkonzentrat.

Es wurden 0,05 ml Erregersuspension auf einen Metallprüfkörper aufgebracht, getrocknet und mit 0,25 g des Antiseptikum haltigen Gels überschichtet. Nach der Einwirkzeit von 5 min, 30 min, 3 h, 10 h und 24 h wurde das Gemisch neutralisiert, abgeschwemmt und die Anzahl der Kolonien ermittelt. Danach erfolgte die Bestimmung der Erregerreduktion im Vergleich zur Antiseptikum freien Kontrolle in Logarithmusstufen zur Basis 10.

Ergebnisse: Der Prüfkörper test erwies sich als geeignet, um die Wirksamkeit von Wundantiseptika zu ermitteln.

Es zeigte sich, dass die getesteten Antiseptika im Prüfkörpermodell höher konzentriert werden mussten und eine längere Einwirkzeit notwendig war, um vergleichbare Reduktionsfaktoren wie im quantitativen Suspensionstest zu erfassen. Die fehlende Durchmischung des Antiseptikums mit der Erregersuspension stellt die Hauptursache dafür dar.

Octenidin 0,02 % erfüllte die Anforderungen an ein Antiseptikum (≥ 5 lg-Stufen) nach 24 h in der Versuchsreihe ohne Belastung gegen *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecium* und *P. aeruginosa*, jedoch nicht gegen *S. marcescens* und *C. albicans*. Für Octenidin

0,02 % wurde die festgelegte Reduktion ≥ 3 lg-Stufen im Versuch mit Belastung gegen alle Erreger beobachtet. Im Versuch mit zusätzlicher Erythrozytenbeigabe konnte für Octenidin 0,01 % nach 24 h gegen alle getesteten Erreger außer *C. albicans* die geforderte Reduktion ≥ 3 lg-Stufen ermittelt werden.

Polihexanid 0,02 % war ohne Belastung ausschließlich gegen *S. aureus* ≥ 5 lg-Stufen wirksam, nicht jedoch gegen *S. epidermidis*, *E. faecium*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* und *C. albicans*. Unter Belastung war Polihexanid 0,02 % gegen *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. marcescens* und *P. aeruginosa* wirksam, nicht jedoch gegen *C. albicans* und *E. faecium* sowie unter zusätzlicher Erythrozytenbelastung auch nicht gegen *P. aeruginosa*.

Schlussfolgerung: Der Objektträger-test ergab, dass in der klinischen Praxis höhere Konzentrationen und längere Einwirkzeiten des antiseptischen Wirkstoffs erforderlich sein dürften, als aus Ergebnissen des quantitativen Suspensionstests ableitbar ist. Praxisnahe Studien insbesondere mit Belastung und die klinische Testung sind daher unerlässlich, um die tatsächliche Wirksamkeit eines Antiseptikums in der Praxis abschätzen zu können.

Schlussfolgernd erreicht Octenidin 0,02 % unter wundsekretähnlicher Belastung nach 24 h eine ausreichende antiseptische Wirksamkeit und übertrifft Polihexanid 0,02 % deutlich an Effektivität. Mit dieser Octenidinkonzentration wäre die Gewebeverträglichkeit bei der Wundbehandlung erheblich verbessert. Produkte auf Basis von 0,02 % Octenidin könnten somit in der Zukunft eine Alternative zur Behandlung chronischer Wunden darstellen.

4 Summary

Background: Octenidine-based antiseptics with a concentration of 0.1 % are currently the preparations of first choice for the treatment of infected acute wounds. The treatment of chronic wounds, though, requires an antiseptic efficacy and in addition a good local tissue tolerance which increases with lower octenidine concentrations. Therefore, the objective of this study is to compare the antimicrobial efficacy of lower octenidine concentrations with the most commonly used concentration of polihexanide (0.02 %). Instead of the quantitative suspension test a disc carrier test (phase 2 / step 2) was used to achieve more practical conditions.

