

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

**Interaktion von β -Lactam-Antibiotika mit den Antiseptika
Octenidindihydrochlorid, Polihexanid und Chlorhexidindigluconat**

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

2010

vorgelegt von: Lisa Hübinger
geboren am: 30.11.1984
in: Marl

Dekan: Prof. Dr. Heyo K. Kroemer
1. Gutachter: Prof. Dr. A. Kramer
2. Gutachter: Prof. Dr. H. von Baum
Tag der Disputation: 16.04.2012
Ort, Raum: Greifswald, Seminarraum Insitut für Medizinische
Mikrobiologie, M.-Luther-Str. 6

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AMP 10	Ampicillin 10 µg
ATCC	American Type Culture Collection
Aqua dest.	Aqua destillatum
CAZ 30	Ceftazidim 30 µg
CBA	Columbia Blutplattenagar
CF	Cystische Fibrose
CHX	Chlorhexidindigluconat
CSA	Casein-Sojamehl-Pepton-Agar
E. coli	Escherichia coli
E. faecium/faecalis	Enterococcus faecium/faecalis
HHD	Hemmhofdurchmesser
IMP 10	Imipenem 10 µg
KBE	Koloniebildende Einheit
Ko.....	Kontrolle
MHK	minimale Hemmkonzentration
MRSA	Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus
NaCl	Natriumchlorid
NCTC	National Collection of Type Cultures
OCT	Octenidindihydrochlorid
OX 5	Oxacillin 5 µg
PHMB	Polihexanid
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
S. aureus.....	Staphylococcus aureus
S. epidermidis	Staphylococcus epidermidis
Tab.....	Tabelle
TZP 110	Piperacillin + Tazobactam 110 µg

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1 Einleitung.....	5
1.1 Problemstellung	5
1.2 Abgrenzung Antiseptikum und Chemotherapeutikum	5
1.3 Charakterisierung der zur Prüfung ausgewählten Antiseptika	6
1.4 Charakterisierung der als Kombinationspartner ausgewählten Antibiotika	9
2 Eigene Untersuchungen.....	12
2.1 Vorversuche und Entwicklung der Methode.....	12
2.1.1 Material und Methode	12
2.1.2 Ergebnisse der MHK-Bestimmung.....	21
2.1.3 Diskussion und Schlussfolgerung	23
2.2 Hauptversuche zur Ermittlung der Interaktion.....	28
2.2.1 Material und Methodik	28
2.2.2 Ergebnisse.....	54
2.2.3 Diskussion	72
2.2.4 Weiterführende Gedanken und Schlussfolgerungen	77
3 Zusammenfassung	81
4 Summary.....	82
5 Literaturverzeichnis.....	83

Anhang

Eidesstattliche Erklärung

Lebenslauf

Danksagung

1 Einleitung

1.1 Problemstellung

Durch die Einführung des Penicillins 1940 und weiterer Antibiotika ist der Verbrauch an Antiseptika in diesen Jahren zunächst zurückgegangen^{[44][65]}. Die aufkommende Resistenzentwicklung gegen verschiedene Antibiotika^{[2][69]} bedingte allerdings eine sogenannte „*Renaissance der Antiseptik*“^[41].

Im heutigen Klinikalltag werden Antibiotika und Antiseptika oft in Kombination zur chronischen Wundbehandlung eingesetzt. Trotz dieser häufig praktizierten parallelen Gabe ist über Interaktionen dieser beiden Antiinfektiva wenig bekannt. Als derartige Interaktionsmöglichkeiten kommen Synergismus, Additivität, und Antagonismus - je nach Art der Dosis-Wirkungs-Beziehung (linear - nicht linear)^[36] – in Betracht.

1.2 Abgrenzung Antiseptikum und Chemotherapeutikum

Desinfektionsmittel (Desinfektion (franz.) = totes oder lebendes Material in einen Zustand versetzen, dass es nicht mehr infizieren kann) setzen definitionsgemäß eine Keimreduktion von mindestens fünf log-Stufen voraus (Deutsches Arzneimittelbuch). Auf lebendem Gewebe angewendet handelt es sich um Antiseptika^[27]. Sie haben zwei Einsatzgebiete: zur Prophylaxe angewendet verhindern sie eine Kolonisation mit ggf. nachfolgender Infektion; therapeutisch angewandt dienen sie der Bekämpfung einer bereits vorliegenden Infektion^{[41][42]}. Sie werden ausschließlich lokal angewandt.

Antibiotika sind als Substanzen definiert, die primär von Mikroorganismen gebildet werden und andere Mikroorganismen im Wachstum hemmen (bakteriostatisch) oder abtöten (bakteriozid). Dieser Begriff findet im Sprachgebrauch oft einen fließenden Übergang mit dem Wort Chemotherapeutikum (eine synthetisch hergestellte Substanz mit antimikrobieller Wirkung)^[34].

Aufgrund der Unterschiede hinsichtlich chemischer Struktur, therapeutischer Verwendung und antibakterieller Wirkungsweise unterscheidet sich die Resistenzproblematik für Antiseptika und Antibiotika. Antibiotika sind durch einen spezifischen Wirkungsmechanismus gekennzeichnet, d. h. es existieren spezifische Targets. In Verbindung damit ist ihre Wirkung im Vergleich zu Antiseptika langsam und meist lediglich mikrobiostatisch^[28]. Damit verbunden

ist zugleich das Risiko einer spezifischen Resistenzentwicklung. Bei Antiseptika mit mikrobiozider Wirkung, z. B. durch Depolarisation der Zellwand oder Blockade des exogenen Stoffwechsels der Bakterien^{[28][73]}, ist keine Resistenzentwicklung im Bereich mikrobiozid wirksamer Konzentrationen bekannt. Gleiches gilt für Desinfektionswirkstoffe^{[37][51][54]}; die Möglichkeit der Resistenzentwicklung gegen Formaldehyd ist ohne praktische Relevanz^[52]. Sofern Antiseptika auf der Basis eines spezifischen Wirkungsmechanismus nur mikrobiostatisch wirken, besteht jedoch das Risiko einer Resistenzentwicklung. Beispiele sind Benzalkoniumchlorid^[1], Cetylpyridiniumchlorid^[33], Chlorhexidin^[35] und Triclosan^{[46][47]}. Die Deutsche Gesellschaft für Wundheilung und Wundbehandlung (DGfW) empfiehlt für Wundantiseptika eine maximale Anwendungsdauer von 8 d, d. h. nur während der Infektionsphase^[79]. Antibiotika sollen nicht lokal auf Wunden, sondern nur systemisch angewendet werden und nur dann, wenn die Wundinfektion nicht mehr durch alleinige Antiseptik beherrschbar ist. Das hat folgende Gründe:

- Risiko der Resistenzentwicklung durch Nichterreichen ausreichender Wirkspiegel in der Wundtiefe,
- im Vergleich zu modernen Antiseptika höhere Zytotoxizität und Sensibilisierungspotenz,
- anstatt mikrobiozide nur mikrobiostatische Wirkung, damit wird die Wirksamkeit von Antiseptika nicht erreicht^[45].

Voraussetzung für den Therapieerfolg der Antibiotika sind stoffwechselaktive Bakterien^[73] und eine gute Durchblutung^{[53][59][73]}. Häufig werden Antibiotika und Antiseptika in der Behandlung chronischer Wunden kombiniert, da die häufigsten Erreger von Wundinfektionen ausgeprägte Resistenzen gegen Lokalantibiotika aufweisen und zum anderen bei klinischen Symptomen einer Allgemeininfektion mit eventueller Generalisierung eine systemische Antibiose benötigt wird^{[42][59][73]}.

1.3 Charakterisierung der zur Prüfung ausgewählten Antiseptika

Die von uns verwendeten Antiseptika weisen folgendes Wirkspektrum auf (Tab. 1):

Tab.1 Wirkspektrum der geprüften Antiseptika ^{[46][48][49][68]}

AS	grampos. Bakterien	gramneg. Bakterien	Pilze	Protozoen	Bakterien-sporen	Viren
OCT	+	+	+	?	-	HBV, HSV
PHMB	+	+	+	+	-	HIV
CHX	+	nur in hohen Konz.	nur in hohen Konz.	-	-	HIV, HBV

Octenidindihydrochlorid (OCT)

Das Breitband-Antiseptikum OCT (Abb. 1) gehört zur Bispyridin-Gruppe und hat vier NH₂-Gruppen, von denen zwei protoniert sind (kationenaktive Zentren). Es wird in Form von Octenisept[®] 0,1%ig mit 2 % Phenoxyethanol kombiniert angewendet. Durch die Kombination mit dem Alkohol ergibt sich eine Wirkungssteigerung^[43]. Physikalisch ist es oberflächenaktiv und stabil, auch gegenüber Licht, bei einem pH-Wert von 1,6 bis 12,2. Es ist geruch- und farblos und weist eine Remanenzwirkung auf. Die beiden positiven Zentren binden an negative Zelloberflächen und reagieren mit Polysacchariden der Zellmembran. Dadurch entstehen Störungen bei Enzymen, der Zytoplasmamembran^{[22][26][38]} sowie in der Zell- und in der Mitochondrienfunktion^[20]. Vom Membranangriffspunkt her ähnelt OCT damit CHX und PHMB^[23]. Einsatzgebiete sind laut BfArM der Zusatz zu Händedesinfektionsmitteln, die Antiseptik von Haut, Schleimhaut und Wunden^[72]. Als Kontraindikationen gelten Spülungen der Bauchhöhle, der Harnblase, die Anwendung am Trommelfell, das Einbringen unter Druck in Stichverletzungen und die parallele Anwendung von PVP-Iod (Freisetzung von Iodradikalen)^[50].



Abb. 1: Struktur von OCT

Polihexanid (PHMB)

Das Breitband-Antiseptikum PHMB (Polyhexamethylenbiguanid, Abb. 2) gehört zu den Diguaniden und wird häufig zur Verbesserung der Benetzbarkeit mit Macrogolum (z. B. in Lavasept und Lavasorb) kombiniert. Physikalisch ist es farblos bis leicht gelblich, hat 20 % Wirkstoffgehalt und kationische Eigenschaften. Es ist stabil in einem pH-Bereich von 5-8 und beeinflusst selektiv die Permeabilität der Zellmembran^{[30][31][32]}. Hier weist es eine besonders starke Wirkung gegen saure Membranlipide und eine abgeschwächte Wirkung gegen neutrale Lipide auf. Daraus folgt eine Hemmung verschiedener metabolischer Prozesse^{[11][58]}. Einsatzgebiete sind der Zusatz zu Händedesinfektionsmitteln, die Antiseptik auf Haut, Schleimhäuten (z. B. Mundhöhle), dem Auge^[39] sowie auf Wunden und neuerdings auch antiseptische Wundauflagen^{[55][70]}. Es gilt als Antiseptikum der 1. Wahl bei schlecht heilenden und chronischen Wunden. Als Kontraindikationen gelten Allergien gegen Inhaltsstoffe, hyaliner Knorpel (eventuelle Schädigung), Peritonealspülung, Anwendung im ZNS, Mittel- und Innenohr sowie die parallele Gabe von anionischen Tensiden, Seifen, Ölen und Salben. Ferner wird es als Kombinationspartner in Instrumenten- und Flächendesinfektionsmitteln sowie in Kontaktlinsenaufbereitungslösungen eingesetzt.

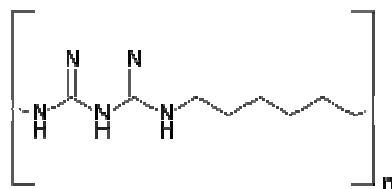


Abb. 2: Struktur von PHMB

Chlorhexidin (CHX)

Das Antiseptikum Chlorhexidin (1,1-Hexamethylenbis[5-(4-chlorphenyl)]biguanid; Chlorhexidinbis (D-gluconat), Abb.3) gehört zur Gruppe der halogenierten Biguanide. Es ist zu etwa 70 % in Wasser löslich; der optimale pH-Wert liegt bei 5-8 und bei Temperaturen über 70 °C nimmt die Instabilität zu. Angriffspunkt ist die Zytoplasmamembran, ein Wirkmechanismus, der auch von verschiedenen Antibiotika bekannt ist^[57]. Das Antiseptikum lagert sich an negativ geladene Abschnitte und neutralisiert so die Oberflächenladung^[12]. Niedrigere Konzentrationen führen zum Herauslösen von Bestandteilen

(bakteriostatisch), höhere Konzentrationen zur Koagulation und Enzymhemmung (bakteriozid)^[24]. Die Toxizität wird mäßig bis hoch eingestuft^[40]. Als Einsatzgebiete gelten in erster Linie die Mundhöhle, die Vagina sowie die Sanierung von MRSA Trägern. Als Kontraindikationen gelten Allergien gegen Inhaltsstoffe, bradytrophes Gewebe, Peritonealspülung, das Auge ($\geq 0,05\%$) sowie das ZNS^{[19][25]}.

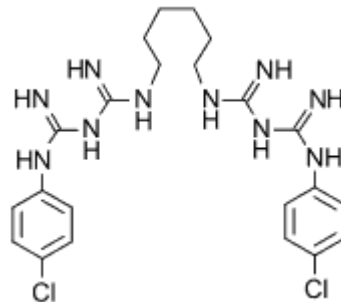


Abb. 3: Struktur von CHX

1.4 Charakterisierung der als Kombinationspartner ausgewählten Antibiotika

Es wurden als β -Lactam-Antibiotika (Abb. 4) drei Penicilline (Oxacillin, Ampicillin und Piperacillin + Tazobactam), ein Carbapenem (Imipenem) und ein Cephalosporin (Ceftazidim) getestet. Diese Antibiotikagruppe wirkt bakteriozid auf proliferierende Bakterien und weist eine große therapeutische Breite auf^[34]. Der spezifische β -Lactamring dieser Antibiotika reagiert im letzten Schritt der Zellwandsynthese (Quervernetzung) mit entscheidenden Enzymen (Transpeptidasen und Carboxypeptidasen, PBP)^{[34][6][59][73]}. Die daraus resultierenden Störungen im Mureinaufbau führen zu einem osmotisch bedingten Zelluntergang^[34].

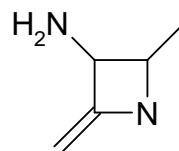


Abb. 4: β -Lactamring

Oxacillin

Oxacillin gehört zu den Isoxazolympenicillinen (Abb. 5), die auch Staphylokokkenpenicilline genannt werden. Diese Untergruppe ist säure- und penicillinase stabil (Applikation oral oder parenteral). Penicillinasen (eine von

vielen β -Lactamasen-Formen)^{[7][8][56][66][71]} spalten hydrolytisch den β -Lactamring von Penicillinen vor deren Wirkung an den Zellwandsyntheseenzymen^[34]. Die Eigenschaft der Penicillinastabilität begründet den auf Penicillinase-bildende Staphylokokken (*S. aureus* und *S. epidermidis*) konzentrierten Einsatz (Schmalspektrumpenicilline). Eine schlechte Gewebe- und Liquorgängigkeit schränkt das Einsatzgebiet weiter ein^[34].

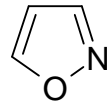


Abb. 5: Isoxazolring

Ampicillin

Ampicillin gehört zu den Aminopenicillinen, die eine zusätzliche NH_2 -Gruppe aufweisen. Diese Untergruppe ist säure- aber nicht penicillinastabil. Eine orale Anwendung ist somit beim Ampicillin theoretisch möglich; die intravenöse Gabe wird jedoch bevorzugt^{[74][76][77]}. Das Wirkspektrum ist vergleichbar mit dem von Penicillin G (jedoch schwächer), aber mit zusätzlicher Wirkung im Bereich gramnegativer Stäbchenbakterien und Enterokokken. Im Bereich von Problemerregern^[34] sind die Resistenzraten jedoch hoch.

Imipenem

Imipenem gehört zu den Carbapenemen und wird in Kombination mit Cilastatin (reversibler Dehydropeptidase I-Inhibitor), das die schnelle renale Metabolisierung des Antibiotikums herabsetzt, verabreicht^{[4][60]}. Carbapeneme weisen das breiteste Wirkspektrum auf, verlieren langsam ihre Bedeutung als Reserveantibiotikum und werden ausschließlich intravenös verabreicht^[34]. Das Wirkspektrum umfasst auch multiresistente Stämme^[9].

Piperacillin + Tazobactam

Piperacillin ist ein Acylaminopenicillin, das weder säure- noch penicillinastabil ist (parenterale Applikation). Es wirkt im gleichen Bereich wie Penicillin G (jedoch schwächer), aber erweitert im gramnegativen und Problemerregerbereich. Es weist das breiteste Spektrum aller Penicilline auf^[34]. Piperacillin kann in Kombination mit Tazobactam (β -Lactamase-Inhibitor) gegeben werden (Tazobac). Der Inhibitor erweitert das Wirkspektrum durch

Aufhebung Penicillinase-bedingter Resistenzen (eigener β -Lactam-Ring geht mit den Bakterienenzymen eine irreversible Bindung ein)^[67], weist selbst aber nur eine geringe antibakterielle Wirkung auf^[62]. Die Gabe erfolgt intravenös^[34].

Ceftazidim

Die Gruppe der Cephalosporine (Derivate der 7-Aminocephalosporansäure) lässt sich in parenterale Gruppen (Gruppe 1, 2, 3a und 3b) und eine orale Gruppe (1.-3. Generation) einteilen. Diese Unterteilung beruht auf den verschiedenen Wirkspektren. Ceftazidim gehört zur Gruppe 3b^[61]. Es weist ein sehr breites Spektrum auf, das auch Pseudomonaden beinhaltet. Das begründet den Einsatz bei lebensbedrohlichen Infektionen mit Beteiligung dieses Erregers (eventuelle Kombination mit Aminoglykosiden)^[34].

2 Eigene Untersuchungen

2.1 Vorversuche und Entwicklung der Methode

Wir haben die Interaktionsmöglichkeiten der Antibiotika Oxacillin, Ampicillin, Imipenem, Piperacillin + Tazobactam und Ceftazidim mit den drei Antiseptika OCT, PHMB und CHX auf folgenden Agarsorten untersucht:

- Müller-Hinton-Agar
- Isosensitest-Agar
- Casein-Sojamehl-Pepton (CS)-Agar
- Müller-Hinton-Agar mit 5% defibriniertem Schafblut (Blutagar).

Für die Hauptversuche benötigten wir die MHK's der nachfolgend aufgeführten Erreger für die Antiseptika auf den verschiedenen Agarsorten (mittels Mikroagardilutionsmethode im Doppelversuch bestimmt): *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 6538, Norddeutscher MRSA, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* ATCC 6057, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *P. aeruginosa* ATCC 15442, mukoidbildender *P. aeruginosa* (CF-Patientin, Abnahmedatum 20.11.2007), *E. coli* NCTC 10538 und *E. coli* ATCC 11229.

2.1.1 Material und Methode

Verwendetes Material und Geräte:

Octenidindihydrochlorid; Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt

Polihexanid-Lösung 20 %; Fagron GmbH & Co. KG, Barsbüttel

Chlorhexidindigluconat 20 % water; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Schnelldorf

Müller-Hinton-Agar; Merck KGaA, Darmstadt

Zusammensetzung (g/l):	Fleischinfus	2,0 g
	Caseinhydrolysat	7,5 g
	Stärke	1,5 g
	Agar	13,0 g
	Aqua. dest.	1 l
	pH 7,4	+/- 0,2

CSA Agar; Roth GmbH + Co KG, Karlsruhe

Zusammensetzung (g/l):	Pepton aus Casein (Pankreashydrolysat)	15,0 g
	Pepton aus Soja (Papainhydrolysat)	5,0 g
	NaCl	15,0 g
	Agar	15,0 g
	Aqua dest.	1 l
	pH 7,3	+/- 0,2

Isosensitest Agar; Oxoid Deutschland GmbH, Wesel

Zusammensetzung (g/l):	Casein-Hydrolysat	11,0 g
	Peptone	3,0 g
	Glucose	2,0 g
	NaCl	3,0 g
	Stärke	1,0 g
	Dinatriumhydrogenphosphat	2,0 g
	Natriumacetat	1,0 g
	Magnesiumglycerophosphat	0,2 g
	Calciumgluconat	0,2 g
	Kobalt(II)Sulfat	0,001 g
	Kupfer(II)Sulfat	0,001 g
	Zinksulfat	0,001 g
	Eisen(II)Sulfat	0,001 g
	Mangan(II)Chlorid	0,002 g
	Menadion (Vitamin K 3)	0,001 g
	Cyanocobalamin (Vitamin B 12)	0,001 g
	L-Cystein	0,02 g
	L-Tryptophan	0,02 g
	Pyridoxin (Vitamin B 6)	0,003 g
	Pantothenat	0,003 g
	Nicotinamid	0,003 g
	Biotin	0,0003 g
	Thiamin	0,00004 g
	Adenin	0,01 g
	Guanin	0,01 g
	Xanthin	0,01 g

Uracil	0,01 g
Agar	8,0 g
Aqua dest.	1 l
pH 7,4	+/-0,2

Columbia Blutplatten (COL-S), 5 % Schafblut (SB); Heipha Dr. Müller GmbH, Eppelheim

Defibriniertes Schafblut; Oxoid Deutschland GmbH, Wesel

Aqua dest., deionisiert und sterilisiert

NaCl 0,9 %; sterilisiert

Glasperlen mit Testorganismen beschichtet (Lagerung bei – 20°C)

100 µl- und 1000 µl- Pipetten; Eppendorf AG, Hamburg

8-er Pipette Research; Eppendorf AG, Hamburg

Stepper 411; Socorex Swiss, Ecublens, Schweiz

Ecostep 37,5 ml Pipettenspitzen (für den Stepper) Socorex Swiss, Ecublens, Schweiz

200 µl Pipettenspitzen gelb; Sarstedt AG & Co, Nümbrecht

1000 µl Pipettenspitzen blau; Sarstedt AG & Co, Nümbrecht

100 µl Filterspitzen SafeSeal-Tips professional; Biozym Scientific GmbH, Hess. Oldendorf

1000 µl Filterspitzen SafeSeal-Tips professional; Biozym Scientific GmbH, Hess. Oldendorf

Sterile Mikrotiterplatten Multiple well plate 96-well, Flat Bottom with Lid, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht

Gelbe Schraubröhrchen mit Spitzboden, 15 ml, 120 x 17 mm, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht

Bechergläser 150/250 ml Volumen; Schott AG, Mainz

Maßkolben 10 ml Volumen; Vitlab GmbH, Großostheim

Glasflaschen BORO 3.3 Volumen 100/250/500 ml; Schott AG, Mainz

Rührfische, verschieden Größen

Röhrchenständer; Nalgene, Roskilde, Dänemark

Vortexer REAX 2000; Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach

Schüttler-Gerät KS 125 basic; IKA Werke GmbH & Co. KG, Staufen

Colony Counter; Dunn Labortechnik GmbH, Asbach

Wasserbad Typ 1004 von GFL (Gesellschaft für Labortechnik mbH), Burgwedel

Brutschrank (auf 37°C eingestellt), Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach

Bunsenbrenner

Heiz-Rührgerät MR 3001K; Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach

Heizplatte Thermoplate S; Desaga GmbH, Wiesbach

Schüttelplatte THYS 2; mLw, Ilmenau

Waage BP 610-OCEV1; Sartorius AG, Göttingen

UV-Gerät Longlife TM Filter, highest ultraviolet Intensity; Spectroline, Canada.

