

Horst Braunwarth^{1*}, Florian H. H. Brill², Holger Brill²

1 Coloplast GmbH, Hamburg, Deutschland

2 Dr. Brill + Partner GmbH, Institut für Hygiene und Mikrobiologie, Hamburg, Deutschland

Ergebnisse einer in-vitro-Untersuchung zur antimikrobiellen Wirksamkeit von Polihexanid (PHMB)- und Silberionen-freisetzenden Wundauflagen bei verschiedenen pH-Werten

Results of in vitro testing of wound dressings with sustained release of polihexanide (PHMB) and silver ions at different pH values

Schlüsselwörter

Wund-pH-Wert

PHMB

Silberionen

in-vitro-Untersuchung

Antimikrobielle Wundauflagen

Keywords

pH value

PHMB

Silver

in vitro testing

Antimicrobial dressings

Zusammenfassung

Hintergrund: Der Wund-pH-Wert von akuten und chronischen Wunden unterscheidet sich deutlich und verändert sich im Laufe der Wundheilung. Bisher bleiben die klinisch relevanten, unterschiedlichen Wund-pH-Werte bei der Prüfung der in-vitro-Wirksamkeit von antimikrobiellen Wundtherapeutika unberücksichtigt. In der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, ob die in den Wundauflagen verwendeten antimikrobiellen Substanzen – Silberionen und Polihexanid (PHMB) – eine pH-abhängige antimikrobielle Wirkung aufweisen.

Methode: Im Agardiffusionstest wurde an ausgewählten Wundauflagen untersucht, ob die in den Wundauflagen verwendeten und freigesetzten, antimikrobiellen Wirkstoffe – Silberionen und Polihexanid (PHMB) – eine pH-abhängige antimikrobielle Wirkung haben. Prüforganismen waren *Staphylococcus aureus*, Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecium* und *Pseudomonas aeruginosa*. Geprüft wurden Biatain Ag (Schaumverband, Coloplast GmbH, Hamburg), Seasorb Ag (Alginateverband, Coloplast GmbH, Hamburg) und Suprasorb X+PHMB (Hydrobalance Wundverband, Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG, Neuwied).

Ergebnisse: Die PHMB-haltige Wundauflage hatte im sauren pH-Bereich (pH 5,5) gegenüber allen Testkeimen keine Wirkung (Hemmhof 0 mm). Bei pH 6,0 zeigte sich keine Wirkung gegenüber MRSA (Hemmhof 0,3 mm), *E. faecium* und *P. aeruginosa*

(Hemmhof jeweils 0 mm), jedoch eine Hemmwirkung gegenüber *S. aureus* (Hemmhof 1,8 mm). Im neutralen (pH 7,0) und alkalischen Bereich (pH 8,0) besaß diese Wundauflage mit Ausnahme von *P. aeruginosa* eine bakteriostatische Wirkung (Hemmhof 1,0–6,8 mm). Bei pH 9,0 wurde für alle Prüforganismen eine bakteriostatische Wirkung nachgewiesen (Hemmhof 1,5–9,3 mm). Die Silberionen-freisetzenden Wundauflagen zeigten dagegen im getesteten pH-Bereich (5,5 bis 9,0) eine gleichmäßig gute bakterio-statische Wirksamkeit (Hemmhof 0,8–5,5 mm). Für den Schaumverband wurde im Vergleich zum Alginateverband eine stärkere Wirksamkeit nachgewiesen.

Schlussfolgerung: Aus diesen Ergebnissen können noch keine endgültigen Empfehlungen für die Praxis getroffen werden. Unsere Ergebnisse machen jedoch deutlich, dass der pH-Wert der Wunde einen Einfluss auf die antimikrobielle Wirksamkeit von antimikrobiell ausgerüsteten Wundauflagen hat. HygMed 2011; 36 [10]: 393–398

Summary

Background: The pH values in acute and chronic wounds differs and changes however during the wound healing process. Until now wound pH values have not been taken into consideration during efficacy testing of antimicrobial wound therapeutics. Therefore, the present study investigated on the influence of the pH value on the antimicrobial potential of silver ions and polihexanide (PHMB).

*Korrespondierender Autor:

Dr. rer. nat. Horst Braunwarth

Coloplast GmbH

Kuehnstraße 75

22045 Hamburg

E-Mail: dedbr@coloplast.com

Method: We investigated in the agar diffusion assay whether the bacteriostatic efficacy of selected antimicrobial impregnated wound dressings with silver or polyhexanide release is influenced by the pH value. The following test organisms were selected: *Staphylococcus aureus*, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecium* and *Pseudomonas aeruginosa*. Three wound dressings were selected for the tests: Biatain Ag Non Adhesive (foam dressing, Coloplast GmbH, Hamburg), Seasorb Ag (alginate dressing, Coloplast GmbH, Hamburg) and Suprasorb X+PHMB (hydrobalance dressing, Lohmann&Rauscher GmbH&Co. KG, Neuwied).