Material and methods: Gels containing octenidine 0.1 %, 0.05 %, 0.02 %, 0.01 %, 0.005 % and polihexanide 0.02 % were tested. The used test organisms were *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecium*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* and *C. albicans*. The tests were performed without challenge and with Eagle's minimal essential medium with 10 % fetal bovine serum (MEM + 10 % FBS, simulating wound fluid) and additionally in some trials with 1 % erythrocyte concentrate.

0.05 ml of the test strain suspension was placed on the surface of a metal disc, dried and then coated with 0.25 g of the antiseptic gel. After the exposure time (5 min, 30 min, 3 h, 10 h and 24 h) the discs were transferred in a neutralizing agent, the test suspension was elutriated and the number of surviving test organisms was counted. The logarithmic reduction factor was calculated by subtracting the number of surviving test organisms after exposure to antiseptic from the control.

Results: The disc carrier test proved to be suitable to determine the efficacy of wound antiseptics under realistic conditions.

In this practical setting higher concentrations of the antiseptics and longer exposure times were required in order to achieve similar results as in the quantitative suspension test. The main reason is the lack of thorough intermixing of the antiseptic with the pathogen suspension.

After an exposure time of 24 h without challenge octenidine 0.02 % was effective (≥ 5 lg-reduction) against *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecium*, *P. aeruginosa* and less effective against *S. marcescens* and *C. albicans*. With challenge (MEM + 10 % FBS) octenidine 0.02 % was effective (≥ 3 lg-reduction) against all tested organisms. Octenidine 0.01 % reached ≥ 3 lg-reduction against all tested pathogens except for *C. albicans* with challenge MEM + 10 % FBS + 1 % erythrocyte concentrate.

Without challenge polihexanide 0.02 % only reached a sufficient reduction (≥ 5 lg) against *S. aureus*. With challenge (MEM + 10 % FBS) a reduction ≥ 3 lg was determined against *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* and *S. marcescens* but not against *C. albicans* and *E. faecium*. With MEM + 10 % FBS and 1 % erythrocyte concentrate also no efficacy was observed against *P. aeruginosa*.

Conclusion: The disc carrier test demonstrated that in clinical practise higher concentrations of antiseptics and longer exposure times are required than those determined in the quantitative suspension test. Therefore practical settings with challenge and clinical tests are essential in order to assess the effectiveness of an antiseptic in practice.

In conclusion octenidine 0.02 % reached (with wound fluid simulation) after 24 h exposure time a sufficient antiseptic efficacy against all tested organisms. Octenidine 0.02 % obviously exceeded polihexanide 0.02 % in efficacy. With the concentration of 0.02 % the tissue compatibility increased significantly. Therefore, products with octenidine 0.02 % could be a reliable alternative for the treatment of chronic wounds in future.