Herstellung der Antiseptika-Stammlösungen und -Verdünnungsreihen:

Von den drei Antiseptika werden zunächst Stammlösungen hergestellt, die im Kühlschrank (+2°C bis +8°C) unter Lichtausschluss zu lagern sind.

OCT: Zur Herstellung einer Stammlösung mit einer Konzentration von 1024 µg/ml werden auf der Feinwaage 0,1024 g Octenidindihydrochloridpulver (100 % Wirkstoffgehalt) in einem 100 ml Kolben abgewogen. Der Kolben wird bis zur 100 ml Markierung mit sterilem Aqua dest. aufgefüllt. Durch leichtes Schwenken auf dem Schüttler wird das Auflösen des Pulvers beschleunigt. Bis das Pulver komplett aufgelöst ist, kann es allerdings einige Tage dauern.

PHMB: Auch diese Stammlösung soll eine Konzentration von 1024 µg/ml haben. Die PHMB-Lösung weist einen Wirkstoffgehalt von 20 % auf. Davon ausgehend, dass ein Wirkstoffgehalt von 100 % einer Konzentration von 1000 mg/ml entspricht, enthält unsere 20 %ige Lösung 200 mg/ml. Über einen Dreisatz wird das benötigte Volumen berechnet, um die Endkonzentration von 1024 µg/ml zu erreichen: $200 \text{ mg}/1 \text{ ml} = 1,024 \text{ mg}/x \text{ ml}$

$$x = 0,00512 \text{ ml}$$

Bei einem gewünschten Volumen von 100 ml Stammlösung werden somit 0,512 ml PHMB benötigt. Die Differenz wird mit sterilem Aqua dest. aufgefüllt und der 100 ml Kolben geschwenkt.

CHX: Auch die dritte Stammlösung soll eine Konzentration von 1024 µg/ml aufweisen. Die CHX- Lösung weist einen Wirkstoffgehalt von 80 % auf. Davon ausgehend, dass ein Wirkstoffgehalt von 100 % einer Konzentration von 1000 mg/ml entspricht, enthält unsere 80 %ige Lösung 800 mg/ml. Über einen Dreisatz wird das benötigte Volumen berechnet, um die Endkonzentration von 1024 µg/ml zu erreichen: $800 \text{ mg}/1 \text{ ml} = 1,024 \text{ mg}/x \text{ ml}$

$$x = 0,00128 \text{ ml}$$

Bei einem gewünschten Volumen von 100 ml Stammlösung werden somit 0,128 ml CHX benötigt. Die Differenz wird mit sterilem Aqua dest. aufgefüllt und der 100 ml Kolben geschwenkt.

Die geometrischen Verdünnungsreihen^[78] werden nach dem folgendem Schema erstellt:

Schritt 1:	3 ml Stammlösung mit 3 ml Medium = 2 ml mit	512 µg/ml
Schritt 2:	1 ml von Schritt 1 mit 1 ml Medium = 2 ml mit	256 µg/ml
Schritt 3:	1 ml von Schritt 1 mit 3 ml Medium = 4 ml mit	128 µg/ml
Schritt 4:	1 ml von Schritt 1 mit 7 ml Medium = 8 ml mit	64 µg/ml
Schritt 5:	1 ml von Schritt 4 mit 1 ml Medium = 2 ml mit	32 µg/ml
Schritt 6:	1 ml von Schritt 4 mit 3 ml Medium = 4 ml mit	16 µg/ml
Schritt 7:	1 ml von Schritt 4 mit 7 ml Medium = 8 ml mit	8 µg/ml
Schritt 8:	1 ml von Schritt 7 mit 1 ml Medium = 2 ml mit	4 µg/ml
Schritt 9:	1 ml von Schritt 7 mit 3 ml Medium = 4 ml mit	2 µg/ml
Schritt 10:	1 ml von Schritt 7 mit 7 ml Medium = 8 ml mit	1 µg/ml
Schritt 11:	1 ml von Schritt 10 mit 1 ml Medium = 2 ml mit	0,5 µg/ml
Schritt 12:	1 ml von Schritt 10 mit 3 ml Medium = 4 ml mit	0,25 µg/ml
Schritt 13:	1 ml von Schritt 10 mit 7 ml Medium = 8 ml mit	0,125 µg/ml
Schritt 14:	1 ml von Schritt 13 mit 1 ml Medium = 2 ml mit	0,0625 µg/ml
Schritt 15:	1 ml von Schritt 13 mit 3 ml Medium = 4 ml mit	0,03125 µg/ml
Schritt 16:	1 ml von Schritt 13 mit 7 ml Medium = 8 ml mit	0,015625 µg/ml
Schritt 17:	1 ml von Schritt 16 mit 1 ml Medium = 2 ml mit	0,0078125 µg/ml
Schritt 18:	1 ml von Schritt 16 mit 3 ml Medium = 4 ml mit	0,00390625 µg/ml

Die Stammlösung ist das jeweilige Antiseptikum in der hergestellten Konzentration von 1024 µg/ml; als Medium dient steriles Aqua dest. Für unsere Versuche werden von OCT die Schritte 4 bis 10; für PHMB die Schritte 3 bis 8 und für CHX die Schritte 0 (unverdünnt) bis 11 verwendet. Diese Konzentrationen orientieren sich an Werten, die im Mikroagardilutionsverfahren bereits bestimmt wurden.

Herstellung der Agarsorten:

Die vier Agarsorten werden nach folgendem Prinzip hergestellt: Zunächst werden die benötigten Mengen des Pulvers eingewogen (nach

Herstellieranleitung). Für die Vorversuche werden 100 ml Agarflaschen hergestellt. Für den Müller-Hinton-Agar werden 3,4 g Pulver mit 100 ml Aqua dest. gemischt. Bei Isosensitest sind es 3,14 g und bei CSA 4 g mit jeweils dem gleichen Volumen Aqua. dest. Bei der Herstellung des Blutagars werden 3,4 g Müller-Hinton-Pulver eingewogen und mit 95 ml Aqua dest. und 5 ml defibriniertem Schafblut (nach dem Autoklavieren) gemischt. In jede Flasche mit Pulver und Aqua dest. wird ein Rührfisch gegeben, die Flaschen geschüttelt und anschließend auf die Heizrührplatten gestellt. Im Anschluss werden sie für 20 min bei 121 °C autoklaviert. Vor der Zugabe des Agars in die Wells der Mikrotiterplatte werden die Flaschen im Wasserbad auf 55 °C heruntergekühlt. Das Schafblut wird im Brutschrank erwärmt, um eine ähnliche Temperatur zu erzielen. Wichtig ist, dass der Agar vor der Zugabe auf die 55 °C heruntergekühlt ist (sonst gerinnt das Blut) und die Flasche nach Blutzugabe in der Waagerechten leicht gedreht wird.

Befüllung der Mikrotiterplatten mit Antiseptikum (AS) und Agar:

Pro Kavität werden 50 µl AS, 100 µl Agar und später 50 µl Erregersuspension einpipettiert. Wichtig ist die Einhaltung dieser Reihenfolge. Die Erregersuspension wird erst nach Erstarren (mind. 24 h) hinzugegeben. Zusätzlich werden einige Wells für die Positiv- und Negativkontrolle benötigt. Bei der Positivkontrolle werden in ein Well 100 µl Agar und 50 µl Erregersuspension gegeben, bei der Negativkontrolle 100 µl Agar und 50 µl Antiseptikum. Da die Antiseptikumkonzentration nur ein Viertel (50 µl) des Gesamtvolumens eines Wells (200 µl) beträgt, muss eine vierfach höhere Konzentration eingesetzt werden. Das bedeutet, dass die OCT-Konzentrationen (Schritt 4 bis 10) 16 µg/ml bis 0,25 µg/ml in den Wells entsprechen; bei PHMB sind es die Konzentrationen 32 µg/ml bis 1 µg/ml und bei CHX 256 µg/ml bis 0,125 µg/ml. Sämtliche Flüssigkeiten werden mit einer 8er Pipette so pipettiert, dass mit einem Arbeitsschritt eine senkrechte Reihe befüllt wird. Wenn die Antiseptikumkonzentrationen in die jeweiligen Wells pipettiert sind, werden die Mikrotiterplatten auf einer auf 55 °C eingestellten Wärmeplatte platziert und je 100 µl des jeweiligen Agars hinzupipettiert. Dieser Arbeitsschritt muss zügig durchgeführt werden, da der Agar schnell erstarrt und dann die Pipettenspitzen verkleben. Das Antiseptikum und der Agar werden durchmischt, indem die

Mikrotiterplatten neben der Heizplatte noch für 5 min auf einer Schüttelplatte stehen. Die Platten werden im Kühlschrank (+2°C bis + 8°C) aufbewahrt.

Herstellung des Inokulums (Bakterieneinsaat):

Herstellung der 1. Subkultur: Die mit dem Erreger behaftete Glasperle wird aus dem Gefrierschrank entnommen und mit einem sterilen Glasspatel auf eine CBA-Platte gegeben. Die komplette Oberfläche wird gleichmäßig beimpft, indem die Perle mehrmals auf dem Agar ausgerollt wird. Die beschriftete Petrischale (Datum, Erreger, 1. Subkultur) wird für 18 ± 2 h bei $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ inkubiert. Im Kühlschrank aufbewahrt ist diese Subkultur bis zu einem Monat haltbar.

Herstellung der 2. Subkultur: Mit einem sterilen Glasstab werden 2-3 Kolonien von der 1. Subkultur entnommen und auf einer neuen CBA-Platte fraktioniert ausgestrichen. Anschließend wird die beimpfte Platte für 18 ± 2 h bei $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ inkubiert (Beschriftung wie bei der 1. Subkultur).

Herstellung der Testsuspension:

In ein mit 2 ml NaCl befülltes Röhrchen werden 2 Kolonien gegeben, die mit einem sterilen Glasspatel von der 2. Subkultur entnommen werden. Die Testsuspension wird gevortext. Die Testsuspension wird auf etwa 10^6 KBE/ml eingestellt^[78]. Um einen Bakterienrasen zu erhalten, der weder zu dünn noch zu dicht auf dem Agar wächst, muss eine 1:100 bzw. eine 1:10 Verdünnung durchgeführt werden (die idealen Konzentrationen werden in Vorversuchen bestimmt).

Grampositive Kokkenbakterien: 10^{-2} (10 ml Aqua dest. + 0,1ml Testsuspension)

Enterokokken: 10^{-1} (9 ml Aqua dest. + 1,0 ml Testsuspension)

Gramnegative Stäbchenbakterien: 10^{-2} (10 ml Aqua dest. + 0,1ml Testsuspension).

Beimpfung der Mikrotiterplatten und Inkubation:

Nach 24 h werden in die Kavitäten je 100 µl der jeweils hergestellten Verdünnungen aufpipettiert. Die Mikrotiterplatten werden anschließend für weitere $18 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ bei $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ inkubiert und danach ausgewertet.

Die Erreger werden in senkrechter Reihe von A nach H aufpipettiert. Die Antiseptikakonzentrationen nehmen senkrecht von H nach A ab (Abb. 6).

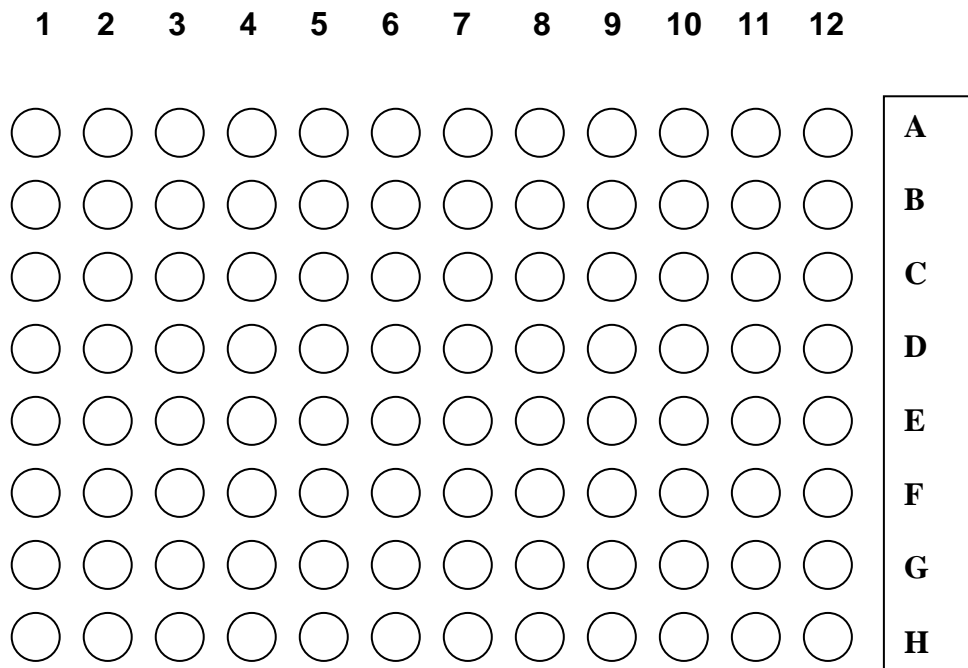


Abb. 6: Mikrotiterplattenschema

Für OCT (Abb. 7) und PHMB reicht für einen Erreger eine Reihe (7 bzw. 8 Konzentrationsstufen) aus; für CHX (12 Konzentrationsstufen) werden eineinhalb Reihen benötigt. Die Konzentration nimmt hier von H nach A ab und dann in der zweiten Reihe von H nach E. Auf eine zusätzliche Mikrotiterplatte werden die Positiv- und Negativkontrollen aufpipettiert.



Abb. 7: Mikrotiterplatte mit Müller-Hinton-Agar und OCT

Auswertung:

Bei der Auswertung wird die MHK der Erreger der verschiedenen Antiseptika auf den verschiedenen Agarplatten abgelesen. Als MHK gilt das letzte Well ohne sichtbares Wachstum. Ein Wachstum zeichnet sich durch Trübung, Knopfbildung oder auch nur durch einzelne Kolonien aus. In manchen Fällen ist die Auswertung komplizierter (vor allem auf Blutagar) und wird erleichtert, indem die Mikrotiterplatte durchleuchtet wird (Lampe des Colony Counters). Parallel werden CBA-Platten zum Auszählen beimpft. Für die KBE-Bestimmung wird für grampositive Kokken- und gramnegative Stäbchenbakterien eine Verdünnung von 10^{-5} , für Enterokokken von 10^{-4} verwendet. Von diesen Verdünnungen werden je 0,1 ml auf die Platten aufgetragen und nach demselben Verfahren beimpft wie die Subkultur. Die ausgezählte Koloniezahl (manuell oder Colony Counter) entspricht einer Potenz von 10^6 bzw. 10^5 , da zuvor nur 0,1 ml Inokulum auf die Platten gegeben wurde. Der Faktor muss dann durch 4 dividiert werden, da nur 50 μ l Erregersuspension in die Wells gegeben werden (Prinzip wie bei der Antiseptikaverdünnung, Gesamtvolumen 200 μ l). Außerdem ist zu berücksichtigen, dass die verwendeten Erregersuspensionen einer 10^{-2} (grampositive Kokken- und gramnegative

Stäbchenbakterien) bzw. 10^{-1} (Enterokokken) Konzentration entsprechen und so die ausgezählte KBE noch um zwei bzw. eine Zehnerpotenz reduziert werden müssen. Die Ergebnisse wurden nach $18\text{ h} \pm 2\text{ h}$ Inkubation nach dem oben genannten Schema ausgewertet. Die Versuche wurden im Doppelversuch durchgeführt, die angegebenen MHK's und KBE's sind die Mittelwerte.

2.1.2 Ergebnisse der MHK-Bestimmung

Für Müller-Hinton-Agar wurden die in Tab. 2 aufgeführten MHK-Werte bestimmt.

Tab. 2: MHK-Werte für Müller-Hinton-Agar

	OCT	PHMB	CHX	KBE/ml
S. aureus ATCC 29213	2	4	8	$6,90 \times 10^5$
S. aureus ATCC 6538	1	4	8	$4,40 \times 10^5$
Norddeutscher MRSA	1	2	8	$1,98 \times 10^5$
E. faecalis ATCC 29212	1	8	16	$1,02 \times 10^5$
E. faecium ATCC 6057	1	2	8	$5,75 \times 10^4$
P. aeruginosa ATCC 27853	4	16	64	$3,38 \times 10^5$
P. aeruginosa ATCC 9027	4	16	32	$6,48 \times 10^5$
P.aeruginosa ATCC 15442	4	16	64	$8,95 \times 10^5$
P. aeruginosa (mukoidbildend)	4	32	16	$3,78 \times 10^5$
E. coli NCTC 10538	2	4	8	$5,60 \times 10^5$
E. coli ATCC 11229	2	4	8	$9,00 \times 10^5$

Für Isosensitest-Agar wurden die in Tab. 3 aufgeführten MHK-Werte bestimmt.

Tab. 3: MHK-Werte für Isosensitest-Agar

	OCT	PHMB	CHX	KBE/ml
S. aureus ATCC 29213	2	4	16	1,88 x 10 ⁵
S. aureus ATCC 6538	2	4	32	1,66 x 10 ⁵
Norddeutscher MRSA	2	8	16	0,50 x 10 ⁵
E. faecalis ATCC 29212	2	16	32	0,51 x 10 ⁵
E. faecium ATCC 6057	2	8	16	0,38 x 10 ⁴
P. aeruginosa ATCC 27853	8	32	64	1,07 x 10 ⁵
P. aeruginosa ATCC 9027	4	32	64	1,80 x 10 ⁵
P. aeruginosa ATCC 15442	8	16	128	2,70 x 10 ⁵
P. aeruginosa (mukoidbildend)	8	32	32	0,40 x 10 ⁵
E. coli NCTC 10538	4	16	8	2,16 x 10 ⁵
E. coli ATCC 11229	16	16	8	5,00 x 10 ⁶

Für Casein-Sojamehl-Pepton (CS)-Agar wurden die in Tab. 4 aufgeführten MHK-Werte bestimmt.

Tab. 4: MHK-Werte für CSA –Agar

	OCT	PHMB	CHX	KBE/ml
S. aureus ATCC 29213	4	8	8	2,50 x 10 ⁵
S. aureus ATCC 6538	8	16	8	3,90 x 10 ⁵
Norddeutscher MRSA	2	16	16	2,20 x 10 ⁴
E. faecalis ATCC 29212	8	16	16	4,20 x 10 ⁵
E. faecium ATCC 6057	2	8	8	3,80 x 10 ⁵
P. aeruginosa ATCC 27853	16	64	64	3,20 x 10 ⁵
P. aeruginosa ATCC 9027	8	64	128	4,50 x 10 ⁴
P. aeruginosa ATCC 15442	16	128	128	6,00 x 10 ⁵
P. aeruginosa (mukoidbildend)	8	64	32	7,50 x 10 ³
E. coli NCTC 10538	4	16	16	3,30 x 10 ⁵
E. coli ATCC 11229	4	32	16	4,50 x 10 ⁵

Für Blutagar wurden die in Tab. 5 aufgeführten MHK-Werte bestimmt.

Tab. 5: MHK-Werte für Blutagar

	OCT	PHMB	CHX	KBE/ml
S. aureus ATCC 29213	4	4	16	$7,10 \times 10^5$
S. aureus ATCC 6538	4	8	16	$1,63 \times 10^5$
Norddeutscher MRSA	2	2	16	$2,00 \times 10^5$
E. faecalis ATCC 29212	2	16	64	$7,23 \times 10^4$
E. faecium ATCC 6057	2	8	32	$7,95 \times 10^4$
P. aeruginosa ATCC 27853	8	32	64	$4,08 \times 10^5$
P. aeruginosa ATCC 9027	4	16	64	$3,51 \times 10^5$
P. aeruginosa ATCC 15442	8	16	256	$4,78 \times 10^5$
P. aeruginosa (mukoidbildend)	8	16	32	$5,25 \times 10^5$
E. coli NCTC 10538	4	8	16	$6,21 \times 10^5$
E. coli ATCC 11229	4	4	16	$6,80 \times 10^5$

2.1.3 Diskussion und Schlussfolgerung

S. aureus ATCC 29213 hat mit OCT die niedrigsten MHK's (2 µg/ml bzw. 4 µg/ml). Für PHMB betragen die Werte 4 bzw. 8 µg/ml (CSA Agar). Die MHK's von CHX liegen mit Werten von 8 bzw. 16 µg/ml am höchsten (Abb. 8).

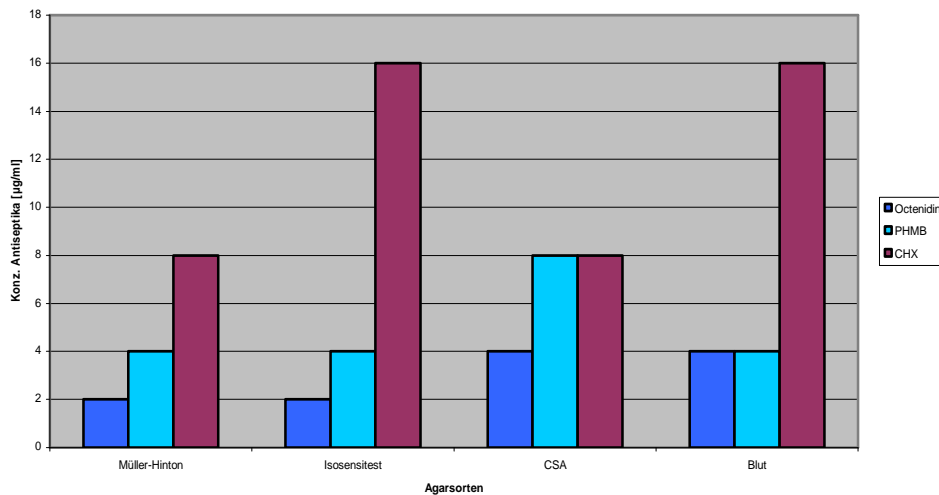


Abb. 8: MHKs für S.aureus ATCC 29213

Bei *S. aureus* ATCC 6538 liegen die MHK's von OCT im ähnlichen Bereich wie beim ATCC 27853-Stamm (zwischen 1 und 8 µg/ml). Mit den MHK Werten von PHMB (4 bis 16 µg/ml) verhält es sich ähnlich; ebenso bei CHX (8 bis 32 µg/ml) (Abb. 9).