Results: The polyhexanide containing dressing did not show bacteriostatic efficacy (inhibition zone =) at acid pH values (pH 5,5) for all test organism. At pH 6.0 no bacteriostatic efficacy against MRSA (inhibition zone 0.3 mm), *E. faecium* and *P. aeruginosa* (inhibition zone 0 mm) but an efficacy against *S. aureus* (inhibition zone 1.8 mm) was detected. The test product did not show a bacteriostatic efficacy against *S. aureus*, MRSA and *E. faecium* (inhibition zone 1.0–6.8 mm) at neutral (pH 7.0) and alkaline pH value (pH 8.0), but not against *P. aeruginosa*. However, at pH 9.0 the test product showed an efficacy against all test organisms (inhibition zone 1,5–9,3 mm). The dressings with sustained silver release showed at all pH values a bacteriostatic efficacy (inhibition zone 0.8–5.5 mm). The foam dressing showed a superior efficacy compared to the alginate dressing.

Conclusion: These results do not allow recommendations for the daily practice in wound care for the time being. Nevertheless our results show, that the bacteriostatic efficacy of antimicrobial wound dressing is influenced by the pH value. This should be taken into consideration in clinical practice.

Einleitung

Der Wund-pH-Wert von akuten und chronischen Wunden unterscheidet sich deutlich und verändert sich im Laufe der Wundheilung.

Die Rolle und die Beeinflussung des Wund-pH-Wertes war in der Vergangenheit Gegenstand von Diskussionen und Untersuchungen [1–3]. Die bereits von Greener et al. [4] erarbeiteten Ergebnisse wurden durch andere Untersuchungen bestätigt. So konnten Dissemund et al. nachwei-

sen, dass der in der Wunde gemessene pH-Wert großen individuellen Schwankungen unterliegt und im Bereich zwischen 5,45 und 8,65 liegt [1, 5, 6].

Es konnte gezeigt werden, dass die Anwendung von Wundtherapeutika mit unterschiedlichen pH-Werten keinen messbaren Einfluss auf den Wund-pH-Wert haben [1]. Der Wund-pH-Wert verschiebt sich im Laufe der Wundheilung bei akuten Wunden zuerst ins saure Milieu, dann im weiteren Verlauf deutlich in den alkalischen Bereich, um sich anschließend wieder in den leicht sauren pH-Bereich zu bewegen. Im Gegensatz hierzu liegt der Wund-pH-Wert bei chronischen Wunden meist im leicht alkalischen Bereich [1, 5].

In der Literatur finden sich auch Hinweise, die Wundheilung durch aktive Veränderung des Wund-pH-Wertes positiv zu beeinflussen [7]. Romanelli et al. [8] zeigten in einer kontrollierten, klinischen Studie, dass sich der pH-Wert der Wunde innerhalb von vier Wochen bei Anwendung einer antimikrobiellen Wundspüllösung von 8,9 auf 7,0 reduziert. Diese Reduktion des pH-Wertes war statistisch signifikant ($p < 0,05$). Jedoch ist die Bedeutung sowie die aktive Beeinflussung des Wund-pH-Wertes zur Beschleunigung der Wundheilung noch nicht abschließend geklärt und bewertet. Daher gibt es noch keine allgemein akzeptierten Behandlungskonzepte, die dieser Fragestellung Rechnung tragen.



Abbildung 1: Beispiel für die Hemmhofbildung im Agardiffusionstest (Bebrütung bei 37 °C).

Neben den Erkenntnislücken sind hierfür auch Kostengründe verantwortlich [7].

Die lokale antimikrobielle Behandlung von kritisch kolonisierten bzw. lokal infizierten Wunden ist heute Standard [9]. Die Wirkung verschiedener Verfahren ist sowohl in vitro als auch durch klinische Studien belegt [10–12]. Die Prüfungen der in vitro-Wirksamkeit von antimikrobiellen Wundtherapeutika berücksichtigt bisher jedoch nicht die klinisch relevanten unterschiedlichen Wund-pH-Werte.

Wir untersuchten deshalb, ob die in den Wundaufgaben verwendeten antimikrobiellen Substanzen – Silberionen und Polyhexanid (PHMB) – eine pH-abhängige antimikrobielle Wirkung aufweisen.