5 Literaturverzeichnis

- Al-Doori Z, Goroncy-Bermes P, Gemmell CG, Morrison D. Low-level exposure of MRSA to octenidine dihydrochloride does not select for resistance. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59(6): 1280-1281.
- Ansorg R, Rath PM, Fabry W. Inhibition of the anti-staphylococcal activity of the antiseptic polihexanide by mucin. *Arzneimittelforsch* 2003; 53(5): 368-371.
- Assadian O, Kramer A. Antiseptik. In: Kramer A, Assadian O (Hrsg) *Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung*. Stuttgart Thieme 2008: 208-254.
- Assadian O, Kramer A. Wundinfektion und Wundantiseptik. In: Lippert H (Hrsg) *Wundatlas*, 3. Auflage. Stuttgart Thieme 2012: 80-91.
- Bader L, Blumenstock G, Birkner B, Leiß O, Heesemann J, Riemann JF, Selbmann HK. HYGEA (Hygiene in der Gastroenterologie - Endoskop-Aufbereitung): Studie zur Qualität der Aufbereitung von flexiblen Endoskopen in Klinik und Praxis. *Z Gastroenterol* 2002; 40: 157-170.
- Bartoszewicz M, Rygiel A, Krzeminski M, Przondo-Mordarska A. Penetration of a selected antibiotic and antiseptic into a biofilm formed on orthopedic steel implants. *Ortop Traumatol Rehabil* 2007; 9(3): 310-318.
- Behrens-Baumann W, Kramer A. Anti-Infectives against Amebic Keratitis. In: Kramer A, Behrens-Baumann W (eds) *Antiseptic Prophylaxis and Therapy in Ocular Infections. Principles, Clinical Practice and Infection Control*. Basel Karger 2002: 297-303.
- Campbell KE, Keast D, Woodbury G, Houghton P. Wear time in two hydrocolloid dressings using a novel in-vivo model. *Wounds* 2003; 15: 40-48.
- DAC. P152, Polihexanid-Lösung 20 Prozent. DAC (Deutscher Arzneimittel-Codex). Eschborn Govi 2006: 97-112.
- Daeschlein G, Assadian O, Brück JC, Meinel C, Kramer A, Koch S. Feasibility and clinical applicability of polihexanide for treatment of second-degree burn wounds. *Skin Pharmacol Physiol* 2007; 20(6): 292-296.
- DIN EN 13697. Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Quantitativer Oberflächen-Versuch nicht poröser Oberflächen zur Bestimmung der bakteriziden und/oder fungiziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel in den Bereichen Lebensmittel, Industrie, Haushalt und öffentliche Einrichtungen - Prüfverfahren ohne mechanische Behandlung und Anforderungen (Phase 2/Stufe 2); Deutsche Fassung 2001.
- DIN EN 13624. Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Quantitativer Suspensionsversuch zur Prüfung der fungiziden und levuroziden Wirkung im

- humanmedizinischen Bereich - Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2/Stufe 1); Deutsche Fassung 2003.
- DIN EN 14561. Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Quantitativer Keimträgerversuch zur Prüfung der bakteriziden Wirkung für Instrumente im humanmedizinischen Bereich - Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2/ Stufe 2); Deutsche Fassung 2006.
- DIN EN 13727. Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung im humanmedizinischen Bereich - Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2/Stufe 1); Deutsche Fassung 2012.
- Dissemond J, Assadian O, Gerber V, Kingsley A, Kramer A, Leaper DJ, Mosti G, Piatkowski de Grzymala A, Riepe G, Risse A, Romanelli M, Strohal R, Traber J, Vasel-Biergans A, Wild T, Eberlein T. Classification of wounds at risk and their antimicrobial treatment with polihexanide: a practice-oriented expert recommendation. *Skin Pharmacol Physiol* 2011; 24: 245-255.
- Dissemond J, Gerber V, Kramer A, Riepe G, Strohal R, Vasel-Biergans A, Eberlein T. Praxisorientierte Expertenempfehlung zur Behandlung kritisch kolonisierter und lokal infizierter Wunden mit Polihexanid. *Wundmanagement Sonderdruck* 2009; 3(2): 62-68.
- Eberlein T, Assadian O. Clinical use of polihexanide on acute and chronic wounds for antisepsis and decontamination. *Skin Pharmacol Physiol* 2010; 23(Suppl.1): 45-51.
- Eberlein T, Fendler H, Hoffmann M. Ulcus cruris venosum - Prontosan® - Lösung oder Standard-Behandlung? *Die Schwester Der Pfleger* 2006; 45(9): 2-4.
- Ebert M, Assadian O, Hübner NO, Koburger T, Kramer A. Antimicrobial efficacy of the silver wound dressing Biatain Ag in a disc carrier test simulating wound secretion. *Skin Pharmacol Physiol* 2011; 24: 337-341.
- Eisenbeiß W, Siemers F, Amtsberg G, Hinz P, Hartmann B, Kohlmann T, Ekkernkamp A, Albrecht U, Assadian O, Kramer A. Prospective, double-blinded, randomised controlled trial assessing the effect of an Octenidine-based hydrogel on bacterial colonisation and epithelialization of skin graft wounds in burn patients. *Int J Burn Trauma* 2012; 2(2): 71-79.
- Fresenius AG Schweiz. Lavasept Konzentrat. Packungsbeilage, 12.11.1991.
- Friese K, Neumann G, Siebert J. Topical antiseptics as an alternative in the treatment of acute vulvovaginal candidosis. *Arch Gynecol Obstet* 2003; 268(3): 194-197.