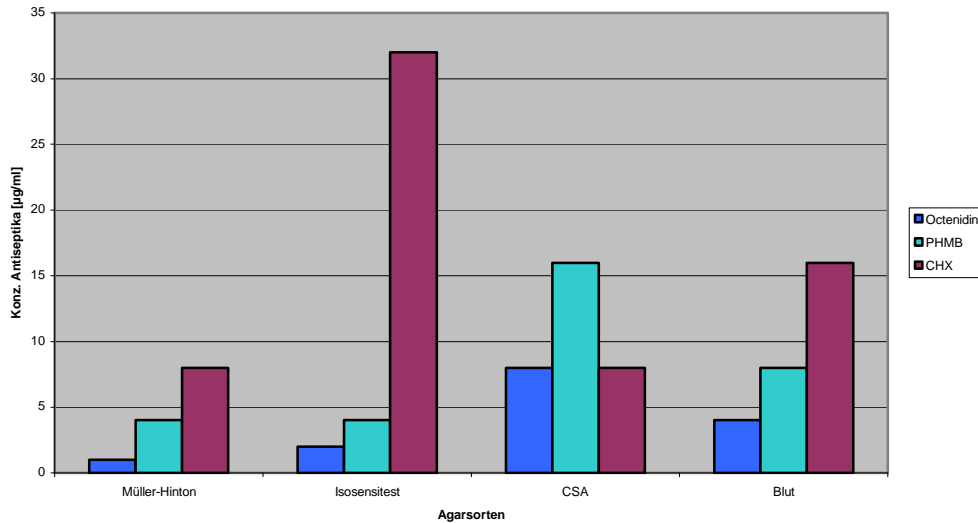


Abb. 9: MHK's für *S. aureus* ATCC 6538

Beim MRSA liegen die MHK's von OCT zwischen 1 und 2 µg/ml und damit im Bereich der zwei zuvor beschriebenen Erregern. Ebenso verhält es sich mit PHMB und CHX (Abb. 10).

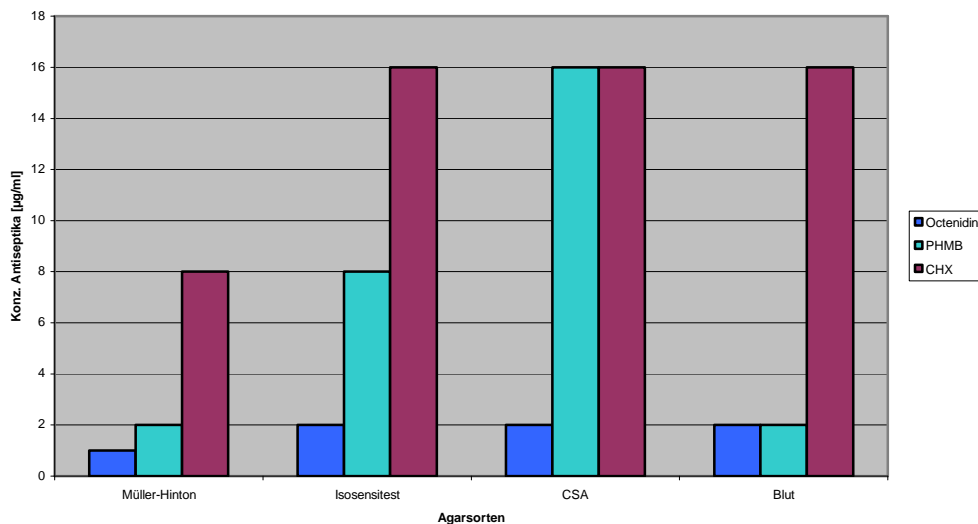


Abb. 10: MHK's für Norddeutschen MRSA

Bei *E. faecalis* bzw. *E. faecium* liegen die MHK Werte von OCT zwischen 1 und 2 µg/ml und damit im Bereich der *S. aureus* Werte. Bei *E. faecalis* ATCC 29212 weicht die MHK von PHMB mit 16 µg/ml etwas ab. Die CHX Werte liegen wiederum höher (8 bis 64 µg/ml); Trend wie bei den Erregern zuvor (Abb. 11 und 12).

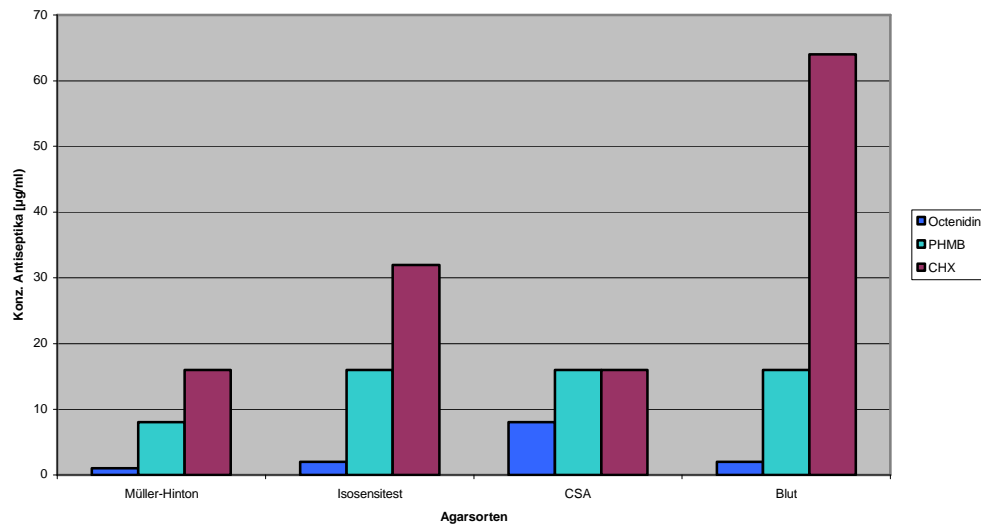


Abb. 11: MHK's für *E. faecalis* ATCC 29212

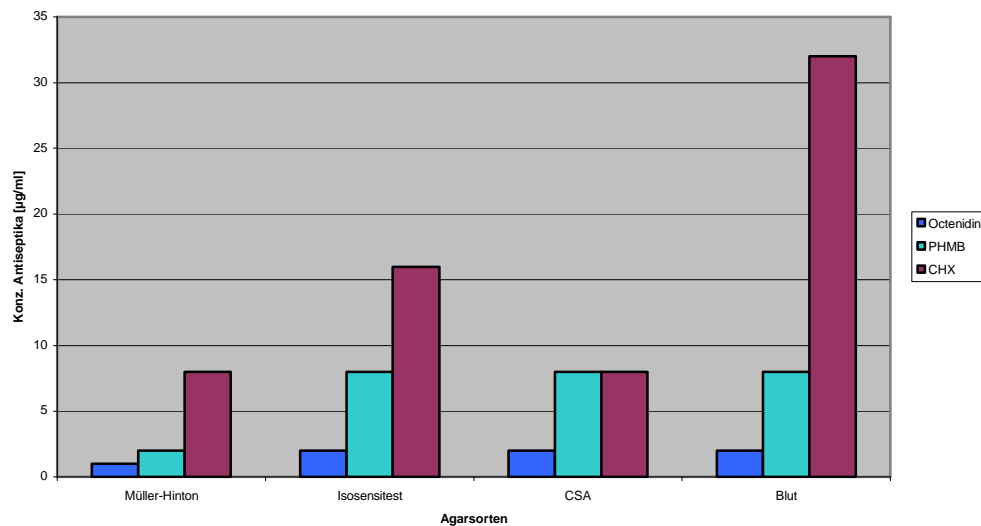


Abb. 12: MHK's für *E. faecium* ATCC 6057

Die MHK Werte für OCT liegen bei den ersten drei P. aeruginosa-Stämmen auf den vier Agarsorten zwischen 4 und 16 µg/ml. Für PHMB liegen die Werte zwischen 16 und 128 µg/ml und für CHX zwischen 32 und 256 µg/ml. Damit liegen die MHK's für die Pseudomonaden über denen der ersten fünf Erreger (Abb. 13, 14 und 15).

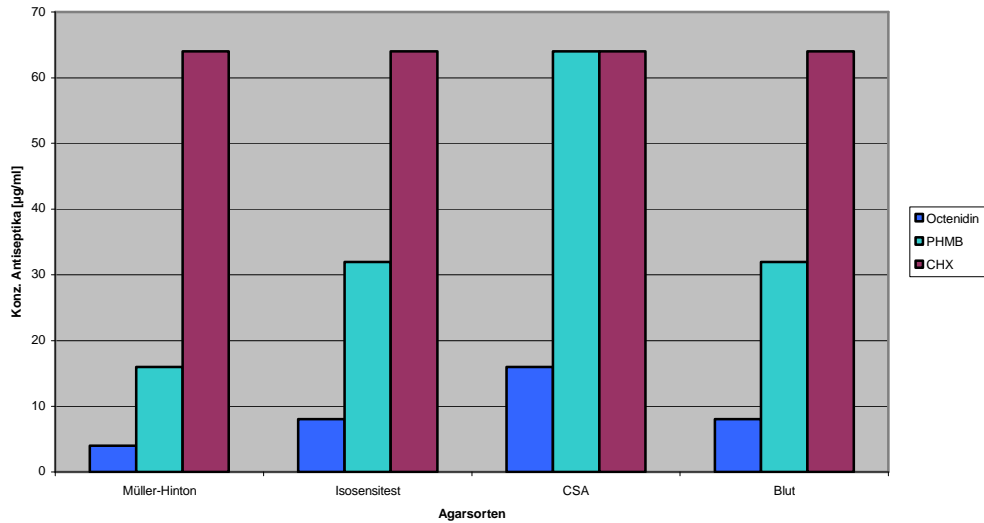


Abb. 13: MHK's für P. aeruginosa ATCC 27853

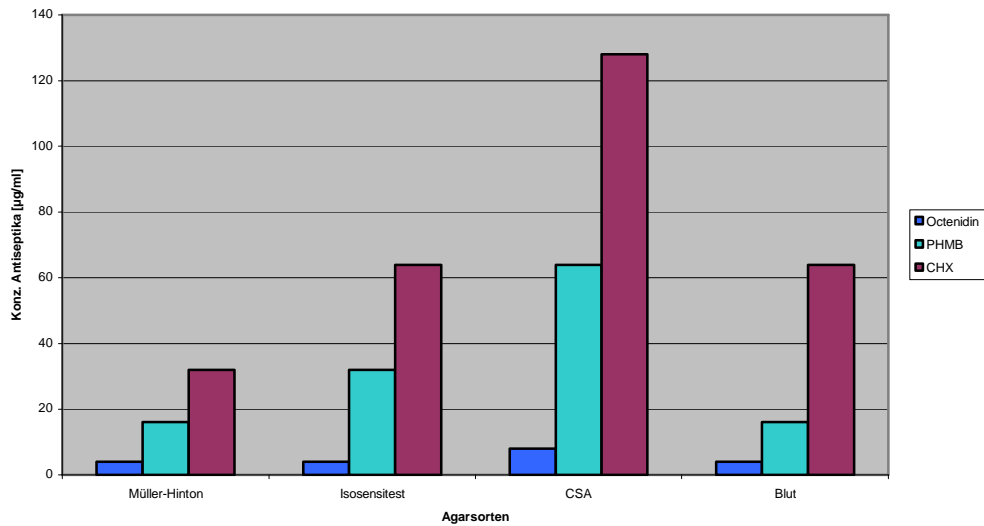


Abb. 14: MHK's für P.aeruginosa ATCC 9027

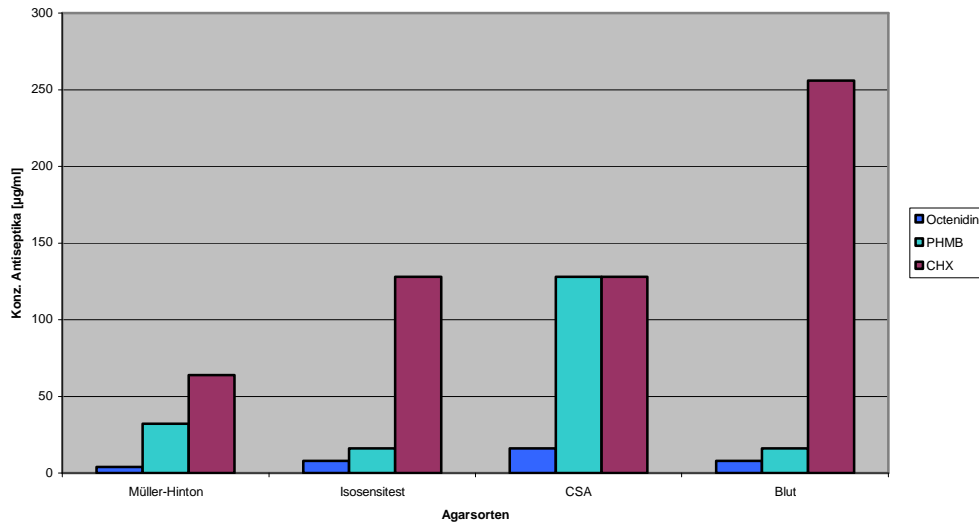


Abb. 15: MHK's für *P. aeruginosa* ATCC 15442

Bei dem mukoidbildenden *Pseudomonas*-Stamm betragen die MHK Werte für OCT 4 bzw. 8 µg/ml, für PHMB 16 bis 64 µg/ml und für CHX 16 bzw. 32 µg/ml. Damit liegen die MHK's im Bereich der ersten drei *P. aeruginosa*-Stämme bzw. sogar niedriger (CHX) (Abb. 16).

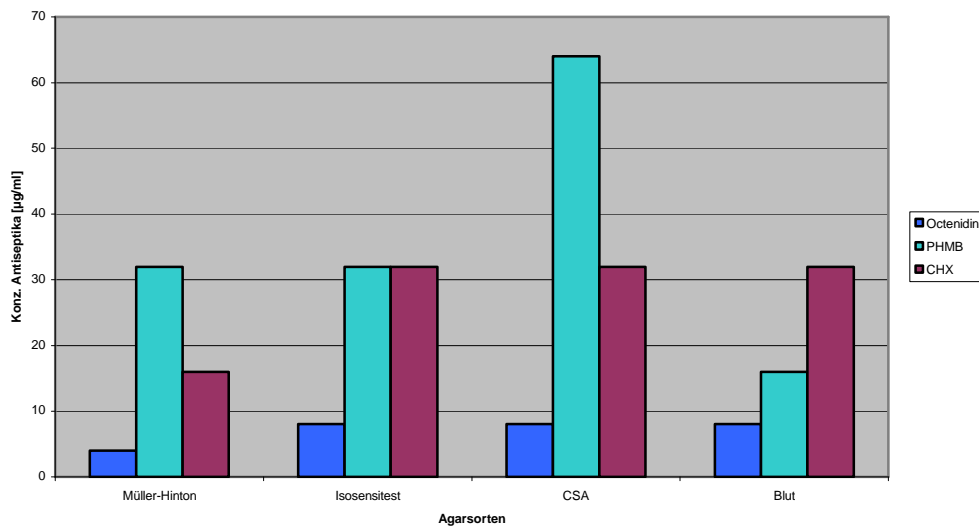


Abb. 16: MHK's für *P. aeruginosa* mukoidbildend

Für die *E. coli*-Stämme liegen die MHK's für OCT bei 2 bzw. 4 µg/ml. Der MHK Wert auf Isosensitest-Agar weicht bei *E. coli* ATCC 11229 nach oben ab (16 µg/ml). Für PHMB liegen die MHK Werte zwischen 4 und 32 µg/ml, für CHX zwischen 8 und 16 µg/ml (Abb. 17 und 18).

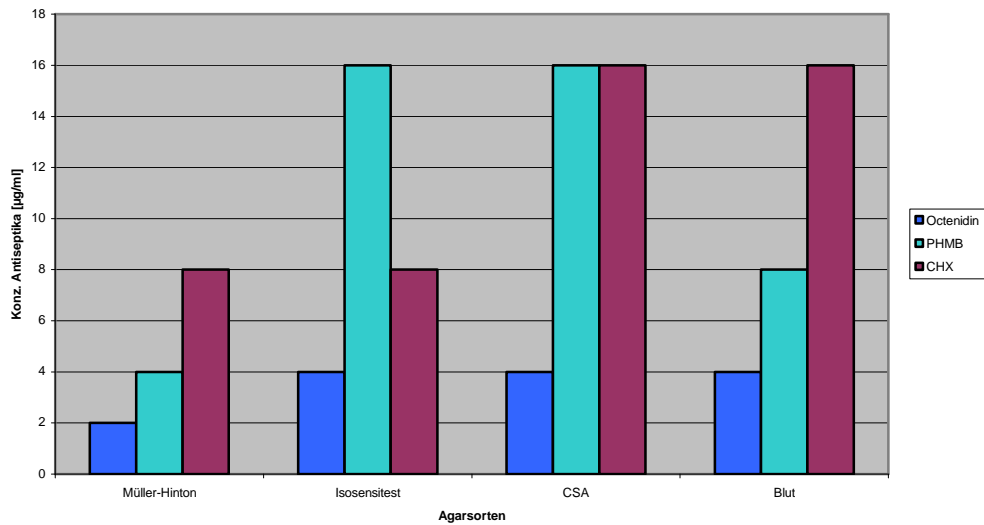


Abb. 17: MHK's für E. coli NCTC 10538

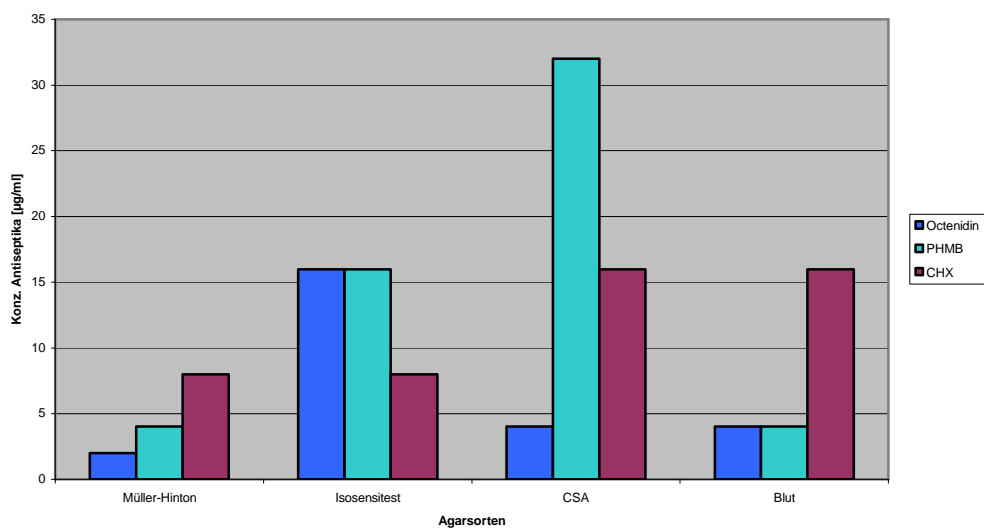


Abb. 18: MHK's für E.coli ATCC 11229

2.2 Hauptversuche zur Ermittlung der Interaktion

2.2.1 Material und Methodik

Verwendetes Material und Geräte analog wie bei 2.1.1

Zusätzlich: Ampicillin (AMP) 10 µg CT0003B; Oxoid GmbH, Wesel
 Ceftazidime (CAZ) 30 CT0412B; Oxoid GmbH, Wesel
 Imipenem (IPM) 10 µg CT0455B; Oxoid GmbH, Wesel
 Oxacillin (OX) 5 µg CT0040B; Oxoid GmbH, Wesel

Piperacillin + Tazobactam (TZP) 110 µg CT0725B; Oxoid GmbH,
Wesel

Agardilutions- und Agardiffusionsmethode:

Bei der Agardilutionsmethode^[16] wird dem flüssigen Agar (Verdünnungsmedium) eine bestimmte Antiseptikumkonzentration beigemischt. Das Agarpulver wird mit Aqua dest. angesetzt, das im Volumen um 10 % reduziert ist. Diese Volumendifferenz wird später mit Antiseptikum aufgefüllt. Da das Antiseptikum dadurch 1:10 verdünnt wird, ist zu beachten, dass man die zehnfache Konzentration der gewünschten Endkonzentration einsetzen muss. Es werden etwa 25 ml von diesem Gemisch in Petrischalen gegossen; das entspricht einer Agarhöhe von 4,0 bis 4,5 mm. Nach Erstarren - dieser Zustand ist nach etwa 48 h erreicht - wird die Oberfläche homogen mit 0,1ml Inokulum beimpft. Es folgt eine Inkubation der Platten bei $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ im Brutschrank für 18 ± 2 h und anschließend die makroskopische Auswertung. Als MHK^{[3][78]} gilt die Platte mit der niedrigsten Konzentration, bei der visuell kein Wachstum sichtbar ist.

Die Agardiffusionsmethode kann nach zwei Methoden durchgeführt werden: dem Plättchentest nach Kirby und Bauer^[5] und dem Streifentest (E-Test)^[21]. Bei dem von uns ausgewählten Plättchentest werden auf die Oberfläche eines bereits in Petrischalen erstarrten Agars 0,1 ml Inokulum homogen ausgestrichen^[14]. Anschließend werden Antibiotikaplättchen (Wirkstoffträger)^[13] platziert. Diese enthalten eine definierte Menge Chemotherapeutikum, das durch die Feuchtigkeit des Agars in diesen hinein diffundiert. Es entsteht ein Konzentrationsgradient, d. h. die Konzentration nimmt mit zunehmendem Abstand zum Plättchen ab. Je nach Erreger und Antibiotikum entstehen wachstumsfreie Zonen (Hemmhof) um die Plättchen. Die Größe gibt Informationen über die Empfindlichkeit der Erreger gegenüber den getesteten Substanzen^[5]. Dieser Hemmhof ist oft unregelmäßig (annähernd rund) begrenzt. Dadurch ist es schwierig, den genauen Durchmesser zu bestimmen. Der HHD wird an der engsten Stelle mit deutlich reduziertem Wachstum gemessen. Die HHD's können mit Literaturwerten verglichen und die Erreger danach in die Kategorien resistent, intermediär und empfindlich eingeteilt werden. Mit Hilfe von Regressionsgeraden lässt sich vom HHD auf die klinisch

bedeutsame MHK schließen^[17]. Wir haben zur Bestimmung von Interaktionen zwischen Antibiotika und Antiseptika diese beiden Methoden kombiniert (Agardiffusions-Dilutions-Combitest) durchgeführt^[29].

In den Hauptversuchen haben wir das Interaktionspotential der ausgewählten β -Lactam-Antibiotika mit den drei Antiseptika OCT, PHMB und CHX untersucht. Wir haben jeden Agar mit jedem Antiseptikum untersucht, so dass sich zwölf Kombinationen ergeben haben. Auch bei diesen Versuchen wurden alle Ergebnisse im Doppelversuch bestimmt. Die Erreger werden auf Platten ausgestrichen, die die Antiseptika in den Konzentrationen MHK, 1/8 MHK bzw. 1/16 MHK enthalten. Zusätzlich werden Positivkontrollen gegossen, die als Wachstumskontrolle kein Antiseptikum enthalten (reiner Agar). Als Negativkontrollen gelten die Platten mit Antiseptikum während der Aufbewahrung (Sterilitätskontrolle vor der Beimpfung).