- Ganzer D, Völker L, Follak N, Wolf E, Granzow H. Reaktion des hyalinen Gelenkknorpels und der Synovialis auf eine intraartikuläre Instillation von verschiedenen Antiinfektiva. *Arthroskopie* 2001; 14: 31-44.
- Gebel J, Kirsch-Altena A, Exner M, Schwebke I. Prüfung der Wirksamkeit chemischer Desinfektionsmittel. In: Kramer A, Assadian O (Hrsg) *Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung*. Stuttgart Thieme 2008: 601-609.
- Geffers C, Zuschneid I, Sohr D, Rüden H, Gastmeier P. Microbiological isolates associated with nosocomial infections in intensive care units: data of 274 intensive care units participating in the German Nosocomial Infections Surveillance System (KISS). *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2004; 39(1): 15-19.
- Gerli S, Rossetti D, Di Renzo GC. A new approach for the treatment of bacterial vaginosis: use of polyhexamethylene biguanide. A prospective, randomized study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2003; 7(5): 127-130.
- Ghannoum MA, Elteen KA, Ellabib M, Whittaker PA. Antimycotic effects of octenidine and pirtenidine. *J Antimicrob Chemother* 1990; 25(2): 237-245.
- Güzelsagaltici N, Girgin S, Gedik E, Büyükbayram H, Bac B. Intraperitoneal octenidindihydro-chloride-phenoxyethanol solution to prevent peritoneal adhesion formation in a rat peritonitis model. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2007; 86(4): 395-400.
- Hansis M, Jakschik J. Chirurgie und Orthopädie. In: Kramer A, Botzenhart K, Heeg P, (Hrsg) *Krankenhaus- und Praxishygiene*. München Jena Urban Fischer 2001: 456-462.
- Hansmann F, Kramer A, Ohgke H, Strobel H, Müller M, Geerling G. Polyhexamethylbiguanid (PHMB) zur präoperativen Antisepsis bei Kataraktoperation. *Ophthalmologie* 2004; 101(4): 377-383.
- Harbs N, Siebert J. In vitro efficacy of octenidine and polihexanide against biofilms composed of *Pseudomonas aeruginosa*. *GMS Krankenhaushyg Interdisziplinär* 2007; 2(2): Doc45.
- Harke HP. Octenidindihydrochlorid, Eigenschaften eines neuen antimikrobiellen Wirkstoffes. *Zbl Hyg Umweltmed* 1989; 188(1-2): 188-193.
- Harke HP. Moderne Schleimhautantiseptika - Octenidin-dihydrochlorid. Vorgestellt auf dem 2. Ulmer Hygiene Symposium 1997.
- Harke HP, Streeck M. Octenidin - ein neuer antimikrobieller Wirkstoff. *Hyg Med* 1989; 14: 372-374.