Herstellung der Platten:

Berechnung der Pulver-, Aqua dest.-Mengen und Plattenanzahl: Im Vorfeld muss für jede Kombinationsmöglichkeit eine Berechnung der benötigten Plattenanzahl durchgeführt werden. Zunächst werden Tabellen mit den MHKs erstellt. Jeder Erreger benötigt Platten mit den Konzentrationen MHK, 1/8 MHK, 1/16 MHK und Agarplatten ohne Antiseptikumzusatz (Positivkontrolle). Die Anzahl wird dann mit zwei multipliziert (Doppelversuche). Die Agarsorten werden nach den Herstelleranweisungen angesetzt. Jede Petrischale wird mit einem Flüssigkeitsvolumen von 25 ml befüllt. Um das Gesamtvolumen der benötigten Konzentration zu errechnen, wird dieses Volumen mit der Plattenanzahl multipliziert. Von diesem Volumen ausgehend, wird die benötigte Pulvermenge folgendermaßen errechnet:

$$\frac{\text{Agarpulver [g]}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x \text{ [g]}}{\text{benötigtes Volumen [ml]}}$$

Für Agarpulver (g) werden 34,0, 40,0 bzw. 31,4 g eingesetzt. Im Weiteren wird die Formel nach x (g) umgestellt und man erhält die benötigte Pulvermenge. Die im Folgenden aufgeführten Berechnungen wurden für alle Versuchsreihen erstellt.

Müller-Hinton-Agar mit OCT:

MHK	1 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml
Anzahl Erreger	4	3	4

Für die Erreger mit der MHK = 1 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 1 µg/ml (MHK)

0,125 µg/ml (1/8 MHK)

0,0625 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 2 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 2 µg/ml (MHK)

0,25 µg/ml (1/8 MHK)

0,125 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 4 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 4 µg/ml (MHK)

0,5 µg/ml (1/8 MHK)

0,25 µg/ml (1/16 MHK)

In Tab. 6 ist die Gesamtzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen zusammengefasst.

Tab. 6: Gesamtanzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen für die Kombination Müller-Hinton mit OCT

Plattenkonz. (µg/ml)	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	2	4
Platten (n)	16	28	28	16	16	12	16
Flaschen (ml)	1x400	1x400 1x300	1x400 1x300	1x400	1x400	1x300	1x400
Pulver (g)	13,6	13,6 10,2	13,6 10,2	13,6	13,6	10,2	13,6

Hinzukommen 44 Platten für die Positivkontrolle, für die 37,4 g Pulver benötigt werden. Insgesamt werden für diese Versuchskombination 176 Platten gegossen und 149,6 g Pulver benötigt.

Müller-Hinton-Agar mit PHMB:

MHK	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	16 µg/ml	32 µg/ml
Anzahl Erreger	2	4	1	2	2

Für die Erreger mit der MHK = 2 µg /ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 2 µg/ml (MHK)

0,25 µg/ml (1/8 MHK)

0,125 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 4 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 4 µg/ml (MHK)

0,5 µg/ml (1/8 MHK)

0,25 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 8 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 8 µg/ml (MHK)

1 µg/ml (1/8 MHK)

0,5 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 16 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 16 µg/ml (MHK)

2 µg/ml (1/8 MHK)

1 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 32 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 32 µg/ml (MHK)

4 µg/ml (1/8 MHK)

2 µg/ml (1/16 MHK)

In Tab. 7 ist die Gesamtzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen zusammengefasst.

Tab. 7: Gesamtanzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen für die Kombination Müller-Hinton mit PHMB

Plattenkonz. ($\mu\text{g/ml}$)	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32
Platten (n)	8	24	20	12	24	24	4	8	8
Flaschen (ml)	1x200	1x400 1x200	1x100 1x400	1x400	1x400 1x200	1x400 1x200	1x100	1x200	1x200
Pulver (g)	6,8	13,6 6,8	3,4 13,6	10,2	13,6 6,8	13,6 6,8	3,4	6,8	6,8

Hinzu kommen 44 Platten für die Positivkontrolle, für die 37,4 g Pulver benötigt werden. Insgesamt werden für diese Versuchskombination 176 Platten gegossen und 149,6 g Pulver benötigt.

Müller-Hinton-Agar mit CHX:

MHK	8 $\mu\text{g/ml}$	16 $\mu\text{g/ml}$	32 $\mu\text{g/ml}$	64 $\mu\text{g/ml}$
Anzahl Erreger	6	2	1	2

Für die Erreger mit der MHK = 8 $\mu\text{g/ml}$ werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 8 $\mu\text{g/ml}$ (MHK)

1 $\mu\text{g/ml}$ (1/8 MHK)

0,5 $\mu\text{g/ml}$ (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 16 $\mu\text{g/ml}$ werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 16 $\mu\text{g/ml}$ (MHK)

2 $\mu\text{g/ml}$ (1/8 MHK)

1 $\mu\text{g/ml}$ (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 32 $\mu\text{g/ml}$ werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 32 $\mu\text{g/ml}$ (MHK)

4 $\mu\text{g/ml}$ (1/8 MHK)

2 $\mu\text{g/ml}$ (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 64 $\mu\text{g/ml}$ werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 64 $\mu\text{g/ml}$ (MHK)

8 $\mu\text{g/ml}$ (1/8 MHK)

4 $\mu\text{g/ml}$ (1/16 MHK)

In Tab. 8 ist die Gesamtzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen zusammengefasst.

Tab. 8: Gesamtanzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen für die Kombination Müller-Hinton mit CHX

Plattenkonz. (µg/ml)	0,5	1	2	4	8	16	32	64
Platten (n)	24	32	12	12	32	8	4	8
Flaschen (ml)	1x400 1x200	2x400	1x300	1x300	2x400	1x200	1x100	1x200
Pulver (g)	13,6 6,8	13,6 13,6	10,2	10,2	13,6 13,6	6,8	3,4	6,8

Hinzu kommen 44 Platten für die Positivkontrolle, für die 37,4 g Pulver benötigt werden. Insgesamt werden für diese Versuchskombination 176 Platten gegossen und 149,6 g Pulver benötigt.

Isosensitest-Agar mit OCT:

MHK	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	16 µg/ml
Anzahl Erreger	5	2	3	1

Für die Erreger mit der MHK = 2 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 2 µg/ml (MHK)

0,25 µg/ml (1/8 MHK)

0,125 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 4 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 4 µg/ml (MHK)

0,5 µg/ml (1/8 MHK)

0,25 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 8 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 8 µg/ml (MHK)

1 µg/ml (1/8 MHK)

0,5 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK=16 µg /ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 16 µg/ml (MHK)

2 µg/ml (1/8 MHK)

1 µg/ml (1/16 MHK)

In Tab. 9 ist die Gesamtzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen zusammengefasst.

Tab. 9: Gesamtanzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen für die Kombination Isosensitest mit OCT

Plattenkonz. (µg/ml)	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16
Platten (n)	20	28	20	16	24	8	12	4
Flaschen (ml)	1x400 1x200	2x400 1x300	1x400 1x100	1x400	1x400 1x200	1x200	1x400	1x100
Pulver (g)	12,56 3,4	12,56 9,42	12,56 3,14	12,56	12,56 6,28	6,28	9,12	3,14

Hinzu kommen 44 Platten für die Positivkontrolle, für die 34,54 g Pulver benötigt werden. Insgesamt wurden für diese Versuchskombination 176 Platten gegossen und 138,16 g Pulver benötigt.

Isosensitest-Agar mit PHMB:

MHK	4 µg/ml	8 µg/ml	16 µg/ml	32 µg/ml
Anzahl Erreger	2	2	4	3

Für die Erreger mit der MHK = 4 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 4 µg/ml (MHK)

0,5 µg/ml (1/8 MHK)

0,25 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 8 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 8 µg/ml (MHK)

1 µg/ml (1/8 MHK)

0,5 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 16 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 16 µg/ml (MHK)

2 µg/ml (1/8 MHK)

1 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 32 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 32 µg/ml (MHK)

4 µg/ml (1/8 MHK)

2 µg/ml (1/16 MHK)

In Tab. 10 ist die Gesamtzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen zusammengefasst.

Tab. 10: Gesamtanzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen für die Kombination Isosensitest mit PHMB

Platten-konz. (µg/ml)	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32
Platten (n)	8	16	24	28	20	8	16	12
Flaschen (ml)	1x200	1x400	1x400 1x200	1x400 1x300	1x500	1x200	1x200	1x300
Pulver (g)	6,28	12,56	12,56 6,28	12,56 9,42	15,7	6,28	12,56	9,42

Hinzu kommen 44 Platten für die Positivkontrolle, für die 34,54 g Pulver benötigt werden. Insgesamt wurden für diese Versuchskombination 176 Platten gegossen und 138,16 g Pulver benötigt.

Isosensitest-Agar mit CHX:

MHK	8 µg/ml	16 µg/ml	32 µg/ml	64 µg/ml	128 µg/ml
Anzahl Erreger	2	3	3	2	1

Für die Erreger mit der MHK = 8 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 8 µg/ml (MHK)

1 µg/ml (1/8 MHK)

0,5 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 16 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 16 µg/ml (MHK)

2 µg/ml (1/8 MHK)

1 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 32 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 32 µg/ml (MHK)

4 µg/ml (1/8 MHK)

2 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 64 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 64 µg/ml (MHK)

8 µg/ml (1/8 MHK)

2 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK=128 µg /ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 128 µg/ml (MHK)

16 µg/ml (1/8 MHK)

8 µg/ml (1/16 MHK)

In Tab. 11 ist die Gesamtzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen zusammengefasst.

Tab. 11: Gesamtanzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen für die Kombination Isosensitest mit CHX

Platten-konz. (µg/ml)	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128
Platten (n)	8	20	24	20	20	16	12	8	4
Flaschen (ml)	1x 200	1x 500	1x 600	1x 500	1x 500	1x 400	1x 400	1x 200	1x 100
Pulver (g)	6,28	15,7	18,84	15,7	15,7	12,56	9,42	6,28	3,14

Hinzu kommen 44 Platten für die Positivkontrolle, für die 34,54 g Pulver benötigt werden. Insgesamt wurden für diese Versuchskombination 176 Platten gegossen und 138,16 g Pulver benötigt.

CSA mit OCT:

MHK	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	16 µg/ml
Anzahl Erreger	2	3	4	2

Für die Erreger mit der MHK = 2 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 2 µg/ml (MHK)

0,25 µg/ml (1/8 MHK)

0,125 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 4 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 4 µg/ml (MHK)

0,5 µg/ml (1/8 MHK)

0,25 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK= 8 µg /ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 8 µg/ml (MHK)

1 µg/ml (1/8 MHK)

0,5 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK=16 µg /ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 16 µg/ml (MHK)

2 µg/ml (1/8 MHK)

1 µg/ml (1/16 MHK)

In Tab. 12 ist die Gesamtzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen zusammengefasst.

Tab. 12: Gesamtanzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen für die Kombination CSA mit OCT

Plattenkonz. (µg/ml)	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16
Platten (n)	8	20	28	24	16	12	16	8
Flaschen (ml)	1x200	1x500	1x400 1x300	1x400 1x200	1x400	1x300	1x400	1x200
Pulver (g)	8,0	20,0	28,0	24,0	16,0	12,0	16,0	8,0

Hinzu kommen 44 Platten für die Positivkontrolle, für die 44,0 g Pulver benötigt werden. Insgesamt wurden für diese Versuchskombination 176 Platten gegossen und 176,0 g Pulver benötigt.

CSA mit PHMB:

MHK	8 µg/ml	16 µg/ml	32 µg/ml	64 µg/ml	128 µg/ml
Anzahl Erreger	2	4	1	3	1

Für die Erreger mit der MHK = 8 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 8 µg/ml (MHK)

1 µg/ml (1/8 MHK)

0,5 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 16 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 16 µg/ml (MHK)

2 µg/ml (1/8 MHK)

1 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 32 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 32 µg/ml (MHK)

4 µg/ml (1/8 MHK)

2 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 64 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 64 µg/ml (MHK)

8 µg/ml (1/8 MHK)

4 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 128 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 128 µg/ml (MHK)

16 µg/ml (1/8 MHK)

8 µg/ml (1/16 MHK)

In Tab. 13 ist die Gesamtzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen zusammengefasst.

Tab. 13: Gesamtanzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen für die Kombination CSA mit PHMB

Platten-konz. (µg/ml)	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128
Platten (n)	8	24	20	16	24	20	4	12	4
Flaschen (ml)	1x200	1x400 1x200	1x500	1x400	1x400 1x200	1x 500	1x 100	1x 300	1x 100
Pulver (g)	8,0	16,0 8,0	20,0	16,0	16,0 8,0	20,0	4,0	12,0	4,0

Hinzu kommen 44 Platten für die Positivkontrolle, für die 44,0 g Pulver benötigt werden. Insgesamt wurden für diese Versuchskombination 176 Platten gegossen und 176,0 g Pulver benötigt.

CSA mit CHX:

MHK	8 µg/ml	16 µg/ml	32 µg/ml	64 µg/ml	128 µg/ml
Anzahl Erreger	3	4	1	1	2

Für die Erreger mit der MHK = 8 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 8 µg/ml (MHK)

1 µg/ml (1/8 MHK)

0,5 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 16 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 16 µg/ml (MHK)

2 µg/ml (1/8 MHK)

1 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 32 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 32 µg/ml (MHK)

4 µg/ml (1/8 MHK)

2 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 64 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 64 µg/ml (MHK)

8 µg/ml (1/8 MHK)

4 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 128 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 128 µg/ml (MHK)

16 µg/ml (1/8 MHK)

8 µg/ml (1/16 MHK)

In Tab. 14 ist die Gesamtzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen zusammengefasst.

Tab. 14: Gesamtanzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen für die Kombination CSA mit CHX

Plattenkonz. ($\mu\text{g/ml}$)	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128
Platten (n)	12	28	20	8	24	24	4	4	8
Flaschen (ml)	1x 300	1x 700	1x 500	1x 200	1x400 1x200	1x400 1x200	1x 100	1x 100	1x 200
Pulver (g)	12,0	28,0	20,0	8,0	24,0	24,0	4,0	4,0	8,0

Hinzu kommen 44 Platten für die Positivkontrolle, für die 44,0 g Pulver benötigt werden. Insgesamt wurden für diese Versuchskombination 176 Platten gegossen und 176,0 g Pulver benötigt.

Blutagar mit OCT:

MHK	2 $\mu\text{g/ml}$	4 $\mu\text{g/ml}$	8 $\mu\text{g/ml}$
Anzahl Erreger	3	5	3

Für die Erreger mit der MHK = 2 $\mu\text{g/ml}$ werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 2 $\mu\text{g/ml}$ (MHK)

0,25 $\mu\text{g/ml}$ (1/8 MHK)

0,125 $\mu\text{g/ml}$ (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 4 $\mu\text{g/ml}$ werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 4 $\mu\text{g/ml}$ (MHK)

0,5 $\mu\text{g/ml}$ (1/8 MHK)

0,1 $\mu\text{g/ml}$ (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 8 $\mu\text{g/ml}$ werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 8 $\mu\text{g/ml}$ (MHK)

1 $\mu\text{g/ml}$ (1/8 MHK)

0,5 $\mu\text{g/ml}$ (1/16 MHK)

In Tab. 15 ist die Gesamtanzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen zusammengefasst.

Tab. 15: Gesamtanzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen für die Kombination Blutagar mit OCT

Plattenkonz. (µg/ml)	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8
Platten (n)	12	32	32	12	12	20	12
Flaschen (ml)	1x300	1x400 1x400	1x400 1x400	1x300	1x300	1x500	1x300
Pulver (g)	10,2	13,6 13,6	13,6 13,6	10,2	10,2	17,0	10,2

Hinzu kommen 44 Platten für die Positivkontrolle, für die 37,4 g Pulver benötigt werden. Insgesamt wurden für diese Versuchskombination 176 Platten gegossen und 149,6 g Pulver benötigt.

Blutagar mit PHMB:

MHK	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	16 µg/ml	32µg/ml
Anzahl Erreger	1	2	3	4	1

Für die Erreger mit der MHK = 2 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 2 µg/ml (MHK)

0,25 µg/ml (1/8 MHK)

0,125 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 4 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 4 µg/ml (MHK)

0,5 µg/ml (1/8 MHK)

0,1 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 8 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 8 µg/ml (MHK)

1 µg/ml (1/8 MHK)

0,5 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 16 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 16 µg/ml (MHK)

2 µg/ml (1/8 MHK)

1 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 32 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 32 µg/ml (MHK)

4 µg/ml (1/8 MHK)

2 µg/ml (1/16 MHK)

In Tab. 16 ist die Gesamtzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen zusammengefasst.

Tab. 16: Gesamtanzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen für die Kombination Blutagar mit PHMB

Platten-konz. (µg/ml)	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32
Platten (n)	4	12	20	28	24	12	12	16	4
Flaschen (ml)	1x 100	1x 300	1x 500	1x500 1x200	1x400 1x200	1x 300	1x 300	1x 400	1x 100
Pulver (g)	3,4	10,2	17,0	17,0 6,8	13,6 6,8	10,2	10,2	13,6	3,4

Hinzu kommen 44 Platten für die Positivkontrolle, für die 37,4 g Pulver benötigt werden. Insgesamt wurden für diese Versuchskombination 176 Platten gegossen und 149,6 g Pulver benötigt.

Blutagar mit CHX:

MHK	16 µg/ml	32 µg/ml	64 µg/ml	256 µg/ml
Anzahl Erreger	5	2	3	1

Für die Erreger mit der MHK = 16 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 16 µg/ml (MHK)

2 µg/ml (1/8 MHK)

1 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 32 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 32 µg/ml (MHK)

4 µg/ml (1/8 MHK)

2 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 64 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 64 µg/ml (MHK)

8 µg/ml (1/8 MHK)

4 µg/ml (1/16 MHK)

Für die Erreger mit der MHK = 256 µg/ml werden Platten mit folgenden Konzentrationen benötigt: 256 µg/ml (MHK)

32 µg/ml (1/8 MHK)

16 µg/ml (1/16 MHK)

In Tab. 17 ist die Gesamtzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen zusammengefasst.

Tab. 17: Gesamtanzahl benötigter Platten, Flaschen und Pulvermengen für die Kombination Blutagar mit CHX

Plattenkonz. (µg/ml)	1	2	4	8	16	32	64	256
Platten (n)	20	28	20	12	24	12	12	4
Flaschen (ml)	1x500	1x500 1x200	1x500	1x300	1x400 1x200	1x300	1x300	1x100
Pulver (g)	17,0	17,0 6,8	17,0	10,2	13,6 6,8	10,2	10,2	3,4

Hinzu kommen 44 Platten für die Positivkontrolle, für die 37,4 g Pulver benötigt werden. Insgesamt wurden für diese Versuchskombination 176 Platten gegossen und 149,6 g Pulver benötigt.

Die errechneten Pulvermengen werden auf einer Feinwaage abgewogen und in beschriftete Glasflaschen gegeben. Sie werden mit dem jeweiligen Volumen Aqua dest. aufgefüllt, welches allerdings vorher um 10 % reduziert wurde. Diese Differenz wird nach dem Autoklavieren mit Antiseptikumlösung aufgefüllt.

Sterilisieren der Agarflaschen:

In jede Flasche wird ein steriler Rührfisch gegeben und diese für kurze Zeit auf ein Heizrührgerät gestellt. Die Flaschen werden etikettiert (Angaben zu Agar, Antiseptikum und Konzentration). Im Anschluss werden die Flaschen bei 121 °C 20 min autoklaviert. Nach dem Sterilisieren werden die Flaschen im Wasserbad auf 55 °C heruntergekühlt.

Hinzugabe der Antiseptika:

Nach dem Abkühlen werden den Agarflaschen die jeweiligen Antiseptikumkonzentrationen hinzugefügt, die in ihrem Volumen 10 % des errechneten Gesamtvolumens ausmachen. Eine Ausnahme bildet Blutagar. Die gegossenen Platten sollen 5 % Blut enthalten. Das bedeutet, dass das Aqua dest. für den Blutagar zum einen um 10 % wegen des Antiseptikums und zusätzlich noch einmal um 5 % wegen des Schafblutes reduziert wird. Diese 5% wirken sich bei den von uns verwendeten Flaschen folgendermaßen aus:

100 ml Flasche: 85 ml Aqua dest. + 5 ml Schafblut + 10 ml Antiseptikum
200 ml Flasche: 170 ml Aqua dest. + 10 ml Schafblut + 20 ml Antiseptikum
300 ml Flasche: 255 ml Aqua dest. + 15 ml Schafblut + 30 ml Antiseptikum
400 ml Flasche: 340 ml Aqua dest. + 20 ml Schafblut + 40 ml Antiseptikum
500 ml Flasche: 425 ml Aqua dest. + 25 ml Schafblut + 50 ml Antiseptikum

Für die Positivkontrolle werden je 44 Platten benötigt. Das entspricht einem Gesamtvolumen von 1100 ml und wird in zwei 500 ml und einer 100 ml Flaschen zur Verfügung gestellt. Die Zusammensetzung ist bei der 500 ml Flasche 450 ml Aqua dest. + 50 ml Schafsblut und bei der 100 ml Flasche 90 ml Aqua dest. + 10 ml Schafsblut.

Wieviel Antiseptikum jeweils benötigt wird, lässt sich aus den oben erstellten Tabellen entnehmen. Wichtig ist, dass das Antiseptikum in den Agarflaschen 1:10 verdünnt wird. Das heißt die eingesetzten Konzentrationen müssen 10x MHK, 10x 1/8 MHK und 10x 1/16 MHK entsprechen. Diese Konzentrationen werden jedes Mal nach dem folgenden Schema für die Durchgänge hergestellt.

$$\text{Volumen } x(\text{Aqua dest.}) = \frac{\text{Konz. Stammlsg.} - \text{gewünschte Konz.}}{\text{gewünschte Konz.}}$$

Gesamtvolumen (Antiseptikumkonz.) = 1 ml Stammlösung + X ml Aqua dest.

Die beiden Volumina werden mit einem Faktor so verändert, dass sie an das benötigte Volumen angepasst werden. Es empfiehlt sich, 1 - 2 ml mehr Antiseptikumverdünnung herzustellen, um etwas Spielraum zu haben. Die Herstellung der Stammlösungen ist bereits unter der Vorschrift der Vorversuche beschrieben.