- Hinz P, Boenigk I, Ekkernkamp A, Wolf A, Kramer A. Prinzipien der chirurgischen Wundbehandlung. *Chirurgische Praxis* 2007; 68(1): 3-11.
- Högele AM, Neu J. Wundverschluss nach Wundspülung mit Octenisept® ohne Abflussmöglichkeit. *Unfallchirurg* 2011; 114: 70-72.
- Horrocks A. Prontosan wound irrigation and gel management of chronic wounds. *British Journal of nursing* 2006; 15(22): 1222-1228.
- Hübner NO, Assadian O, Sciermoch K, Kramer A. Interaktion von Antiseptika und Antibiotika - Grundlagen und erste Ergebnisse in vitro. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip* 2007; 2(2): Doc59.
- Hübner NO, Kramer A. Review on the efficacy, safety and clinical applications of polihexanide, a modern wound antiseptic. *Skin Pharmacol Physiol* 2010; 23(suppl 1): 17-27.
- Hübner NO, Siebert J, Kramer A. Octenidine dihydrochloride, a modern antiseptic for skin, mucous membranes and wounds. *Skin Pharmacol Physiol* 2010; 23(5): 244-258.
- Hübner NO, Wander K, Ryll S, Lindstedt G, Kramer A. Antibiotikafreie Sanierung von MRSA-positivem Personal. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip* 2009; 4(2): Doc04.
- Hülsemann W, Habenicht R. Severe side effects after Octenisept® irrigation of penetrating wounds in children. *Handchir Mikrochir Plast Chir* 2009; 41: 277-282.
- Hupuczi P, Papp Z. Postoperative ascites associated with intraperitoneal antiseptic lavage. *Obstet Gynecol* 2005; 105(5): 1267-1268.
- Igelbrink D, Koburger T, Simon A, Kramer A. Mikrobiozide Wirksamkeit von Medihoney™. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip* 2007; 2(2): Doc50.
- Ikeda T, Ledwith A, Bamford CH, Harm RA. Interaction of a polymeric biguanide biocide with phospholipid membranes. *Biochim Biophys Acta* 1984; 769: 57-66.
- Ikeda T, Tazuke S, Watanabe M. Interaction of biologically active molecules with phospholipid membranes. I. Fluorescence depolarization studies on the effect of polymeric biocide bearing biguanide groups in the main chain. *Biochim Biophys Acta* 1983; 735: 380-386.
- Kaehn K. In-vitro efficiency of wound rinsing solutions - a comparison of salt solutions and a surfactant containing wound rinsing solution. *ZfW* 2007; 1: 12-17.
- Kalteis T, Lüring C, Schaumburger J, Perlick L, Bähris H, Grifka J. Gewebetoxizität lokaler Antiseptika. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 2003; 141(2): 233-238.
- Kampf G, Schumacher M, Daschner F, Ruden H. Postoperative wound infections in surgery-prevalence in Germany (Nosocomial Infections in Germany-

- Assessment and Prevention Study). *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd* 1996; 113: 698-703.
- Kirkland KB, Briggs JP, Trivette SL, Wilkinson WE, Sexton DJ. The impact of surgical-site infections in the 1990s: attributable mortality, excess length of hospitalization, and extra costs. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20(11): 725-730.
- Koban I, Bender CP, Assadian O, Kramer A, Hübner NO. Clinical use of the antiseptic polihexanide for genital tract infections. *Skin Pharmacol Physiol* 2012; 25: 298-304.
- Koburger T, Hübner NO, Braun M, Siebert J, Kramer A. Standardized comparison of antiseptic efficacy of triclosan, PVP-iodine, octenidine dihydrochloride, polyhexanide and chlorhexidine digluconate. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65: 1712-1719.
- Koburger T, Müller G, Eisenbeiß W, Assadian O, Kramer A. Microbicidal activity of polihexanide. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip* 2007; 2(2): Doc44.
- Körber A, Seipp HM, Hofmann S. Efficacy of different wound dressings on artificial plaques of fibrin. *EWMA J* 2008; 8(2): 261.
- Kramer A. Chlorhexidin, Octenidin. In: von Bruchhausen F, Ebel S, Frahm AW, Hakenthal E, Holzgrube U, Dannhardt G (Hrsg) *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis*, Bd 7, Stoffe A-O. Berlin Springer 1993.
- Kramer A. Antiseptika und Händedesinfektionsmittel. In: Korting HC, Sterry W (Hrsg) *Therapeutische Verfahren in der Dermatologie - Dermatika und Kosmetika*. Berlin Blackwell Wissenschaft 2001: 283-294.
- Kramer A. Chitosan. In: Kramer A, Assadian O (Hrsg) *Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung*. Stuttgart Thieme 2008: 895-896.
- Kramer A, Adrian V, Rudolph P, Wurster S, Lippert H. Explant test of skin and peritoneum of the neonatal rat as predictive test for the compatibility of local antiinfectives in wounds and body cavities. *Chirurg* 1998; 69(8): 840-845.
- Kramer A, Assadian O, Below H, Willy C. Wound antiseptics today - an overview. In: Willy C (ed) *Antiseptics in surgery - update 2013*. Berlin Lindqvist 2013: 85-111.
- Kramer A, Daeschlein G, Kammerlander G, Andriessen A, Aspöck C, Bergemann R, Eberlein T, Gerngross H, Görtz G, Heeg P, Jünger M, Koch S, König B, Laun R, Peter RU, Roth B, Ruef C, Sellmer W, Wewalka G, Eisenbeiß W. Recommendation for the selection of wound antiseptics. *ZfW* 2004a; 3: 110-120.