Antiseptika für die Kombination Müller-Hinton-Agar + OCT:

0,0625 µg/ml (400 ml Flasche):	25 µl Stammlösung + 40,935 ml H ₂ O
0,125 µg/ml (400 ml + 300 ml Flasche):	90,91 µl Stammlösung + 74,38 ml H ₂ O
0,25 µg/ml (400 ml + 300 ml Flasche):	181,82 µl Stammlösung + 74,29 ml H ₂ O
0,5 µg/ml (400 ml Flasche):	222,22 µl Stammlösung + 45,29 ml H ₂ O
1 µg/ml (400 ml Flasche):	400 µl Stammlösung + 40,56 ml H ₂ O
2 µg/ml (300 ml Flasche):	700 µl Stammlösung + 35,14 ml H ₂ O
4 µg/ml (400 ml Flasche):	1,75 ml Stammlösung + 43,05 ml H ₂ O

Antiseptika für die Kombination Müller-Hinton-Agar + PHMB:

0,125 µg/ml (200 ml Flasche):	25 µl Stammlösung + 20,455 ml H ₂ O
0,25 µg/ml (400 ml + 200 ml Flasche):	166,7 µl Stammlösung + 68,1 ml H ₂ O
0,5 µg/ml (500 ml Flasche):	250 µl Stammlösung + 50,95 ml H ₂ O
1 µg/ml (400 ml Flasche):	333,3 µl Stammlösung + 33,8 ml H ₂ O
2 µg/ml (400 ml + 200 ml Flasche):	1,25 ml Stammlösung + 62,75 ml H ₂ O
4 µg/ml (400 ml + 200 ml Flasche):	2,5 ml Stammlösung + 61,5 ml H ₂ O
8 µg/ml (100 ml Flasche):	1 ml Stammlösung + 11,8 ml H ₂ O
16 µg/ml (200 ml Flasche):	3,5 ml Stammlösung + 18,9 ml H ₂ O
32 µg/ml (200 ml Flasche):	7 ml Stammlösung + 15,4 ml H ₂ O

Antiseptika für die Kombination Müller-Hinton-Agar + CHX:

0,5 µg/ml (400 ml + 200 ml Flasche):	333,3 µl Stammlösung + 67,93 ml H ₂ O
1 µg/ml (2 x 400 ml Flasche):	833,3 µl Stammlösung + 84,5 ml H ₂ O
2 µg/ml (300 ml Flasche):	714,3 µl Stammlösung + 35,86 ml H ₂ O
4 µg/ml (300 ml Flasche):	1,3 ml Stammlösung + 31,98 ml H ₂ O
8 µg/ml (2 x 400 ml Flasche):	6,5 ml Stammlösung + 76,7 ml H ₂ O
16 µg/ml (200 ml Flasche):	3,4 ml Stammlösung + 18,36 ml H ₂ O
32 µg/ml (100 ml Flasche):	3,5 ml Stammlösung + 7,7 ml H ₂ O
64 µg/ml (200 ml Flasche):	13 ml Stammlösung + 7,8 ml H ₂ O

Antiseptika für die Kombination Isosensitest-Agar + OCT:

0,125 µg/ml (500 ml Flasche):	66,67 µl Stammlösung + 54,55 ml H ₂ O
0,25 µg/ml (400 ml+ 300 ml Flasche):	200 µl Stammlösung + 81,72 ml H ₂ O
0,5 µg/ml (400 ml +100 ml Flasche):	250 µl Stammlösung + 50,95 ml H ₂ O
1 µg/ml (400 ml Flasche):	400 µl Stammlösung + 40,56 ml H ₂ O
2 µg/ml (400 ml + 200 ml Flasche):	1,2 ml Stammlösung + 60,24 ml H ₂ O
4 µg/ml (200 ml Flasche):	1 ml Stammlösung + 24,6 ml H ₂ O
8 µg/ml (300 ml Flasche):	2,5 ml Stammlösung + 29,5 ml H ₂ O
16 µg/ml (100 ml Flasche):	1,8 ml Stammlösung + 9,72 ml H ₂ O

Antiseptika für die Kombination Isosensitest-Agar + PHMB:

0,25 µg/ml (200 ml Flasche):	50 µl Stammlösung + 20,43 ml H ₂ O
0,5 µg/ml (400 ml Flasche):	200 µl Stammlösung + 40,76 ml H ₂ O
1 µg/ml (400 ml + 200 ml Flasche):	600 µl Stammlösung + 60,84 ml H ₂ O
2 µg/ml (400 ml + 300 ml Flasche):	1,5 ml Stammlösung + 75,30 ml H ₂ O
4 µg/ml (500 ml Flasche):	2 ml Stammlösung + 49,2 ml H ₂ O
8 µg/ml (200 ml Flasche):	1,67 ml Stammlösung + 19,67 ml H ₂ O
16 µg/ml (400 ml Flasche):	7 ml Stammlösung + 37,8 ml H ₂ O
32 µg/ml (300 ml Flasche):	10 ml Stammlösung + 22 ml H ₂ O

Antiseptika für die Kombination Isosensitest-Agar + CHX:

0,5 µg/ml (200 ml Flasche):	111,1 µl Stammlösung + 22,64 ml H ₂ O
1 µg/ml (500 ml Flasche):	555,6 µl Stammlösung + 56,3 ml H ₂ O
2 µg/ml (600 ml Flasche):	1,3 ml Stammlösung + 65,26 ml H ₂ O
4 µg/ml (500 ml Flasche):	2,2 ml Stammlösung + 54,12 ml H ₂ O
8 µg/ml (500 ml Flasche):	4 ml Stammlösung + 47,20 ml H ₂ O
16 µg/ml (400 ml Flasche):	6,7 ml Stammlösung + 36,18 ml H ₂ O
32 µg/ml (300 ml Flasche):	10 ml Stammlösung + 22 ml H ₂ O
64 µg/ml (200 ml Flasche):	13 ml Stammlösung + 7,8 ml H ₂ O
128 µg/ml (300 ml Flasche):	24 ml Originallösung + 15 ml H ₂ O

Antiseptika für die Kombination CSA + OCT:

0,125 µg/ml (200 ml Flasche):	30 µl Stammlösung + 24,546 ml H ₂ O
0,25 µg/ml (500 ml Flasche):	130 µl Stammlösung + 53,118 ml H ₂ O
0,5 µg/ml (400 ml + 300 ml Flasche):	400 µl Stammlösung + 81,52 ml H ₂ O
1 µg/ml (400 ml + 200 ml Flasche):	600 µl Stammlösung + 60,84 ml H ₂ O
2 µg/ml (400 ml Flasche):	800 µl Stammlösung + 40,18 ml H ₂ O
4 µg/ml (300 ml Flasche):	1,5 ml Stammlösung + 36,90 ml H ₂ O
8 µg/ml (400 ml Flasche):	3,5 ml Stammlösung + 41,30 ml H ₂ O
16 µg/ml (200 ml Flasche):	4 ml Stammlösung + 21,60 ml H ₂ O

Antiseptika für die Kombination CSA + PHMB:

0,5 µg/ml (200 ml Flasche):	100 µl Stammlösung + 20,38 ml H ₂ O
1 µg/ml (400 ml + 200 ml Flasche):	600 µl Stammlösung + 60,84 ml H ₂ O
2 µg/ml (500 ml Flasche):	1 ml Stammlösung + 50,20 ml H ₂ O
4 µg/ml (400 ml Flasche):	1,6 ml Stammlösung + 39,36 ml H ₂ O
8 µg/ml (400 ml + 200 ml Flasche):	4,8 ml Stammlösung + 56,64 ml H ₂ O
16 µg/ml (500 ml Flasche):	8 ml Stammlösung + 43,20 ml H ₂ O
32 µg/ml (100 ml Flasche):	3,5 ml Stammlösung + 7,7 ml H ₂ O
64 µg/ml (300 ml Flasche):	19 ml Stammlösung + 11,4 ml H ₂ O
128 µg/ml (100 ml Flasche):	64 µl Originallösung + 10 ml H ₂ O

Antiseptika für die Kombination CSA + CHX:

0,5 µg/ml (300 ml Flasche):	153,85 µl Stammlösung + 31,35 ml H ₂ O
1 µg/ml (400 ml + 300 ml Flasche):	714,29 µl Stammlösung+72,43 mlH ₂ O
2 µg/ml (500 ml Flasche):	1 ml Stammlösung + 50,20 ml H ₂ O
4 µg/ml (200 ml Flasche):	1 ml Stammlösung + 24,6 ml H ₂ O
8 µg/ml (400 ml +200 ml Flasche):	4,8 ml Stammlösung + 56,64 ml H ₂ O
16 µg/ml (400 ml +200 ml Flasche):	9,5 ml Stammlösung + 51,3 ml H ₂ O
32 µg/ml (100 ml Flasche):	3,5 ml Stammlösung + 7,7 ml H ₂ O
64 µg/ml (100 ml Flasche):	7 ml Stammlösung + 4,2 ml H ₂ O
128 µg/ml (200 ml Flasche):	32 µl Originallösung + 20 ml H ₂ O

Antiseptika für die Kombination Blutagar + OCT:

0,125 µg/ml (300 ml Flasche):	40 µl Stammlösung + 32,728 ml H ₂ O
0,25 µg/ml (2x 400 ml Flasche):	200 µl Stammlösung+81,72 mlH ₂ O
0,5 µg/ml (2x 400 ml Flasche):	400 µl Stammlösung + 81,52 ml H ₂ O
1 µg/ml (300 ml Flasche):	33,3 µl Stammlösung + 33,8 ml H ₂ O
2 µg/ml (300 ml Flasche):	666,67 µl Stammlösung + 33,47 ml H ₂ O
4 µg/ml (500 ml Flasche):	2 ml Stammlösung + 49,2 ml H ₂ O
8 µg/ml (300 ml Flasche):	2,5 ml Stammlösung + 29,5 ml H ₂ O

Antiseptika für die Kombination Blutagar + PHMB:

0,125 µg/ml (100 ml Flasche):	15 µl Stammlösung + 12,273 ml H ₂ O
0,25 µg/ml (300 ml Flasche):	80 µl Stammlösung+32,688 mlH ₂ O
0,5 µg/ml (500 ml Flasche):	250 µl Stammlösung + 50,95 ml H ₂ O
1 µg/ml (500 ml +200 ml Flasche):	714,29 µl Stammlösung + 72,43 ml H ₂ O
2 µg/ml (400 ml +200 ml Flasche):	1,2 ml Stammlösung + 60,24 ml H ₂ O
4 µg/ml (300 ml Flasche):	1,3 ml Stammlösung + 31,98 ml H ₂ O
8 µg/ml (300 ml Flasche):	2,7 ml Stammlösung + 31,86 ml H ₂ O
16 µg/ml (400 ml Flasche):	7,5 ml Stammlösung + 40,5 ml H ₂ O
32 µg/ml (100 ml Flasche):	4 ml Stammlösung + 8,8 ml H ₂ O

Antiseptika für die Kombination Blutagar + CHX:

1 µg/ml (500 ml Flasche):	500 µl Stammlösung + 50,7 ml H ₂ O
2 µg/ml (500 ml +200 ml Flasche):	1,5 ml Stammlösung + 75,3 ml H ₂ O
4 µg/ml (500 ml Flasche):	2 ml Stammlösung + 49,2 ml H ₂ O
8 µg/ml (300 ml Flasche):	2,5 ml Stammlösung + 29,5 ml H ₂ O
16 µg/ml (400 ml +200 ml Flasche):	10 ml Stammlösung + 54 ml H ₂ O
32 µg/ml (300 ml Flasche):	10 ml Stammlösung + 22 ml H ₂ O
64 µg/ml (300 ml Flasche):	20 ml Stammlösung + 12 ml H ₂ O
256 µg/ml (100 ml Flasche):	32 µl Originallösung + 10 ml H ₂ O

Für die Antiseptikakonzentrationen 128 µg/ml und 256 µg/ml werden Konzentrationen benötigt, die höher sind als die der Stammlösung (1024 µg/ml). Zum Herstellen dieser Verdünnungen wird die Ausgangslösung benötigt. Sie werden nach dem gleichen Schema erstellt wie die Stammlösung.

Gießen der Platten:

Die sterilen Petrischalen werden im Vorfeld mit folgenden Informationen (auf dem Boden) beschriftet: Agar, Antiseptikum, Konzentration und Datum. Die Flaschen mit flüssigem Agar werden aus dem Wasserbad entnommen und erneut kurz auf den Heizrührer gestellt, nachdem das Antiseptikum bereits beigemischt wurde. Wenn die Flaschen noch zu heiß sind, empfiehlt sich das Tragen eines Gummihandschuhs. In jede Petrischale wird soviel Agar gegossen, dass der Boden einmal komplett bedeckt ist. Das entspricht etwa 25 ml bzw. 4,00 bis 4,50 mm Nährbodenhöhe^[16]. Hierbei ist wichtig, dass Blasenbildung vermieden wird. Nach Erstarren und leichtem Abkühlen können die Platten im Kühlschrank (+2 °C bis +8 °C) gelagert werden. Nach 48 h ist eine Beimpfung der Platten möglich.

Herstellung des Inokulums (Bakterieneinsaat):

Das Inokulum wird nach demselben Schema erstellt, wie in der Vorschrift der Vorversuche beschrieben.

Beimpfung der Platten:

Von der hergestellten Erregersuspension werden 0,1 ml auf die Agarmitte pipettiert. Mit einem 90° abgewinkelten Glasspatel wird der Tropfen gleichmäßig ausgestrichen, bis die komplette Oberfläche gleichmäßig bedeckt ist. Die Deckel der Petrischalen werden mit Abkürzungen für die Erreger versehen.

Platzieren der Antibiotikaplättchen:

Die Antibiotikaplättchen werden in 50er Kartuschen aufbewahrt. Sie werden einzeln mit einem spitzen sterilen Stab so entnommen, dass sie in den umgedrehten (sterilen) Petrischalendeckel fallen. Von dort kann man sie mit dem spitzen Stab nehmen und gezielt auf den Agar platzieren. Die Antibiotika werden für folgende Erreger getestet:

- OX 5 µg: *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 6538, Norddeutscher MRSA
- AMP 10 µg: *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 6538, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* ATCC 6057, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *P. aeruginosa* ATCC 15442, *P. aeruginosa*

mukoidbildend, E. coli NCTC 10538, E. coli ATCC 11229

- IMP 10 µg: E. faecalis ATCC 29212, E. faecium ATCC 6057, P. aeruginosa ATCC 27853, P. aeruginosa ATCC 9027, P. aeruginosa ATCC 15442, P. aeruginosa mukoidbildend, E. coli NCTC 10538, E. coli ATCC 11229
- TZP 110 µg: P. aeruginosa ATCC 27853, P. aeruginosa ATCC 9027, P. aeruginosa ATCC 15442, P. aeruginosa mukoidbildend, E. coli NCTC 10538, E. coli ATCC 11229
- CAZ 30 µg: P. aeruginosa ATCC 27853, P. aeruginosa ATCC 9027, P. aeruginosa ATCC 15442, P. aeruginosa mukoidbildend, E. coli NCTC 10538, E. coli ATCC 11229

Um die jeweiligen Antibiotikaplättchen immer an den selben Ort und gleichzeitig in maximalem Abstand voneinander und vom Petrischalenrand zu platzieren, wird eine Schablone unter die Petrischalen gelegt und die Plättchen auf vorgezeichneten Punkten platziert.

Inkubation und Auswertung:

Die beimpften Platten werden bei 36 °C für 18 h ± 2h inkubiert. Die Platten werden nicht auf den Deckel gestellt, da sonst die Plättchen vom Agar fallen können. Nach 24 h Inkubation erfolgt die Auswertung der Platten durch Ausmessen der Hemmhöfe mit einer Schablone, die unter die Petrischale gelegt wird (Abb. 19).

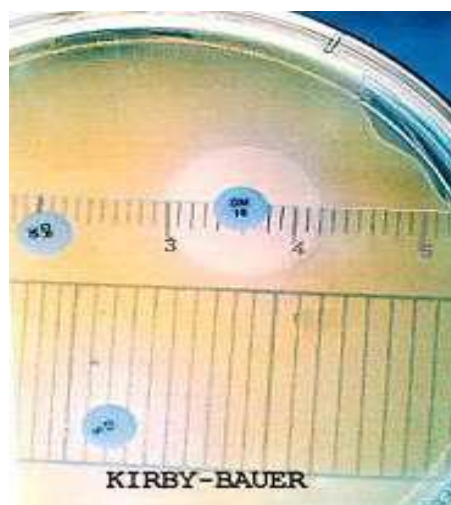


Abb. 19: Schablone HHD

Die Schwierigkeit besteht darin, dass die Höfe nicht immer kreisrund sind, sich manchmal einzelne Kolonien im wachstumsfreien Areal befinden oder auch der Durchmesser nicht zu allen Seiten gleich groß ist. Als Grenzen des Hemmhofes gelten Ränder mit deutlich reduziertem Wachstum^[78]. Einzelne Kolonien im wachstumsfreien Bereich werden nicht beachtet. Die ausgemessenen Hemmhofdurchmesser werden in vorbereitete Tabellen eingetragen. Hier sind die Positivkontrollen wichtig, da sie den Vergleich ermöglichen. Die Hemmhofdurchmesser aus der Literatur weichen zum Teil deutlich von unseren Kontrollwerten ab bzw. sind nicht für alle Stämme verfügbar^[15].

Die Abbildungen 20 bis 22 zeigen exemplarische Platten (*S. aureus* ATCC 29213 auf Isosensitest-Agar mit verschiedenen OCT Konzentrationen) mit zunehmendem Wachstum.



Abb. 20: *S. aureus* ATCC 29213, Isosensitest-Agar + OCT 2 µg/ml, kein Wachstum



Abb. 21: *S. aureus* ATCC 29213, Isosensitest-Agar + OCT 0,5 µg/ml, leichtes Wachstum



Abb. 22: *S. aureus* ATCC 29213, Isosensitest-Agar + OCT 0,25 µg/ml, deutliche HHD

Schwierigkeiten gibt es bei der Auswertung der Blutplatten. Die Schablone scheint hier durch den Agar nicht durch. Um hier die Hemmhofdurchmesser auszumessen, wird die Schablone kopiert, ausgeschnitten, mit Folie komplett verklebt und zum Ablesen direkt auf den Agar gelegt. Wichtig ist hierbei das Tragen von Schutzhandschuhen.

2.2.2 Ergebnisse

Zum direkten Vergleich sind die Tabellen nach Erregern und den jeweils angewandten Antibiotika geordnet. Sie enthalten die Ergebnisse (Mittelwerte der Hemmhöfe in mm) mit allen drei Antiseptika auf den vier Agarsorten.

War kein Wachstum sichtbar, steht in den Tabellen „KW“ bzw. bei geringem Wachstum „Kolonien“. Als zusätzliche Information enthalten die Tabellen noch die Positivkontrolle (Hemmhof auf reinem Agar) und die KBE/ml. Einen besonderen Effekt gibt es bei der Kombination CSA+CHX bei den Pseudomonaden (außer dem Mukoidbildenden). Hier lässt sich das charakteristische grünlich schimmernde Pseudomonadenwachstum auf den AMP-Plättchen nachweisen („Wachst. Plättchen“). Bei der nachfolgenden Ergebnisdarstellung beziehen sich die Aussagen jeweils auf den Konzentrationsbereich der MHK des Antiseptikums, weil hier die Effekte am deutlichsten zur Ausprägung kommen. Durch die Verdünnung auf 1/8 und 1/16 der MHK bleibt die Qualität der Interaktion zwar grundsätzlich erhalten, schwächt sich aber mit zunehmender Verdünnung ab.

Bei *S. aureus* ATCC 29213 zeigte sich bei OX 5 überall eine Wirkungsverstärkung außer mit PHMB bzw. CHX auf CSA (Tab. 18).

Tab. 18: Hemmhöfe (mm) für *S. aureus* ATCC 29213 für OX 5

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	KW	39	34	34	$0,88 \times 10^6$
	Isosensitest	KW	39	36	34	$0,88 \times 10^6$
	CSA	KW	Kolonien	35,5	34	$9,0 \times 10^5$
	Blut	KW	32	30	29	$6,5 \times 10^5$
PHMB	Müller-Hinton	KW	36,5	37	34	$0,88 \times 10^6$
	Isosensitest	40,5	36	36,5	34	$0,88 \times 10^6$
	CSA	33,5	33,5	33,5	33,5	$1,05 \times 10^6$
	Blut	KW	33	30	29	$6,5 \times 10^5$
CHX	Müller-Hinton	KW	37,5	38	37	$9,0 \times 10^5$
	Isosensitest	KW	38	35,5	36	$9,0 \times 10^5$
	CSA	KW	34	33	33,5	$1,05 \times 10^6$
	Blut	KW	34	30	29	$6,5 \times 10^5$

Bei AMP 10 ist mit Ausnahme der Kombination mit CHX auf CSA durchgehend eine Wirkungsverstärkung zu erkennen (Tab. 19).

Tab. 19: Hemmhöfe (mm) für *S. aureus* ATCC 29213 für AMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	KW	31	28	27	$0,88 \times 10^6$
	Isosensitest	KW	30	29,5	27,5	$0,88 \times 10^6$
	CSA	KW	Kolonien	29,5	29	$9,0 \times 10^5$
	Blut	KW	29	27	27	$6,5 \times 10^5$
PHMB	Müller-Hinton	KW	29,5	28,5	27	$0,88 \times 10^6$
	Isosensitest	32	29	28,5	27,5	$0,88 \times 10^6$
	CSA	26	28	26,5	26,5	$1,05 \times 10^6$
	Blut	KW	30	28	27	$6,5 \times 10^5$
CHX	Müller-Hinton	KW	32	30	30	$9,0 \times 10^5$
	Isosensitest	KW	31	26,5	26,5	$9,0 \times 10^5$
	CSA	KW	26,5	26	26,5	$1,05 \times 10^6$
	Blut	KW	31	28	27	$6,5 \times 10^5$

Für *S. aureus* ATCC 6538 gibt es bei OX 5 vor allem Wirkungsverstärkungen und zwei Nichtbeeinflussungen. In Kombination mit CHX liegt auf Blutagar allerdings eine Hemmung vor (Tab. 20).

Tab. 20: Hemmhöfe (mm) für *S. aureus* ATCC 6538 für OX 5

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	KW	41	40,5	40	1,26x10 ⁶
	Isosensitest	KW	Kolonien	45	42	1,26x10 ⁶
	CSA	KW	KW	30	41	2,8x10 ⁶
	Blut	KW	40	34	34	1,0x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	KW	41,5	40	40	1,26x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	45	42	42	1,26x10 ⁶
	CSA	41	40	39,5	40	8,3x10 ⁵
	Blut	KW	34	34	34	1,0x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	Kolonien	40	40	2,8x10 ⁵
	Isosensitest	KW	KW	50	44	2,8x10 ⁵
	CSA	KW	39	40	40	8,3x10 ⁵
	Blut	KW	31	33	34	1,0x10 ⁶

AMP 10 schneidet besser ab: Durchgehend Wirkungsverstärkung, außer mit PHMB auf Müller-Hinton-Agar (keine Beeinflussung) (Tab. 21).

Tab. 21: Hemmhöfe (mm) für *S. aureus* ATCC 29213 für AMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	KW	51	49,5	48,5	1,26x10 ⁶
	Isosensitest	KW	Kolonien	48	46	1,26x10 ⁶
	CSA	KW	KW	47	46,5	2,8x10 ⁶
	Blut	KW	48	40	38	1,0x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	KW	48	45,5	48,5	1,26x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	49	47,5	46	1,26x10 ⁶
	CSA	48	47,5	47	42,5	8,3x10 ⁵
	Blut	KW	41	40	38	1,0x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	Kolonien	50	50	2,8x10 ⁵
	Isosensitest	KW	KW	53,5	47	2,8x10 ⁵
	CSA	KW	45,5	45,5	42,5	8,3x10 ⁵
	Blut	KW	40	38	38	1,0x10 ⁶

Für den norddeutschen MRSA haben wir nur das Interaktionspotential von OX 5 untersucht. Mit OCT gibt es zwei Verstärkungen (auf Müller-Hinton-Agar und Isosensitest-Agar), auf CSA keine Veränderung und eine Hemmung auf Blutagar. Mit PHMB gibt es drei Verstärkungen und eine Hemmung (Blutagar). Mit CHX ist es genauso; allerdings liegt auf CSA lediglich eine Nichtbeeinflussung vor (Tab. 22).

Tab. 22: Hemmhöfe (mm) für Norddeutschen MRSA für OX 5

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	KW	36	36,5	34	1,79x10 ⁶
	Isosensitest	KW	Kolonien	34	35	1,79x10 ⁶
	CSA	KW	38,5	38	38	4,3x10 ⁵
	Blut	KW	32	34	35	1,61x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	40	37,5	38,5	34	1,79x10 ⁶
	Isosensitest	KW.	36,5	35,5	35	1,79x10 ⁶
	CSA	34,5	36	35	34	7,9x10 ⁵
	Blut	32	34	34	35	1,61x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	38,5	38	37,5	4,3x10 ⁵
	Isosensitest	KW	39	37	36	4,3x10 ⁵
	CSA	KW	36,5	36,5	34	7,9x10 ⁵
	Blut	KW	35	35	35	1,61x10 ⁶

Für *E. faecalis* ATCC 29212 wurden die Antibiotika AMP 10, IMP 10 und TZP 10 getestet. Bei OCT + AMP 10 sind auf Müller-Hinton-Agar und CSA Wirkungsverstärkungen zu verzeichnen; auf Isosensitest-Agar verändert sich nichts und auf Blutagar liegt eine Hemmung vor. Mit PHMB liegen auf allen vier Agarsorten Wirkungsverstärkungen vor. Mit CHX ist auf Müller-Hinton-Agar keine Veränderung erkennbar, auf Isosensitest-Agar und CSA eine Verstärkung und auf Blutagar erneut eine Hemmung (Tab. 23).

Tab. 23: Hemmhöfe (mm) für *E. faecalis* ATCC 29212 für AMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	33	33	29	0,59x10 ⁶
	Isosensitest	KW	31	30	31	0,59x10 ⁶
	CSA	KW	33,5	32	30	5,88x10 ⁵
	Blut	24	24	27	28	7,4x10 ⁵
PHMB	Müller-Hinton	36,5	34	33,5	29	0,59x10 ⁶
	Isosensitest	KW	32	32	31	0,59x10 ⁶
	CSA	32,5	30	29,5	29	6,0x10 ⁴
	Blut	34	29	28	28	7,4x10 ⁵
CHX	Müller-Hinton	KW	32,5	32,5	32	5,88x10 ⁵
	Isosensitest	KW	31	30	30	5,88x10 ⁵
	CSA	KW	30	30,5	29	6,0x10 ⁴
	Blut	KW	24	24	28	7,4x10 ⁵

IMP 10 zeigt mit OCT und PHMB durchweg Wirkungsverstärkungen. Mit CHX ist nur eine Verstärkung auf Blutagar zu erkennen (Tab. 24).

Tab. 24: Hemmhöfe (mm) für E. faecalis ATCC 29212 für IMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	36,5	35	33	$0,59 \times 10^6$
	Isosensitest	KW	35	35	34	$0,59 \times 10^6$
	CSA	KW	36	34	33,5	$5,88 \times 10^5$
	Blut	33	31	31	28	$7,4 \times 10^5$
PHMB	Müller-Hinton	37,5	37	36,5	33	$0,59 \times 10^6$
	Isosensitest	KW	36	35,5	34	$0,59 \times 10^6$
	CSA	35	33,5	33	33	$6,0 \times 10^4$
	Blut	36	33	30	28	$7,4 \times 10^5$
CHX	Müller-Hinton	KW	36	35,5	36	$5,88 \times 10^5$
	Isosensitest	KW	34	35	34,5	$5,88 \times 10^5$
	CSA	KW	33,5	33,5	33	$6,0 \times 10^4$
	Blut	KW	32	30	28	$7,4 \times 10^5$

TZP 110 zeigt ebenfalls mit OCT und PHMB durchgehend Wirkungsverstärkungen. Mit CHX gibt es eine Wirkungsverstärkung auf Müller-Hinton-Agar und CSA, keine Veränderung auf Blutagar und eine Hemmung auf Isosensitest-Agar (Tab. 25).

Tab. 25: Hemmhöfe (mm) für E. faecalis ATCC 29212 für TZP 110

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	35	34	31,5	$0,59 \times 10^6$
	Isosensitest	KW	35	35	30,5	$0,59 \times 10^6$
	CSA	KW	37	34,5	34	$5,88 \times 10^5$
	Blut	34	32	31	32	$7,4 \times 10^5$
PHMB	Müller-Hinton	38,5	34,5	34,5	31,5	$0,59 \times 10^6$
	Isosensitest	KW	32	32	30,5	$0,59 \times 10^6$
	CSA	34	32	32	30	$6,0 \times 10^4$
	Blut	36	32	31	32	$7,4 \times 10^5$
CHX	Müller-Hinton	KW	36	36	35	$5,88 \times 10^5$
	Isosensitest	KW	35	35	40	$5,88 \times 10^5$
	CSA	KW	31	30,5	30	$6,0 \times 10^4$
	Blut	KW	32	31	32	$7,4 \times 10^5$

Für E. faecium ATCC 6057 wurden die gleichen Antibiotika mit folgenden Ergebnissen getestet. AMP 10 zeigt mit OCT Wirkungsverstärkungen bzw. keinen Einfluss. Bei PHMB sind auf allen Agarsorten Wirkungsverstärkungen feststellbar. Mit CHX liegt keine Veränderung vor bzw. auf Isosensitest-Agar Hemmung (Tab. 26).

Tab. 26: Hemmhöfe (mm) für E. faecium ATCC 6057 für AMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	KW	34	33	32	0,18x10 ⁶
	Isosensitest	KW	38	38,5	36	0,18x10 ⁶
	CSA	KW	34	34	34	0,53x10 ⁵
	Blut	30	30	30	30	4,13x10 ⁵
PHMB	Müller-Hinton	42	35,5	34,5	32	0,18x10 ⁶
	Isosensitest	KW	39,5	38	36	0,18x10 ⁶
	CSA	34	32	32,5	33,5	1,4x10 ⁴
	Blut	KW	34	30	30	4,13x10 ⁵
CHX	Müller-Hinton	KW	36	38	37	0,53x10 ⁵
	Isosensitest	KW	36	40	40	0,53x10 ⁵
	CSA	KW	33	33	33,5	1,4x10 ⁴
	Blut	KW	31	30	30	4,13x10 ⁵

Bei IMP 10 liegen bei PHMB nur Wirkungsverstärkungen vor bzw. eine Nichtbeeinflussung(Blutagar). Mit OCT gibt es mit Ausnahme auf CSA (Hemmung) ebenfalls nur Wirkungsverstärkungen (Tab. 27).

Tab. 27: Hemmhöfe (mm) für E. faecium ATCC 6057 für IMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	KW	31	30	30	0,18x10 ⁶
	Isosensitest	KW	40	39	37	0,18x10 ⁶
	CSA	KW	29	33	32,5	0,53x10 ⁵
	Blut	32	30	30	30	4,13x10 ⁵
PHMB	Müller-Hinton	35,5	31	31	30	0,18x10 ⁶
	Isosensitest	KW	40	39	37	0,18x10 ⁶
	CSA	34,5	30,5	30,5	30,5	1,4x10 ⁴
	Blut	KW	30	30	30	4,13x10 ⁵
CHX	Müller-Hinton	KW	30	33	32	0,53x10 ⁵
	Isosensitest	KW	39	38,5	39	0,53x10 ⁵
	CSA	KW	33,5	31	30,5	1,4x10 ⁴
	Blut	KW	32	30	30	4,13x10 ⁵

TZP 110 weist mit OCT, außer auf Isosensitest-Agar (keine Beeinflussung), überall eine Wirkungsverstärkung auf. Mit PHMB gibt es eine Wirkungsverstärkung auf Müller-Hinton- und Blutagar und keine Veränderung auf Isosensitest-Agar und CSA. Mit CHX gibt es auf Isosensitest eine Hemmung, keine Veränderung auf Müller-Hinton-Agar und CSA und Wirkungsverstärkung auf Blutagar (Tab. 28).

Tab. 28: Hemmhöfe (mm) für *E. faecium* ATCC 6057 für TZP 110

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	33	32	30	0,18x10 ⁶
	Isosensitest	KW	36	35	36	0,18x10 ⁶
	CSA	KW	34	33	31	0,53x10 ⁵
	Blut	30	30	28	29	4,13x10 ⁵
PHMB	Müller-Hinton	38	34,5	33	30	0,18x10 ⁶
	Isosensitest	KW	36,5	34,5	36	0,18x10 ⁶
	CSA	30	30	30	30	1,4x10 ⁴
	Blut	KW	32	30	29	4,13x10 ⁵
CHX	Müller-Hinton	KW	34	34	34	0,53x10 ⁵
	Isosensitest	KW	39	36	40	0,53x10 ⁵
	CSA	KW	30	30	30	1,4x10 ⁴
	Blut	KW	32	32	29	4,13x10 ⁵

Für die Pseudomonaden werden die Antibiotika AMP 10, IMP 10, TZP 110 und CAZ 30 getestet. AMP 10 beinhaltet in seinem Wirkungsspektrum keine Pseudomonaden (Ausnahme der mukoidbildende *P. aeruginosa*). Wir haben untersucht, ob durch die Zugabe von Antiseptika das Wirkspektrum evtl. erweitert wird. Bei allen drei Pseudomonaden tritt das aber nicht ein (Tab. 29, 33, 37).

Tab. 29: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* ATCC 27853 für AMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	0	0	0	0	2,16x10 ⁶
	Isosensitest	0	0	0	0	1,35x10 ⁶
	CSA	0	0	0	0	9,2x10 ⁵
	Blut	0	0	0	0	1,94x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	0	0	0	0	2,16x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	0	0	0	1,35x10 ⁶
	CSA	0	0	0	0	9,2x10 ⁵
	Blut	KW	0	0	0	1,94x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	Wachst. Plättchen	0	0	0	9,2x10 ⁵
	Isosensitest	Wachst. Plättchen	0	0	0	1,76x10 ⁶
	CSA	Wachst. Plättchen	0	0	0	9,2x10 ⁵
	Blut	Wachst. Plättchen	0	0	0	1,94x10 ⁶

Bei *P. aeruginosa* ATCC 27853 weist IMP 10 mit OCT durchweg Wirkungsverstärkungen auf. Mit PHMB sind es durchgehend Hemmungen

außer auf Blutagar (keine Beeinflussung). Mit CHX sind es Wirkungsverstärkungen und Nichtbeeinflussungen (Tab. 30).

Tab. 30: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* ATCC 27853 für IMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	31,5	28	28,5	28	2,16x10 ⁶
	Isosensitest	32	26	25	26	1,35x10 ⁶
	CSA	27,5	24,5	25	22,5	9,2x10 ⁵
	Blut	30	28	28	28	1,94x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	23,5	28	27	28	2,16x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	24	24	26	1,35x10 ⁶
	CSA	20	23	23	22,5	9,2x10 ⁵
	Blut	KW	28	28	28	1,94x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	27	28	28	9,2x10 ⁵
	Isosensitest	KW	26	29	26	1,76x10 ⁶
	CSA	KW	22,5	22,5	22,5	9,2x10 ⁵
	Blut	KW	32	30	30	4,13x10 ⁵

TZP 110 zeigt mit OCT eine Wirkungsverstärkung auf Müller-Hinton- und Blutagar, keine Veränderung auf CSA und eine Hemmung auf Isosensitest-Agar. Mit PHMB sind es durchgehend Wirkungsverstärkungen. Mit CHX gibt es keine Veränderung auf Müller-Hinton-Agar und Isosensitest-Agar, eine Verstärkung auf Blutagar und eine Hemmung auf CSA (Tab. 31)

Tab. 31: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* ATCC 27853 für TZP 110

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	38	35	36	36	2,16x10 ⁶
	Isosensitest	34	32	32	34	1,35x10 ⁶
	CSA	34,5	34	34	35	9,2x10 ⁵
	Blut	36	38	38	36	1,94x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	40	38	38	36	2,16x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	34,5	35,5	34	1,35x10 ⁶
	CSA	35,5	35,5	36,5	35	9,2x10 ⁵
	Blut	KW	37	38	36	1,94x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	38	37	38	9,2x10 ⁵
	Isosensitest	KW	33,5	32	33,5	1,76x10 ⁶
	CSA	KW	35,5	33	35	9,2x10 ⁵
	Blut	KW	36	39	36	1,94x10 ⁶

CAZ 30 zeigt mit den drei Antiseptika alle drei Interaktionsmöglichkeiten, wobei hier CHX mit drei Nichtbeeinflussungen und einer Hemmung am konstantesten abschneidet (Tab 32).

Tab. 32: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* ATCC 27853 für CAZ 30

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	36,5	34	34	34	2,16x10 ⁶
	Isosensitest	31	29	29	32	1,35x10 ⁶
	CSA	31	31	31	31,5	9,2x10 ⁵
	Blut	34	35	37	34	1,94x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	34	34,5	34	34	2,16x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	28	29,5	32	1,35x10 ⁶
	CSA	30,5	31,5	32,5	31,5	9,2x10 ⁵
	Blut	KW	36	34	34	1,94x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	34,5	33,5	35,5	9,2x10 ⁵
	Isosensitest	KW	31	31	31	1,76x10 ⁶
	CSA	KW	31,5	31	31,5	9,2x10 ⁵
	Blut	KW	34	34	34	1,94x10 ⁶

Wie bereits erwähnt, wird *P. aeruginosa* ATCC 9027 durch die Zugabe von Antiseptika gegen AMP 10 nicht sensibel (Tab. 33).

Tab. 33: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* ATCC 9027 für AMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	KW	KW	KW	2,41x10 ⁶
	Isosensitest	KW	KW	KW	KW	2,59x10 ⁶
	CSA	KW	KW	KW	KW	2,25x10 ⁶
	Blut	KW	KW	KW	KW	2,54x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	Kolonien	KW	KW	KW	2,41x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	KW	KW	KW	2,59x10 ⁶
	CSA	KW	KW	KW	KW	2,25x10 ⁶
	Blut	KW	KW	KW	KW	2,54x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	Wachst. Plättchen	KW	KW	KW	2,25x10 ⁶
	Isosensitest	Wachst. Plättchen	KW	KW	KW	6,7x10 ⁵
	CSA	Wachst. Plättchen	KW	KW	KW	2,25x10 ⁶
	Blut	Wachst. Plättchen	KW	KW	KW	2,54x10 ⁶

IMP 10 zeigt bei *P. aeruginosa* ATCC 9027 mit OCT überall Wirkungsverstärkungen bzw. eine Hemmung (CSA). Mit PHMB sind es Verstärkungen auf Müller-Hinton- und Isosensitest-Agar und Hemmungen auf CSA sowie Blutagar. Mit CHX gibt es Hemmungen auf Müller-Hinton-Agar und CSA, eine Verstärkung auf Isosensitest-Agar und keine Beeinflussung auf Blutagar (Tab. 34).

Tab. 34: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* ATCC 9027 für IMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	KW	36	34	30	2,41x10 ⁶
	Isosensitest	33	35	32	31	2,59x10 ⁶
	CSA	23,5	28,5	29	28	2,25x10 ⁶
	Blut	34	33	32	32	2,54x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	Kolonien	32	31	30	2,41x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	30,5	32,5	31	2,59x10 ⁶
	CSA	22	28	28	28	2,25x10 ⁶
	Blut	26	32	32	32	2,54x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	32	31,5	33	2,25x10 ⁶
	Isosensitest	KW	34,5	32	32	6,7x10 ⁵
	CSA	KW	23	25,5	28	2,25x10 ⁶
	Blut	KW	32	32	32	2,54x10 ⁶

TZP 110 zeigt mit OCT ebenfalls dreimal Wirkungsverstärkungen und einmal keine Veränderung (Müller-Hinton-Agar). Mit PHMB gibt es eine Hemmung auf Müller-Hinton-Agar, keine Veränderung auf Isosensitest-Agar und CSA und eine Verstärkung auf Blutagar. Mit CHX sind es durchgehend Wirkungsverstärkungen (Tab. 35).

Tab. 35: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* ATCC 9027 für TZP 110

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	39	37,5	38,5	2,41x10 ⁶
	Isosensitest	36	34	34	34	2,59x10 ⁶
	CSA	40	38	36	35	2,25x10 ⁶
	Blut	40	36	37	34	2,54x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	Kolonien	37	36,5	38,5	2,41x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	34	34	34	2,59x10 ⁶
	CSA	34	36	35	35	2,25x10 ⁶
	Blut	39	35	36	34	2,54x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	40	37,5	36,5	2,25x10 ⁶
	Isosensitest	KW	36	34,5	33,5	6,7x10 ⁵
	CSA	KW	40	36	35	2,25x10 ⁶
	Blut	KW	36	36	34	2,54x10 ⁶

CAZ 30 zeigt mit OCT auf Müller-Hinton-Agar und Blutagar eine Hemmung, auf Isosensitest-Agar und CSA eine Verstärkung. Mit PHMB sind es durchgehend Hemmungen. Mit CHX liegen Wirkungsverstärkungen vor bis auf Blutagar (Hemmung) (Tab. 36).

Tab. 36: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* ATCC 9027 für CAZ 30

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	35,5	36	38	2,41x10 ⁶
	Isosensitest	34	33	33	33	2,59x10 ⁶
	CSA	35	34	33	33	2,25x10 ⁶
	Blut	35	34	36	39	2,54x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	Kolonien	34	34	38	2,41x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	30,5	31	33	2,59x10 ⁶
	CSA	32	35	34	33	2,25x10 ⁶
	Blut	35	36	35	39	2,54x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	37,5	37	33	2,25x10 ⁶
	Isosensitest	KW	38	34	35	6,7x10 ⁵
	CSA	KW	35	35	33	2,25x10 ⁶
	Blut	KW	35	34	39	2,54x10 ⁶

Wie bereits erwähnt, wird *P. aeruginosa* ATCC 15442 durch die Zugabe von Antiseptika gegen AMP 10 nicht sensibel (Tab. 37).

Tab. 37: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* ATCC 15442 für AMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	0	0	0	1,64x10 ⁶
	Isosensitest	0	0	0	0	3,58x10 ⁶
	CSA	0	0	0	0	2,11x10 ⁶
	Blut	0	0	0	0	3,37x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	KW	0	0	0	1,64x10 ⁶
	Isosensitest	0	0	0	0	2,7x10 ⁵
	CSA	0	0	0	0	2,11x10 ⁶
	Blut	0	0	0	0	3,37x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	Wachst. Plättchen	0	0	0	2,11x10 ⁶
	Isosensitest	Wachst. Plättchen	0	0	0	2,7x10 ⁵
	CSA	Wachst. Plättchen	0	0	0	2,11x10 ⁶
	Blut	Wachst. Plättchen	0	0	0	3,37x10 ⁶

Bei *P. aeruginosa* ATCC 15442 zeigt IMP 10 mit OCT durchweg Wirkungsverstärkungen, mit PHMB auf Müller-Hinton- und Isosensitest-Agar ebenfalls, auf den beiden anderen Agarsorten hingegen Hemmungen. Mit CHX liegen auf den zuletzt genannten Agarsorten ebenfalls Hemmungen vor, auf den anderen beiden keine Veränderung (Tab. 38).

Tab. 38: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* ATCC 15442 für IMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	39,5	31,5	32	28,5	1,64x10 ⁶
	Isosensitest	36	33	31	29	3,58x10 ⁶
	CSA	29	29	28	26	2,11x10 ⁶
	Blut	35	26	28	30	3,37x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	KW	30	31	28,5	1,64x10 ⁶
	Isosensitest	29	34	34	29	2,7x10 ⁵
	CSA	20	29,5	25,5	26	2,11x10 ⁶
	Blut	24	30	30	30	3,37x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	31	31,5	31,5	2,11x10 ⁶
	Isosensitest	KW	Kolonien	33	33	2,7x10 ⁵
	CSA	Kolonien	23,5	24	26	2,11x10 ⁶
	Blut	KW	23	29	30	3,37x10 ⁶

TZP 110 zeigt mit OCT keine Veränderung auf; nur auf CSA liegt eine Hemmung vor. Mit PHMB gibt es eine Wirkungsverstärkung auf Isosensitest-Agar und CSA, keine Veränderung auf Blutagar und eine Hemmung auf Müller-Hinton-Agar. Mit CHX gibt es zwei Wirkungsverstärkungen und zwei Hemmungen (Tab. 39).

Tab. 39: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* ATCC 15442 für TZP 110

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	35	36,5	35,5	1,64x10 ⁶
	Isosensitest	32	34	31	32	3,58x10 ⁶
	CSA	31,5	31	32,5	33	2,11x10 ⁶
	Blut	36	36	36	36	3,37x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	KW	34	36	35,5	1,64x10 ⁶
	Isosensitest	36,5	36	36	32	2,7x10 ⁵
	CSA	34,5	33	34	33	2,11x10 ⁶
	Blut	35	37	36	36	3,37x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	36	34	35	2,11x10 ⁶
	Isosensitest	KW	Kolonien	35	34	2,7x10 ⁵
	CSA	Kolonien	30	30	33	2,11x10 ⁶
	Blut	KW	34	35	36	3,37x10 ⁶

CAZ 30 zeigt mit OCT mit Ausnahme von Blutagar (keine Veränderung) durchweg Wirkungsverstärkungen auf. Mit PHMB liegen auf allen Agarsorten – bis auf CSA (Verstärkung) – Hemmungen vor. Mit CHX gibt es bis auf Isosensitest-Agar (Verstärkung) keine Beeinflussung (Tab. 40).

Tab. 40: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* ATCC 15442 für CAZ 30

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	34	33,5	32	1,64x10 ⁶
	Isosensitest	30	34	29	27	3,58x10 ⁶
	CSA	30	30	30	29	2,11x10 ⁶
	Blut	34	34	34	34	3,37x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	KW	30	33,5	32	1,64x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	30,5	31	33	2,7x10 ⁵
	CSA	31	29,5	29	29	2,11x10 ⁶
	Blut	32	34	33	34	3,37x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	34	32	33	2,11x10 ⁶
	Isosensitest	KW	Kolonien	34	31	2,7x10 ⁵
	CSA	Kolonien	29	29	29	2,11x10 ⁶
	Blut	KW	33	34	34	3,37x10 ⁶

Der mukoidbildende *P. aeruginosa* ist empfindlich gegen AMP 10. Mit OCT ergeben sich durchgehend Wirkungsverstärkungen, ebenfalls mit PHMB bis auf CSA (Hemmung). Mit CHX sind zwei Verstärkungen (Isosensitest- und Blutagar) und zwei Hemmungen (Müller-Hinton-Agar und CSA) zu beobachten (Tab. 41).