- Kramer A, Heeg P, Harke HP, Rudolph H, Koch S, Jülich WD, Hingst V, Merka V, Lippert H. Gefährdung der Wundheilung durch Infektionen. In: Kramer A, Gröschel D, Heeg P, Hingst V, Lippert H, Rotter M, Weuffen W (Hrsg) Klinische Antiseptik. Berlin Heidelberg New York Springer 1993: 165-169.
- Kramer A, Hübner NO, Assadian O, Mulder G. Polihexanide - perspectives on clinical wound antiseptics. *Skin Pharmacol Physiol* 2010; 23(Suppl 1): 1-3.
- Kramer A, Kampf G, Oldhafer K, Maier S, Heidecke K-D. Prävention von SSI in der Chirurgie. In: Kramer A, Assadian O, Exner M, Hübner NO, Simon A (Hrsg) Krankenhaus- und Praxishygiene. München Jena Urban Fischer 2011: 294-303.
- Kramer A, Müller G. Mikrobiozide Wirksamkeit, weitere biologische Wirkungen, Verträglichkeit und Abbaubarkeit von Octenidindihydrochlorid. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip* 2007; 2(2): Doc49.
- Kramer A, Müller G. Octenidindihydrochlorid. In: Kramer A, Assadian O (Hrsg) Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung. Stuttgart Thieme 2008: 799-805.
- Kramer A, Müller G, Assadian O. Indikationen und Wirkstoffauswahl zur antiseptischen Therapie sekundär heilender Wunden. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip* 2006; 1(1): Doc32.
- Kramer A, Nickel P. Fliegenmaden von *Lucilia sericata*. In: Kramer A, Assadian O (Hrsg) Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung. Stuttgart Thieme 2008: 898-899.
- Kramer A, Roth B. Polihexanid. In: Kramer A, Assadian O (Hrsg) Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung. Stuttgart Thieme 2008: 789-793.
- Kramer A, Roth B, Müller G, Rudolph P, Klöcker N. Influence of the antiseptic agents polyhexanide and octenidine on FL-cells and on healing of experimental superficial aseptic wounds in piglets. A double-blind, randomised, stratified, controlled, parallel-group study. *Skin Pharmacol Physiol* 2004b; 17(3): 141-146.
- Kramer A, Wallhäußer KH. Wirkungsspektrum und Anwendungseigenschaften häufig aus prophylaktischer Indikation angewandter Antiseptika. In: Kramer A, Gröschel D, Heeg P, Hingst V, Lippert H, Rotter M, Weuffen W (Hrsg) Klinische Antiseptik. Berlin Heidelberg New York Springer 1993: 23-65.
- Krebs FC, Miller SR, Ferguson ML, Labib M, Rando RF, Wigdahl B. Polybiguanides, particularly polyethylene hexamethylene biguanide, have activity against human immunodeficiency virus type 1. *Biomed Pharmacother* 2005; 59(8): 438-445.