Tab. 41: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* mukoidbildend für AMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	27,5	21,5	21,5	2,33x10 ⁶
	Isosensitest	KW	Kolonien	33	20	1,49x10 ⁶
	CSA	Kolonien	Kolonien	27	23	1,3x10 ⁵
	Blut	28	28	18	16	1,4x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	KW	28	25	21,5	2,33x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	31	33	20	1,49x10 ⁶
	CSA	Kolonien	20	20	23	1,3x10 ⁵
	Blut	24	20	20	16	1,4x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	30	30	35	1,3x10 ⁵
	Isosensitest	KW	KW	23	23	8,8x10 ⁵
	CSA	KW	22	20,5	23	1,3x10 ⁵
	Blut	Kolonien	24	24	16	1,4x10 ⁶

IMP 10 zeigt mit OCT durchweg Verstärkungen. Mit PHMB resultieren zwei Wirkungsverstärkungen (Müller-Hinton-Agar d CSA) und zwei Hemmungen (Isosensitest- und Blutagar). Mit CHX gibt es Wirkungsverstärkungen auf Müller-Hinton- und Isosensitest-Agar, jedoch keine Veränderung auf Blutagar und Hemmung auf CSA (Tab. 42).

Tab. 42: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* mukoidbildend für IMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	KW	47,5	42	44	$2,33 \times 10^6$
	Isosensitest	KW	Kolonien	49	48	$1,49 \times 10^6$
	CSA	Kolonien	Kolonien	50	40	$1,3 \times 10^5$
	Blut	52	47	45	44	$1,4 \times 10^6$
PHMB	Müller-Hinton	KW	Kolonien	44	44	$2,33 \times 10^6$
	Isosensitest	Kolonien	44,5	44	48	$1,49 \times 10^6$
	CSA	Kolonien	41,5	41	40	$1,3 \times 10^5$
	Blut	41	42	42	44	$1,4 \times 10^6$
CHX	Müller-Hinton	KW	Kolonien	37	38	$1,3 \times 10^5$
	Isosensitest	KW	KW	37	37	$8,8 \times 10^5$
	CSA	KW	36,5	34	40	$1,3 \times 10^5$
	Blut	Kolonien	44	44	44	$1,4 \times 10^6$

TZP 110 zeigt mit OCT und PHMB durchgehend Wirkungsverstärkungen, lediglich mit OCT auf Müller-Hinton-Agar findet keine Beeinflussung statt. Mit CHX ergeben sich außer auf Blutagar (Verstärkung) durchgehend Hemmungen (Tab. 43).

Tab. 43: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* mukoidbildend für TZP 110

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	KW	50	50	50	$2,33 \times 10^6$
	Isosensitest	KW	43	48	44	$1,49 \times 10^6$
	CSA	KW	Kolonien	45	46	$1,3 \times 10^5$
	Blut	50	50	50	48	$1,4 \times 10^6$
PHMB	Müller-Hinton	KW	Kolonien	Kolonien	50	$2,33 \times 10^6$
	Isosensitest	Kolonien	44,5	46,5	44	$1,49 \times 10^6$
	CSA	Kolonien	47,5	47	46	$1,3 \times 10^5$
	Blut	48	49	48	48	$1,4 \times 10^6$
CHX	Müller-Hinton	KW	50	51	51	$1,3 \times 10^5$
	Isosensitest	KW	KW	33	43	$8,8 \times 10^5$
	CSA	KW	34	33	46	$1,3 \times 10^5$
	Blut	KW	50	50	48	$1,4 \times 10^6$

CAZ 30 zeigt mit OCT und PHMB je zwei Verstärkungen und zwei Hemmungen. Mit CHX gibt es Wirkungsverstärkungen auf Isosensitest- und Blutagar; keine Veränderung auf Müller-Hinton-Agar und erneut Hemmung auf CSA (Tab. 44).

Tab. 44: Hemmhöfe (mm) für *P. aeruginosa* mukoidbildend für CAZ 30

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	KW	39	40	41	2,33x10 ⁶
	Isosensitest	KW	37	40	39	1,49x10 ⁶
	CSA	KW	Kolonien	40	41	1,3x10 ⁵
	Blut	48	44	44	42	1,4x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	KW	Kolonien	Kolonien	41	2,33x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	39	40	39	1,49x10 ⁶
	CSA	Kolonien	37,5	40,5	41	1,3x10 ⁵
	Blut	39	40	42	42	1,4x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	43	42,5	43	1,3x10 ⁵
	Isosensitest	KW	KW	37	36	8,8x10 ⁵
	CSA	KW	37	34	41	1,3x10 ⁵
	Blut	KW	44	42	42	1,4x10 ⁶

Bei *E. coli* NCTC 10538 zeigt AMP 10 mit allen dreien Antiseptika Wirkungsverstärkungen oder keine Beeinflussung (Tab. 45).

Tab. 45: Hemmhöfe (mm) für *E. coli* NCTC 10538 für AMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	22,5	22,5	23	2,38x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	26	26	24	2,24x10 ⁶
	CSA	23	22,5	22	21	5,84x10 ⁶
	Blut	21	21	21	22	2,15x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	25	23	23	23	2,38x10 ⁶
	Isosensitest	KW	24,5	28	24	2,24x10 ⁶
	CSA	22	20	20	21	5,84x10 ⁶
	Blut	KW	22	22	22	2,15x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	24	22	24	5,84x10 ⁶
	Isosensitest	KW	20	20	21	2,36x10 ⁶
	CSA	KW	20	20	21	5,84x10 ⁶
	Blut	KW	21	22	22	2,15x10 ⁶

IMP 10 verhält sich in der Kombination mit OCT und PHMB analog. Mit CHX liegen zwei Hemmungen vor (auf Müller-Hinton- und Isosensitest-Agar) (Tab. 46).

Tab. 46: Hemmhöfe (mm) für E. coli NCTC 10538 für IMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	34	33,5	33	2,38x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	36	38	36	2,24x10 ⁶
	CSA	37,5	36,5	36	34	5,84x10 ⁶
	Blut	34	33	33	33	2,15x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	37,5	34	33	33	2,38x10 ⁶
	Isosensitest	KW	38	38	36	2,24x10 ⁶
	CSA	35	35	34,5	34	5,84x10 ⁶
	Blut	KW	33	33	33	2,15x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	34	32,5	34	5,84x10 ⁶
	Isosensitest	KW	36,5	39	39	2,36x10 ⁶
	CSA	KW	34	33,5	34	5,84x10 ⁶
	Blut	KW	34	32	33	2,15x10 ⁶

TZP 110 zeigt mit OCT und PHMB Wirkungsverstärkungen bzw. keine Veränderung. Lediglich auf Blutagar liegen bei beiden Kombinationen Hemmungen vor. Mit CHX ergeben sich Hemmungen auf Blutagar und CSA, aber keine Veränderung auf den anderen beiden Agarsorten (Tab. 47).

Tab. 47: Hemmhöfe (mm) für E. coli NCTC 10538 für TZP 110

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	33,5	32	32,5	2,38x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	34	34	30	2,24x10 ⁶
	CSA	35,5	33	31	33,5	5,84x10 ⁶
	Blut	34	35	35	38	2,15x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	40	33	33	32,5	2,38x10 ⁶
	Isosensitest	KW	35,5	34	30	2,24x10 ⁶
	CSA	33	32,5	34	33,5	5,84x10 ⁶
	Blut	KW	34	37	38	2,15x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	34	34,5	33,5	5,84x10 ⁶
	Isosensitest	KW	34	32	33,5	2,36x10 ⁶
	CSA	KW	32	31	33,5	5,84x10 ⁶
	Blut	KW	36	36	38	2,15x10 ⁶

CAZ 30 zeigt mit OCT, außer auf Blutagar (keine Beeinflussung), Wirkungsverstärkungen. PHMB verhält sich fast gleichartig (Hemmung auf CSA). In Kombination mit CHX kommt es zu Hemmungen auf CSA und Blutagar, einer Wirkungsverstärkung auf Isosensitest-Agar und keiner Veränderung auf Müller-Hinton-Agar (Tab. 48).

Tab. 48: Hemmhöfe (mm) für E. coli NCTC 10538 für CAZ 30

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	37,5	35,5	32	2,38x10 ⁶
	Isosensitest	Kolonien	38	37	34	2,24x10 ⁶
	CSA	39,5	35,5	35	37	5,84x10 ⁶
	Blut	37	37	37	38	2,15x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	Kolonien	36	34,5	32	2,38x10 ⁶
	Isosensitest	KW	39,5	37,5	34	2,24x10 ⁶
	CSA	35	35	36,5	37	5,84x10 ⁶
	Blut	KW	40	38	38	2,15x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	36	35	36	5,84x10 ⁶
	Isosensitest	KW	39	36	35,5	2,36x10 ⁶
	CSA	KW	34,5	33,5	37	5,84x10 ⁶
	Blut	KW	36	38	38	2,15x10 ⁶

Bei E.coli ATCC 11229 zeigt AMP 10 in fast allen Kombinationen Hemmungen. Ausnahmen sind die Kombinationen mit OCT + CHX auf Blutagar (keine Beeinflussung) bzw. mit CHX auf Isosensitest-Agar (Verstärkung) (Tab. 49).

Tab. 49: Hemmhöfe (mm) für E. coli ATCC 11229 für AMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	17,5	19,5	20	4,48x10 ⁶
	Isosensitest	KW	19	23	22	3,61x10 ⁶
	CSA	19	15	17	22	1,9x10 ⁶
	Blut	16	17	17	17	2,43x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	20	18	17	20	4,48x10 ⁶
	Isosensitest	KW	21,5	20,5	22	3,61x10 ⁶
	CSA	KW	15	18,5	22	1,9x10 ⁶
	Blut	20	16	17	17	2,43x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	21	20	20	1,9x10 ⁶
	Isosensitest	KW	20	18	18	2,28x10 ⁶
	CSA	KW	17	16	22	1,9x10 ⁶
	Blut	KW	16	18	17	2,43x10 ⁶

IMP 10 zeigt mit OCT und PHMB ein ähnliches Reaktionsmuster: Wirkungsverstärkung auf Müller-Hinton-Agar und CSA (bzw. Nichtbeeinflussung bei PHMB), Hemmung auf Isosensitest-Agar und keine Veränderung auf Blutagar bzw. Verstärkung (PHMB). Mit CHX gibt es keine Veränderung auf Müller-Hinton-Agar und CSA, Verstärkung auf Isosensitest-Agar und Hemmung auf Blutagar (Tab. 50).

Tab. 50: Hemmhöfe (mm) für E. coli NCTC 11229 für IMP 10

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	34,5	34	32,5	4,48x10 ⁶
	Isosensitest	KW	34	34	36	3,61x10 ⁶
	CSA	40,5	36	35,5	36	1,9x10 ⁶
	Blut	32	34	34	34	2,43x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	41	34	33	32,5	4,48x10 ⁶
	Isosensitest	KW	35	34,5	36	3,61x10 ⁶
	CSA	KW	36	35,5	36	1,9x10 ⁶
	Blut	36	35	34	34	2,43x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	36	35,5	35,5	1,9x10 ⁶
	Isosensitest	KW	35	33	33	2,28x10 ⁶
	CSA	KW	36	35	36	1,9x10 ⁶
	Blut	KW	32	34	34	2,43x10 ⁶

TZP 110 zeigt in allen Kombinationen keine Veränderung mit folgenden Ausnahmen: Verstärkung bei OCT auf CSA, bei PHMB auf Müller-Hinton-Agar und bei CHX auf Isosensitest-Agar (Tab. 51).

Tab. 51: Hemmhöfe (mm) für E. coli NCTC 11229 für TZP 110

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	29,5	30	30	4,48x10 ⁶
	Isosensitest	KW	30	29	30	3,61x10 ⁶
	CSA	33,5	32	30	31	1,9x10 ⁶
	Blut	30	30	30	30	2,43x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	40	31	30	30	4,48x10 ⁶
	Isosensitest	KW	30,5	30	30	3,61x10 ⁶
	CSA	KW	30	30,5	31	1,9x10 ⁶
	Blut	30	30	30	30	2,43x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	31	31	32	1,9x10 ⁶
	Isosensitest	KW	33	32	31,5	2,28x10 ⁶
	CSA	KW	30,5	30	31	1,9x10 ⁶
	Blut	KW	30	30	30	2,43x10 ⁶

CAZ 30 zeigt in allen Kombinationen Verstärkungen bzw. keine Veränderung. Ausnahme ist die Kombination mit OCT auf Müller-Hinton-Agar (Hemmung) (Tab. 52).

Tab. 52: Hemmhöfe (mm) für E. coli NCTC 11229 für CAZ 30

AS	Agar	MHK	1/8 MHK	1/16 MHK	Ko	KBE/ml
OCT	Müller-Hinton	Kolonien	31,5	32,5	33	4,48x10 ⁶
	Isosensitest	KW	34	33	32	3,61x10 ⁶
	CSA	37,5	34	32	32	1,9x10 ⁶
	Blut	35	34	31	34	2,43x10 ⁶
PHMB	Müller-Hinton	43	35	33	33	4,48x10 ⁶
	Isosensitest	KW	34,5	34	32	3,61x10 ⁶
	CSA	KW	31,5	31	32	1,9x10 ⁶
	Blut	35	33	34	34	2,43x10 ⁶
CHX	Müller-Hinton	KW	34	34,5	34,5	1,9x10 ⁶
	Isosensitest	KW	36	35	33	2,28x10 ⁶
	CSA	KW	32	32,5	32	1,9x10 ⁶
	Blut	KW	34	34	34	2,43x10 ⁶

2.2.3 Diskussion

Im Folgendem sind die Ergebnisse der Hauptversuche (nach Antibiotika geordnet) tabellarisch zusammengefasst. Wird mit einer Kombination eine Wirkungsverstärkung erzielt, ist die entsprechende Zelle mit plus (+) markiert und grün unterlegt. Eine Wirkungsverminderung wird durch ein minus (-) und einen roten Hintergrund dargestellt. Liegen keine Beeinflussung bzw. minimale Veränderungen (bis 0,5 mm) vor, ist das durch eine 0 (grauer Hintergrund) dargestellt.

OX 5 weist hauptsächlich Wirkungsverstärkungen mit allen drei Antiseptika auf. Ausnahmen sind sechs Kombinationen, bei denen die Wirkung unbeeinflusst bleibt, und drei Hemmungen (je einmal OCT, PHMB und CHX) auf Blutagar (Tab. 53).

Tab. 53: Interaktionspotential von OX 5 mit den drei Antiseptika

AS AB	OCT				PHMB				CHX			
	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CSA	Blut	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CSA	Blut	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CSA	Blut
S.aureus ATCC 29213	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+
S.aureus ATCC 6538	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	-
Nord-deutscher MRSA	+	+	0	-	+	+	+	-	+	+	+	0

AMP 10 weist für die ersten vier Erreger vor allem Wirkungsverstärkungen mit allen drei Antiseptika auf (lediglich drei Hemmungen und neun Nichtbeeinflussungen). Gegen die ersten drei Pseudomonaden-Stämme hat AMP 10 trotz Zugabe der Antiseptika keine Wirkung. Für den vierten P. aeruginosa-Stamm und die beiden E. coli ist das Interaktionspotential nicht gut, d. h. deutlich mehr Nichtbeeinflussungen und Hemmungen in allen Kombinationen (Tab. 54).

Tab. 54: Interaktionspotential von AMP 10 mit den drei Antiseptika

AS AB	OCT				PHMB				CHX			
	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CSA	Blut	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CSA	Blut	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CSA	Blut
S.aureus ATCC 29213	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+
S.aureus ATCC 6538	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+
E.faecalis ATCC 29212	+	0	+	-	+	+	+	+	0	+	+	-
E faecium ATCC 6057	+	+	0	0	+	+	+	+	0	-	0	0
P. aeruginosa ATCC 27853	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P. aeruginosa ATCC 9027	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P. aeruginosa ATCC 15442	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P. aeruginosa mukoidbildend	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+
E. coli NCTC 10538	0	+	+	0	+	+	0	0	0	0	0	0
E. coli ATCC 11229	-	-	-	0	-	-	-	0	0	+	-	0

IMP zeigt das beste Interaktionspotential mit OCT (lediglich drei Hemmungen und drei Nichtbeeinflussungen). Anders sieht es mit PHMB (zehn Hemmungen und drei fünf Nichtbeeinflussungen) und CHX (neun Hemmungen und elf Nichtbeeinflussungen) aus (Tab. 55).

Tab. 55: Interaktionspotential von IMP 10 mit den drei Antiseptika

AS AB	OCT				PHMB				CHX			
	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CS A	Blut	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CSA	Blut	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CSA	Blut
E. faecalis ATCC 29212	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	+
E. faecium ATCC 6057	+	+	-	+	+	+	+	0	-	0	+	+
P. aeruginosa ATCC 27853	+	+	+	+	-	-	-	0	0	+	0	+
P. aeruginosa ATCC 9027	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	0
P. aeruginosa ATCC 15442	+	+	+	+	+	+	-	-	0	0	-	-
P. aeruginosa mukoidbildend	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	0
E. coli NCTC 10538	0	+	+	0	+	+	0	0	-	-	0	0
E. coli ATCC 11229	+	-	+	0	+	-	0	+	0	+	0	-

TZP 110 zeigt mit OCT und PHMB ein gutes Interaktionspotential (nur drei Hemmungen pro Kombination). In der Kombination mit CHX gibt es mit zehn deutlich mehr Hemmungen (Tab. 56).

Tab. 56: Interaktionspotential von TZP 110 mit den drei Antiseptika

AS	OCT				PHMB				CHX			
	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CSA	Blut	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CSA	Blut	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CSA	Blut
E. faecalis ATCC 29212	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	0
E faecium ATCC 6057	+	0	+	+	+	0	0	+	0	-	0	+
P. aeruginosa ATCC 27853	+	-	0	+	+	+	+	+	0	0	-	+
P. aeruginosa ATCC 9027	0	+	+	+	-	0	0	+	+	+	+	+
P. aeruginosa ATCC 15442	0	0	-	0	-	+	+	0	+	+	-	-
P. aeruginosa mukoidbildend	0	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
E. coli NCTC 10538	0	+	+	-	+	+	0	-	0	0	-	-
E. coli ATCC 11229	0	0	+	0	+	0	0	0	0	+	0	0

Das Interaktionspotential von CAZ 30 ist im Vergleich zu den vorhergehenden schlechter. Mit OCT sind es sechs Hemmungen und vier Nichtbeeinflussungen, mit PHMB elf Hemmungen und vier Nichtbeeinflussungen. Mit CHX gibt es fünf Hemmungen und elf Nichtbeeinflussungen (Tab. 57).

Tab. 57: Interaktionspotential von CAZ 30 mit den drei Antiseptika

AS	OCT				PHMB				CHX			
	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CSA	Blut	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CSA	Blut	Müller-Hinton	Iso-Sensitest	CSA	Blut
P. aeruginosa ATCC 27853	+	-	0	+	0	-	0	+	-	0	0	0
P. aeruginosa ATCC 9027	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
P. aeruginosa ATCC 15442	+	+	+	0	-	-	+	-	0	+	0	0
P. aeruginosa mukoidbildend	-	-	+	+	+	+	-	-	0	+	-	+
E. coli NCTC 10538	+	+	+	0	+	+	-	+	0	+	-	-
E. coli ATCC 11229	-	+	+	0	+	+	0	0	0	+	0	0

2.2.4 Weiterführende Gedanken und Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse können unter verschiedenen Aspekten bewertet werden. Aus den Tabellen 18 - 52 geht hervor, wie komplex die Ergebnisse, bedingt durch den Versuchsaufbau mit vier Variablen (Erreger, Antiseptikum, Antibiotikum, Agar), sind. Wertet man die Ergebnisse nach dem Interaktionspotential der Antiseptika (global gesehen, d.h. mit Vernachlässigung von Erreger und Agar) ergibt sich Folgendes: OCT weist in unseren Versuchen die besten Ergebnisse auf: Insgesamt gibt es 86mal eine Verstärkung der Wirkung, 37mal keine Interaktion und 17mal eine Hemmung (Abb. 23).

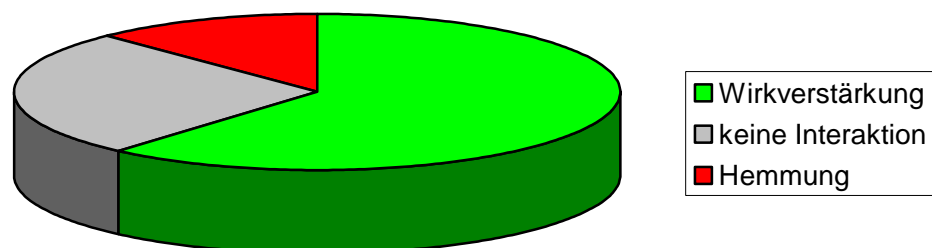


Abb. 23: Interaktionspotential von OCT

PHMB weist bei unseren Versuchen etwas schlechtere Ergebnisse auf: 75mal Wirkungsverstärkung, 36mal keine Interaktion und 29mal Verschlechterung der Wirkung (Abb. 24).

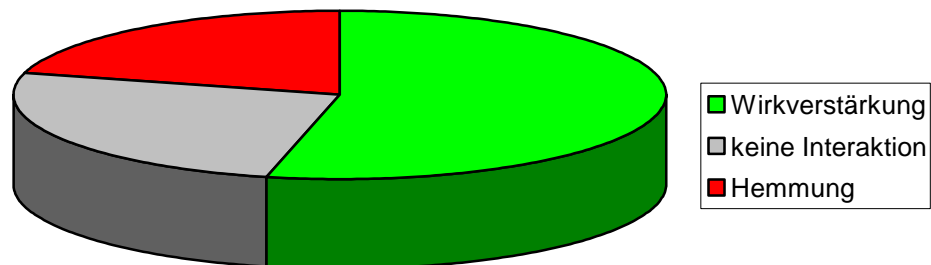


Abb. 24: Interaktionspotential von PHMB

Die Ergebnisse mit CHX sind im Vergleich zu den ersten beiden Antiseptika deutlich schlechter: 49mal Verstärkung der Wirkung, 61mal keine Interaktion und 30mal verminderte Wirkung (Abb. 25).

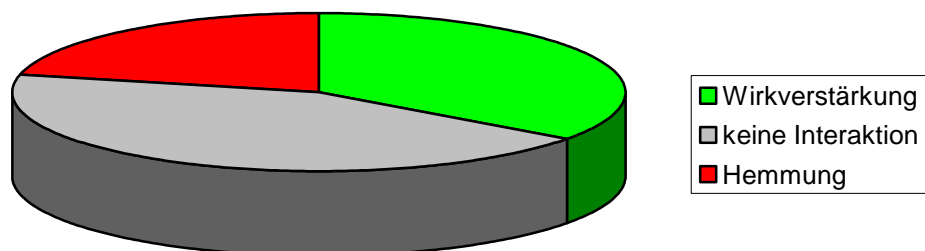


Abb. 25: Interaktionspotential von CHX

Unter klinischen Gesichtspunkten interessiert die Betrachtung der Ergebnisse auf Blutagar am stärksten, weil die Wachstumsbedingungen der menschlichen Wunde durch den Zusatz von defibriniertem Schafblut am nächsten kommen. Die Erythrozyten werden durch den konstanten pH von 6,8 nicht zerstört^[63]. Da

es sich bei chronischen Wunden fast immer um Mischkulturen handelt^{[10][64]}, wird die Antiinfektivtherapie meist kalkuliert durchgeführt: Das Antibiotikum wird auf das erwartete Erregerspektrum abgestimmt^[75]. Die von uns getesteten Erreger entsprechen den in chronischen Wunden am häufigsten nachgewiesenen Erregern^{[10][18][64]}.

In den Tabellen 58 bis 62 werden die Ergebnisse auf Blutagar dargestellt, die eine orientierende Aussage über den Einsatz im Klinikalltag für eine kalkulierte Therapie erlauben. Dabei werden Wirkungsverstärkungen und keine Beeinflussung der Hemmung gegenübergestellt.

OX 5 zeigt mit allen drei Antiseptika das gleiche Interaktionspotential: Wirkungsverstärkungen bzw. Nichtbeeinflussungen sind doppelt so häufig wie Hemmungen, allerdings ist zu berücksichtigen, dass OX 5 nur bei drei Erregern getestet wurde (Tab. 58). Den Einsatz würden wir demnach (in jeder zweiten Kombination Hemmung) als bedenklich ansehen.

Tab. 58: Interaktionspotential von OX 5 auf Blutagar

AS \ Interaktion	+/0	-
OCT	2	1
PHMB	2	1
CHX	2	1

AMP 10 zeigt mit allen drei Antiseptika ein ähnliches Wechselwirkungspotential, was jedoch durch mehr Erreger besser belegt wird. Die Kombination mit allen drei Antiseptika ist vertretbar (Tab. 59).

Tab. 59: Interaktionspotential von AMP 10 auf Blutagar

AS \ Interaktion	+/0	-
OCT	9	1
PHMB	10	0
CHX	9	1

IMP 10 zeigt hervorragende Ergebnisse mit OCT (keine Hemmungen), sollte aber in Kombination mit PHMB bzw. CHX kritisch betrachtet werden (Tab. 60).

Tab. 60: Interaktionspotential von IMP 10 auf Blutagar

AS \ Interaktion	+/0	-
OCT	8	0
PHMB	5	3
CHX	6	2

TZP 110 zeigt gleich gute Ergebnisse mit OCT und PHMB. Mit CHX gibt es eine Hemmung mehr, aber trotzdem ist die Kombination vertretbar (Tab. 61).

Tab. 61: Interaktionspotential von TZP 110 auf Blutagar

AS \ Interaktion	+/0	-
OCT	7	1
PHMB	7	1
CHX	6	2

CAZ 30 zeigt mit OCT in unseren Versuchen Ergebnisse, die eine Kombination erlauben. Eine Kombination mit den anderen beiden Antiseptika sollte gemieden werden (Tab. 62).

Tab. 62: Interaktionspotential von CAZ 30 auf Blutagar

AS \ Interaktion	+/0	-
OCT	5	1
PHMB	3	3
CHX	4	2

3 Zusammenfassung

Im heutigen Klinikalltag werden zur Behandlung chronischer Wunden Antiseptika und Antibiotika häufig kombiniert. Die vorliegende Arbeit hinterfragt diese Kombinationen, da sie oft ohne Wissen möglicher Wechselwirkungen verabreicht werden.

Wir haben das Interaktionspotential der drei Antiseptika Octenidindihydrochlorid, Polihexanid und Chlorhexidindigluconat mit folgenden β -Lactam-Antibiotika untersucht: Oxacillin, Ampicillin, Piperacillin + Tazobactam, Imipenem und Ceftazidim. In der Auswahl der Erreger haben wir uns auf die konzentriert, die statistisch besonders häufig in chronischen Wunden nachgewiesen werden: zwei *S. aureus* Stämme, ein MRSA-Stamm, zwei Enterococcus-, vier Pseudomonaden- und zwei *E. coli*-Stämme. In Vorversuchen haben wir mit der Mikroagardilutionsmethode die MHK's der Erreger der verschiedenen Antiseptika auf den verschiedenen Agarsorten (Müller-Hinton-, Isosensitest-, CSA- und Blutagar) bestimmt. Orientierend an diesen Werten haben wir in den Hauptversuchen mittels Agardiffusions-Dilutions-Combiteest das Interaktionspotential der oben genannten Antiinfektiva untersucht. Dazu haben wir Platten mit den Konzentrationen MHK, 1/8 MHK und 1/16 MHK gegossen. Bei der Auswertung wird deutlich, dass nicht alle Kombinationen bedenkenlos zusammengestellt werden sollten. In unseren Versuchen schneidet OCT am besten ab, hier vor allem die Kombination mit IMP 10. Auch PHMB weist gute Ergebnisse auf und nimmt eine Position zwischen OCT und CHX ein. CHX schneidet bei unseren Versuchen am schlechtesten ab und sollte sehr kritisch eingesetzt werden. Die Ergebnisse machen aber auch deutlich, dass es klare Unterschiede bezüglich der Erreger gibt.

4 Summary

The combined usage of antibiotics and antiseptics for the treatment of chronic wounds is a daily clinical practice. As their combination is frequently used without the knowledge of possible interactions, this dissertation questions its application.

We have tested the interaction of the three antiseptics Octenidindihydrochlorid, Polihexanid und Chlorhexidindigluconat with the following β -lactam-antibiotics: Oxacillin, Ampicillin, Piperacillin + Tazobactam, Imipenem und Ceftazidim.

We have chosen pathogens which are proven to be present frequently in chronic wounds: two strains of *S. aureus*, one MRSA-strain, two strains of *Enterococcus*, four strains of *Pseudomonas* and two strains of *E.coli*.

In pretests, the MICs of the microorganisms of the three antiseptics on the different agar (Mueller Hinton agar, Isosensitestagar, CSA-agar and blood agar) were determined by using the micro agar dilution method.

Considering these results, the interactions were investigated by using agardiffusion-dilution-combitest in our main tests. For these tests we have prepared culture medium with the concentrations MIC, 1/8 MIC and 1/16 MIC.

In conclusion, it becomes apparent that not all combinations are harmless.

OCT turned out to be the best antiseptic in our tests; especially with IMP 10. Similarly, PHMB showed good results and can be classified between OCT and CHX concerning its effects. It could be demonstrated that CHX is the worst antiinfective and therefore its application should be limited. Furthermore our results indicate that the interactional effects differ depending on the pathogens.

5 Literaturverzeichnis

- [1] Akimitsu N, Hamamoto H, Inoue R, Shoji M, Akamine A, Takemori K, Hamasaki N, Sekimizu K. Increase in resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to beta-lactams caused by mutations conferring resistance to benzalkonium chloride, a disinfectant widely used in hospitals (letter). *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 3042-3043.
- [2] American Society for Microbiology . Report on the ASM Task Force on Antibiotic Resistance. American Society for Microbiology. Washington, D.C. 1995.
- [3] Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Antimicrob Chemother* 2001; 48: 5-16.
- [4] Balfour JA, Bryson HM, Brogden RN. Imipenem/Cilastatin: an update of its antibacterial activity, pharmacokinetics and therapeutic efficiency in the treatment of serious infections. *Drugs* 1996; 51(1): 99-136.
- [5] Beyaert G. Das Antibiogramm - Teil 2 Der Agardiffusionstest. *URO-NEWS* 2002; 5: 24-28.
- [6] Burgis E. Intensivkurs Allgemeine und spezielle Pharmakologie. München: Elsevier; 2005; 499.
- [7] Bush K. Charakterisation of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 3: 259-276.
- [8] Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1211-1233.
- [9] Clissold SP, Todd PA, Campoli-Richards DM. Imipenem/Cilastatin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. *Drugs* 1987; 33(3): 183-241.
- [10] Daeschlein G, Kramer A. Mikrobiologische Probenahme bei chronischen Wunden. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip* 2006; 1(1): Doc 10.
- [11] Davies A, Field BS. Action of biguanides, phenols and detergents on *Escherichia coli* and its spheroplasts. *J Appl Bact* 1968; 32: 233-243.
- [12] Denton GW. Chlorhexidin. In: Block SS (ed) *Disinfection, Sterilization and Preservation*, 5th ed. Philadelphia: Lippincott ; 2001; 321-336.

- [13] DIN 58940 Teil 2 Wirkstoffträger für den Agar-Diffusionstest. In: Medizinische Mikrobiologie- Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika. Berlin: Beuth; 2002; 266-275.
- [14] DIN 58940 Teil 3 Agar-Diffusionstest. In: Medizinische Mikrobiologie- Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika. Berlin: Beuth; 2002; 276-308.
- [15] DIN 58940 Teil 4 Bewertungsstufen für die minimale Hemmkonzentration. In: Medizinische Mikrobiologie- Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika. Berlin: Beuth; 2002; 309-323.
- [16] DIN 58940 Teil 6 Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration nach der Agar-Dilution-Methode. In: Medizinische Mikrobiologie- Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika. Berlin: Beuth; 2002; 324-337.
- [17] DIN 58940 Teil 9 Regressionsanalyse zur Korrelation von Hemmhofdurchmesser und minimaler Hemmkonzentration. In: Medizinische Mikrobiologie - Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika. Berlin: Beuth; 2002; 354-360.
- [18] Dissemond J, Schmid EN, Esser S, Witthoff M, Goos M. Untersuchungen zur bakteriellen Kolonisation chronischer Wunden in einer universitären dermatologischen Wundambulanz unter besonderer Berücksichtigung von ORSA. *Hautarzt* 2004; 55: 280-288.
- [19] Dormans JA, von Logten MJ. The effects of ophthalmic preservatives on corneal epithelium of the rabbit: a scanning electron microscopical study. *Toxicol Appl Pharmacol* 1982; 62: 251-261.
- [20] Ellabib M, Ghannoum MA, Whittaker PA. Effects of the pyridinamines octenidine and pirtenidine on yeast mitochondrial function. *Biochim Socrans* 1990; 18(2): 342-343.
- [21] Genné D, Siegrist HH. Vom Antibiogramm zur Wahl eines Antibiotikums. *Schweiz Med Forum* 2003; 20: 464-468.

- [22] Ghannoum MA, Elteen KA, Ellabib M, Whittaker PA. Antimycotic effects of octenidine and pirtenidine. *J Antimicrob Chemother* 1990; 25(2):237-245.
- [23] Gilbert P, Moore LE. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithel. *J Appl Microbiol* 2005; 99: 703-715.
- [24] Gjeramo P. Pharmakodynamische Aspekte über die plaquehemmende Wirkung von Chlorhexidin. *ZWR* 1987; 7: 337-338.
- [25] Hammill MB, Osato MS, Wilhelmus KR. Experimental evaluation of chlorhexidine gluconate for ocular antisepsis. *Antimicrob Agents Chemother* 1984; 26: 793-796.
- [26] Harke HR, Streck M. Octenidin - ein neuer antimikrobieller Wirkstoff. *Hyg Med* 1989; 14: 372-374.
- [27] Hirner A, Weise K. Antiseptische Lösungen. In: *Chirurgie: Schnitt für Schnitt*. Stuttgart:Thieme; 2004; 64
- [28] Hübner NO, Assadian O, Sciermoch K, Kramer A. Interaktionen von Antiseptika und Antibiotika – Grundlagen und erste Ergebnisse in vitro. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip* 2007; 2(2): Doc 59.
- [29] Hübner NO, Sciermoch K, Kramer A. Vergleich von Methoden zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration und Schlussfolgerungen zur Weiterentwicklung der Methoden. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip* 2007; Vol 2 (2): Doc 34.
- [30] Ikeda T, Tazuki S, Watanabe M. Interaction of biologically active molecules with phospholipid membranes. 1. Fluorescence depolarisation studies on the effect of polymeric biocide bearing biguanide groups in the main chain. *Biochim Biophys Acta* 1983; 735: 380-386.
- [31] Ikeda T, Ledwith A, Bamford CH, Harm RA. Interaction of a polymeric biguanide biocide with phospholipid membranes. *Biochem Biophys Acta* 1984; 269: 57-66.
- [32] Ikeda T, Tazuke S, Bamford C, Ledwith A. Spectroscopic studies on the interaction of polymeric in-chain biguanide biocide with phospholipids membranes as probed by 8- anilinonaphthalene-1-sulfonate. *Bull Chem Soc Jpn* 1985; 58: 705-709.

- [33] Irizarry L, Merlin T, Rupp J, Griffith J. Reduced susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to cetylpyridinium chloride and chlorhexidine. *Chemother J* 1996; 42: 248-52.
- [34] Karow T, Lang-Roth R. Chemotherapeutika Antibiotika. In: Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Köln: Eigenverlag Karow; 2004; 691-712
- [35] Kaulfers PM, Laufs R. Transmissible formaldehyde resistance in *Serratia marcescens*. *Zbl Bakt Mikrobiol Hyg B* 1985; 181: 309-319.
- [36] King TC, Schlesinger D, Krogstad DJ. The assessment of antimicrobial combinations. *Rev Infect Dis* 1981; 3(3): 627-633.
- [37] Kramer A, Kedzia W, Lebek G, Grün L, Weuffen W, Poczta A. In-vitro- und In-vivo-Befunde zur Resistenzsteigerung bei Bakterien gegen Antiseptika und Desinfektionsmittel. In: Krasilnikow AP, Kramer A, Gröschel D, Weuffen W (Hrsg) Handbuch der Antiseptik, Bd I/4. Stuttgart: Fischer; 1984; 79-121.
- [38] Kramer A, Chlorhexidin, Octenidin. In: von Bruchhausen F, Ebel S, Frahm AW, Hackenthal E, Holzgrube U, Dannhardt G (Hrsg) Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis Bd. 7 Stoffe A-O. Berlin: Springer; 1993
- [39] Kramer A, Behrens-Baumann W. Prophylactic use of topical anti-infectives in ophthalmology. *Ophthalmologica* 1997; 211: 68-76.
- [40] Kramer A, Rudolph P, Klebingat KJ, Werner HP. Probleme bei der intermittierenden Harnblasenkatheterisierung - Konsequenzen für das Hygiene-management. *Hyg Med* 2000; 25: 77-78.
- [41] Kramer A, Rudolph P, Pitten FA, Behrens-Baumann W, Reimer K, Glück U. Antiseptika im Kampf mit den Keimen. *Pharm Ztg* 2000; 145, 2: 11-19
- [42] 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, Rued CH, Sellmer W, Wewalka G, Eisenbeiß W. Consensus Paper on Wound Antisepsis. *ZFW* 2004; 3: 110-120.
- [43] Kramer A, Pitten FA. Wund- und Schleimhautantiseptikum. 2004; EP-Anmeldung 2004; Nr. 02 748 322.1.

- [44] Kramer A, Daeschlein G, Cergui B, Wagenvoort H. Grundlagen der Krankenhaushygiene. In: Hygiene – Prüfungswissen für Pflege- und Gesundheitsfachberufe. München: Elsevier; 2005; 22
- [45] Kramer A, Müller G, Assadian O. Indikationen und Wirkstoffauswahl zur antiseptischen Therapie sekundär heilender Wunden. GMS Krankenhaushyg Interdiszip 2006; 1(1): Doc32
- [46] Kramer A, Assadian O, Müller G, Reichwagen S, Widulle H, Heldt P, Nürnberg W. Octenidine, Chlorhexidine, Iodine and Iodophors with introductory chapter "Antisepsis". Stuttgart: Thieme; 2008.
- [47] Kramer A, Schauer F, Assadian O, Heldt P. Triclosan. In: Kramer A, Assadian O (Hrsg) Wallhäusers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung. 6.Aufl. Stuttgart: Thieme; 2008; 760-768.
- [48] Kramer A, Roth B. Polihexanid. In: Kramer A, Assadian O (Hrsg) Wallhäusers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung. 6.Aufl. Stuttgart: Thieme; 2008; 789-793.
- [49] Kramer A, Reichwagen S, Widulle S, Heldt P. Chlorhexidinacetat, Chlorhexidindihydrochlorid, Chlorhexidindigluconat. In: Kramer A, Assadian O (Hrsg) Wallhäusers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung. 6.Aufl. Stuttgart: Thieme; 2008; 793-798.
- [50] Kramer A, Müller G. Octenidindihydrochlorid. In: Kramer A, Assadian O (Hrsg) Wallhäusers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung. 6. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2008; 799-805.
- [51] Krasilnikow AP, Adartschenko AA. Resistenzentwicklung von Staph. aureus, Pseud. aeruginosa und Enterobacteriaceae gegen Antiseptika. In: Kramer A, Weuffen W, Krasilnikow AP, Gröschel D, Bulka E, Rehn D (Hrsg) Handbuch der Antiseptik. Bd. II/3. Antibakterielle, antifungielle und antivirale Antiseptik – ausgewählte Wirkstoffe. Stuttgart: Fischer; 1987: 123-142.
- [52] Kummerle N, Feucht HH, Kaulfers PM. Plasmid-mediated formaldehyde resistance in Escherichia coli: characterization of resistance gene. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 2276-2279.
- [53] Kusel C. Wundbehandlung zeitgemäß – professionell - effektiv Teil 3: konservative Therapien. Pflegen Ambulant 2001; 4: 26-29.

- [54] Lebek G. Genetische Grundlagen der Resistenzentwicklung von Mikroorganismen gegenüber Antiseptika bzw. Desinfektionsmitteln. In: Krasilnikow A P, Kramer A, Gröschel D, Weuffen W. (Hrsg) Handbuch der Antiseptik, Bd I/2, Stuttgart: Fischer; 1981; 170-186.
- [55] Lee YY, Hung SL, Pai SF, Lee YH, Yang SF. Eugenol suppressed the expression of lipopolysaccharide-induced proinflammatory mediators in human macrophages. *J Endod* 2007; 33(6): 698-702.
- [56] Livermore DM. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 557-584.
- [57] McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12(1): 147-179.
- [58] Mitchinson C, Pain RH, Vinson JR, Walker T. The relative effectiveness of guanidinium and some biguanide salts as denaturants. *Biochim Biophys Acta* 1983; 743: 31-36.
- [59] Neu HC, Gootz TD. Section 1 Chapter 11 Antimicrobial Chemotherapy. In: Baron S (ed) *Medical Microbiology*, 4th ed. Texas: Medical Branch at Galveston; 1996
- [60] NN. Imipenem / Cilastatin - ein β -Laktam-Antibiotikum mit breitem Spektrum. *Chemother J* 1985; 3.
- [61] NN. Cephalosporine zur parenteralen Applikation. *Chemother J* 1994; 3: 101-115.
- [62] NN. Übersicht β -Lactamase-Inhibitoren. *Chemother J* 1998; 1: 1-3
- [63] Norton JF. Bacteriology of pus. *J Lab Clin Med* 1932; 17: 558-565.
- [64] Piatek S, Tautenhahn J, Lobmann R. Pathogenese und Therapie chronischer Wunden. In: Lippert H (Hrsg) *Kompendium der komplexen Wundbehandlung*, 2. Aufl. Stuttgart, New York: Thieme; 2006; 193.
- [65] Pulverer G, Schaal KP. Nosokomiale Infektionen. In: Kramer A, Heeg P, Botzenhard K (Hrsg) *Krankenhaus- und Praxishygiene*. München: Elsevier; 2001; 11
- [66] Richmond MH, Sykes RB. The β -lactamases of Gram-negative bacteria and their possible physiological role. *Adv Microb Physiol* 1973; 9: 31-88.

- [67] Rodloff AC, Pleß B, Beer J, Spencker FB. In-vitro-Aktivität von Piperacillin/ Sulbactam und Piperacillin/Tazobactam. *Chemother J* 2001; 5: 181-187.
- [68] Roth B, Assadian O, Wurmitzer F, Kramer A. Wundinfektionen nach antiseptischer Primärversorgung kontaminierter traumatischer Wunden mit Polihexanid, PVP-Iod bzw. Wasserstoffperoxid. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip* 2007; 2(2): 58.
- [69] Russell AD, Day MJ. Antibiotics and biocide resistance in bacteria. *Microbios* 1996; 85(342): 45-65.
- [70] Salas Campos L, Gomez Ferrero O, Estudillo Perez V, Fernandez Mansilla M. Preventing nosocomial infections. Dressings soaked in polyhexamethylene biguanide (PHMB). *Rev Enferm* 2006; 29(6): 43-48.
- [71] Sawaii T, Mitsuhashi S, Yamagishi S. Drug resistance of enteric bacteria XIV, Comparison of β -lactamases in gram-negative rod bacteria resistant to alfa-benzyl-Penicilline. *Jpn J Microbiol* 1968; 12: 423- 485.
- [72] Schülke&Mayr GmbH. Octenisept - Das moderne Antiseptikum. Gutachten-Zusammendruck. 3.2.1997. 22840 Norderstedt.
- [73] Schwarzkopf A. Antiinfektiva in der Wundtherapie. *Allgemeinarzt* 2006; 19: 30-32.
- [74] Simon C, Stille W. Antibiotikatherapie in Klinik und Praxis. Stuttgart: Schattauer; 1985
- [75] Stille W, Brodt HR, Groll A, Just-Nübling G. Therapie wichtiger Infektionen In: Antibiotika Therapie – Klinik und Praxis der antiinfektiösen Behandlung 11. Aufl. Schattauer; 2005; 396.
- [76] Vogel F, Worth H, Adam D, Elies W, Ewig S, Höffken G, Lode H, Lorenz J, Scholz H, Stille W, Unertl K, Wiedemann B. Rationale Therapie bakterieller Atemwegsinfektionen. *Chemother J* 2000; 9: 3–22.
- [77] Vogel F, Scholz H. Rationaler Einsatz oraler Antibiotika bei Erwachsenen. *Chemother J* 2002; 11: 47–58.
- [78] Wiedemann B. Bestimmung der Wirksamkeit von Chemotherapeutika. In: Burkhardt F. (Hrsg) Mikrobiologische Diagnostik. Stuttgart: Thieme; 1992; 714-733.
- [79] Zöch G. Wundmanagement – Irrtümer in der Wundbehandlung. *Klinik* 2005; 5: 44-45.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades vorliegt.

Greifswald, den 16.04.2012

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für Hygiene und Umweltmedizin der Universität Greifswald angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt zuallererst Herrn Prof. Dr. Kramer für die interessante Themenstellung, den gewährten wissenschaftlichen Freiraum sowie seine Unterstützung und sein stetiges Interesse an dieser Arbeit. Ich danke Herrn Dr. Hübner, der ein sehr wichtiger Ansprechpartner in der Einarbeitungsphase und darüber hinaus war.

Mein weiterer Dank gilt allen Mitarbeitern des Institutes und hier vor allem den Mitarbeitern des Labors. Hervorheben möchte ich an dieser Stelle Frau Gudrun Lindstedt, die durch ihre Erfahrung und ihr fachliches Wissen immer eine hervorragende Hilfe war.

Ich danke Frau Brigitte Sümnick, die meine komplette Arbeit mehrfach Korrektur gelesen hat und immer ein kompetenter Ansprechpartner in organisatorischen Fragen war.

Ein ganz besonderer Dank gilt auch meiner Kommilitonin, Laborkollegin und Freundin Eva Eckert, mit der ich den experimentellen Teil gemeinsam durchgeführt habe. Sie hat diesen Zeitraum zu einem besonderen Abschnitt gemacht und ich habe die Zusammenarbeit mit ihr sehr geschätzt.

Ich danke meiner Familie, in der mich alle während des gesamten Studiums mit viel Geduld unterstützt haben.

Ein ganz großer Dank gilt auch meinem Freund Daniel. Während der Zeit des praktischen Arbeitens war sein naturwissenschaftliches Wissen zudem oft sehr hilfreich.