- Lademann O, Kramer A, Richter H, Patzelt A, Meinke MC, Roewert-Huber J, Czaika V, Weltmann K-D, Hartmann B, Koch S. Antisepsis of the follicular reservoir by treatment with tissue-tolerable plasma (TTP). *Laser Phys Lett* 2011; 8: 313-317. doi: 10.1002/lapl.201010123.
- Langer S, Sedigh Salakdeh M, Goertz O, Steinau HU, Steintraesser L, Homann HH. The impact of topical antiseptics on skin microcirculation. *Eur J Med Res* 2004; 9(9): 449-454.
- Menke H, Pelzer M, Raff T, Siebert J, Germann G. Ein neues lokales Antiseptikum zur Oberflächenbehandlung bei Schwerstverbrannten. *Akt Traumatol* 2001; 31(5): 211-215.
- Messick CR, Pendland SL, Moshirfar M, Fiscella RG, Losnedahl KJ, Schriever CA, Schreckenberger PC. In-vitro activity of polyhexamethylene biguanide (PHMB) against fungal isolates associated with infective keratitis. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44(2): 297-298.
- Müller G, Koburger T, Jethon FUW, Kramer A. Comparison of the bactericidal efficacy and in vitro cytotoxicity of Lavasept® and Prontosan®. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip* 2007; 2(2): Doc42.
- Müller G, Kramer A. In vitro action of a combination of selected antimicrobial agents and chondroitin sulfate. *Chem Biol Interact* 2000; 124(2): 77-85.
- Müller G, Kramer A. Effect of selected wound antiseptics on adult articular cartilage (bovine sesamoid bone) in the presence of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Orthop Res* 2005a; 23(1): 127-133.
- Müller G, Kramer A. Investigations of in-vitro biocompatibility of octenidine - how do they affect the 2004 consensus recommendation?. *Abstract ZfW* 2005b; (Suppl 2): 8.
- Müller G, Kramer A. Wechselwirkung von Octenidin und Chlorhexidin mit Säugerzellen und die resultierende Mikrobiozidie (Remanenzverhalten) der Reaktionsprodukte. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip* 2007; 2(2): Doc 46.
- Müller G, Kramer A. Biocompatibility index of antiseptic agents by parallel assessment of antimicrobial activity and cellular cytotoxicity. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61(6): 1281-1287.
- Olivieri J, Eigenmann PA, Hauser C. Severe anaphylaxis to a new disinfectant: polyhexanide, a chlorhexidin polymer. *Schweiz Med Wochenschr* 1998; 128(40): 1508-1511.
- Pitten FA, Werner HP, Kramer A. A standardized test to assess the impact of different organic challenges on the antimicrobial activity of antiseptics. *J Hosp Infect* 2003; 55(2): 108-115.

- Roth B, Assadian O, Wurmitzer F, Kramer A. Surgical site infections after primary antiseptic cleansing of dirty-contaminated wounds by polihexanide, PVP iodine resp. hydrogen peroxide. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip* 2007; 2(2): Doc58.
- Roth B, Kramer A. Antiseptische Begleittherapie des Ulcus cruris mit Polihexanid. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip* 2009; 4(2): Doc16.
- Roth C, Beule AG, Kramer A, Hosemann W, Kohlmann T, Scharf C. Response analysis of stimulating efficacy of polihexanide in an in vitro wound model with respiratory ciliary epithelial cells. *Skin Pharmacol Physiol* 2010; 23(Suppl1): 35-40.
- Rüttermann M, Maier-Hasselmann A, Nink-Grebe B, Burckhardt M. Clinical practice guideline: local treatment of chronic wounds in patients with peripheral vascular disease, chronic venous insufficiency and diabetes. *Dtsch Arztebl Int* 2013; 110(3): 25-31.
- Schupp CJ, Holland-Cunz S. Persistent subcutaneous oedema and aseptic fatty tissue necrosis after using Octenisept®. *Eur J Pediatr Surg* 2009; 19(3): 179-183.
- Sedlock DM, Bailey DM. Microbicidal activity of octenidine hydrochloride, a new alkanediylbis[pyridine] germicidal agent. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 28(6): 786-790.
- Seipp HM, Hofmann S, Hack A, Skowronsky A, Hauri A. Wirksamkeit verschiedener Wundspüllösungen gegenüber Biofilmen. *ZfW* 2005; 4: 160-164.
- Simon A. Medihoney. In: Kramer A, Assadian O (Hrsg) *Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung*. Stuttgart Thieme 2008: 896-898.
- Slee AM, O'Connor JR. In vitro antiplaque activity of octenidine dihydrochloride (WIN 41464-2) against preformed plaques of selected oral plaque-forming microorganisms. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; 23(3): 379-384.
- Slot N, Siebert J, Hoffler U. Eradication of MRSA from carriers by means of whole-body washing with an antiseptic in combination with mupirocin nasal ointment. *Zbl Hyg Umweltmed* 1999; 202(6): 513-523.
- Sopata M, Ciupinska M, Glowacka A, Muszynski Z, Tomaszewska E. Effect of Octenisept antiseptic on bioburden of neoplastic ulcers in patients with advanced cancer. *J Wound Care* 2008; 17(1): 24-27.
- Stahl J, Braun M, Siebert J, Kietzmann M. The effect of a combination of 0,1 % octenidine dihydrochloride and 2 % 2-phenoxyethanol (octenisept®) on wound healing in pigs in vivo and its in vitro percutaneous permeation through intact and barrier disrupted porcine skin. *Int Wound J* 2010; 7: 62-69.

- Steinhauer K. Nutzen der EN-Prüfungen von Desinfektionsmitteln. *Reinraum Technik* 2006; 3: 20-24.
- Tompkins RG, Burke JF. Infections of Burn Wounds. In: Bennet JV, Brachman PS, (eds) *Hospital Infections*, 3d ed. Boston Little Brown 1992: 711-730.
- Vanscheidt W, Bär M, May TW, Siebert J. Affecting the wound healing process of chronic ulcers by an octenidine based wound antiseptic. *Hyg Med* 2005; 30(5): 153-158.
- Völz AYSC. Ausbrüche von *Serratia marcescens* auf neonatologischen und pädiatrischen Intensivstationen. Klinische Aspekte, Risikofaktoren und Ausbruchsmanagement. *Diss Med Fak Univ Bonn* 2010.
- Wenzel RP, Perl TM. The significance of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and the incidence of postoperative wound infection. *J Hosp Infect* 1995; 31(1): 13-24.
- Werner HP, Kramer A. Mikrobiologische Anforderungen an lokale Antiinfektiva unter spezieller Berücksichtigung der antiinfektiven Wundbehandlung. In: Kramer A, Wendt M, Werner HP (Hrsg) *Möglichkeiten und Perspektiven der klinischen Antiseptik*. Wiesbaden mhp 1995: 26-30.
- Zöllner H, Kramer A, Youssef P, Youssef U, Adrian V. Orientierende Untersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit von ausgewählten mikrobiziden Wirkstoffen. *Hyg Med* 1995; 20: 401-417.

Anhang

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. habil. Axel Kramer für die freundliche Überlassung des Themas, die ausgezeichnete Hilfestellung und die freundschaftliche Betreuung. Des Weiteren danke ich den Herren PD Dr. med. Nils-Olaf Hübner, PD Dr. rer. nat. Harald Below und Dr. rer. nat. Gerald Müller sowie Frau Gudrun Lindstedt und Frau Brigitte Sümnick für die Ratschläge bei modellspezifischen Problemen und bei der Fertigstellung der Arbeit.

Ebenso gilt mein Dank der Firma Schülke & Mayr, die die Arbeit durch Materialien und finanzielle Unterstützung ermöglichte.

Ein spezieller Dank gilt Frau Dr. Claudia Hildebrandt sowie Norbert, Ursula und Paul Brautferger und Jan Gramberg für ihre motivierende Begleitung und Hilfe.