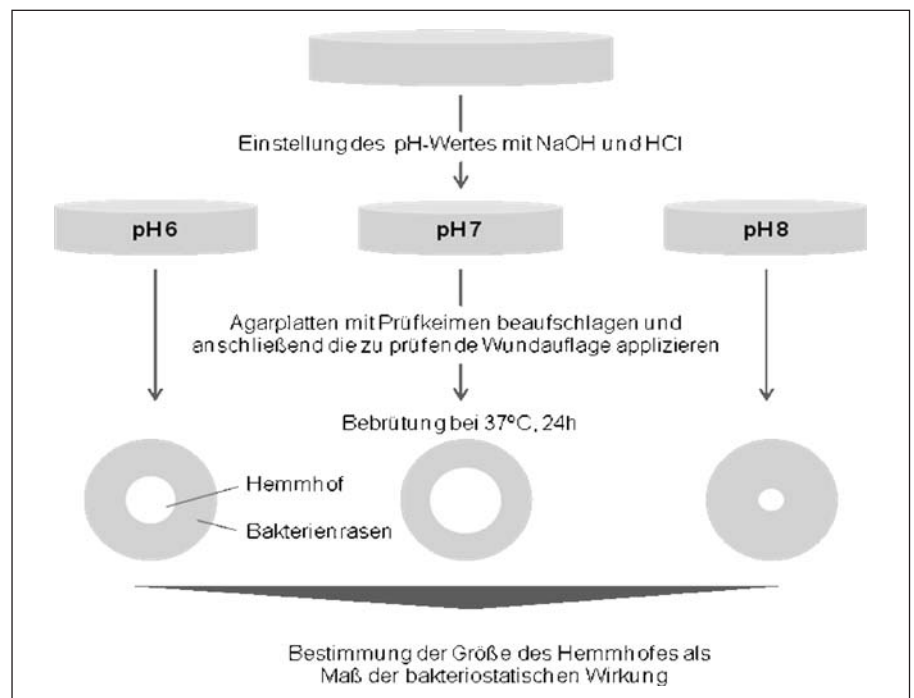


Abbildung 2: Versuchsablauf.

Material und Methode

Material

Testkeime

(Bezugsquelle DSMZ, Braunschweig)

- *Staphylococcus aureus* ATCC 33592 (MRSA-Stamm)
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6438
- *Enterococcus faecium* ATCC 13590 (VRE-Stamm)
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

Beschreibung der Wundauflagen

- Silber-Schaumverband: Biatain Ag nicht haftend (Coloplast GmbH, Hamburg)
- Silber-Alginatverband: Seasorb Ag (Coloplast GmbH, Hamburg)
- PHMB: Hydrobalance Wundverband (Zelluloseverband): Suprasorb X+PHMB (Lohmann & Rauscher GmbH & Co, KG, Neuwied)

Methode

Die Prüfung der Hemmwirkung wurde im Agardiffusionstest in Anlehnung an DIN 58940 [13] durchgeführt, da dieser Test schnell und einfach durchführbar ist und dem Wirkprinzip einer Wundauflage in Annäherung entspricht. Mit einem Agardiffusionstest kann die bakteriostatische

Tabelle 1: Mittelwerte der Gewichtsaufnahme in Gramm der Wundauflagen aus drei Bestimmungen. \pm = Standardabweichung; nd = Versuch nicht durchgeführt; ¹ 2 cm Prüfkörper mit 0,26 g Ausgangsgewicht; ² 2 cm Prüfkörper mit 0,07 g Ausgangsgewicht; ³ 2 cm Prüfkörper mit 0,04 g Ausgangsgewicht.

Wundauflage	Tauchzeit in Sekunden			
	2	8	15	30
Biatain Ag ¹	0,29	0,77 \pm 0,21	0,83 \pm 0,27	0,82 \pm 0,38
Suprasorb X+PHMB ²	nd	nd	nd	0,035 \pm 0,07
SeaSorb Ag ³	0,63	0,64 \pm 0,10	0,70 \pm 0,04	0,65 \pm 0,14

(Bakterien im Wachstum hemmende) Wirkung gemessen werden.

Auf einen Nährboden werden hierfür Prüfbakterien gleichmäßig verteilt und zentral ein kreisrunder Testkörper appliziert. Wenn aus dem Testkörper eine antimikrobielle Substanz, z. B. Silberionen, in den Agar in ausreichender Konzentration abgegeben werden und in den Agar hinein diffundieren können, entfalten sie unter dem Testkörper, z. B. einer Wundauflage, und im Bereich um den Testkörper herum eine antimikrobielle Wirkung. Wenn diese Wirkung ausreichend ist, bildet sich ein Hemmhof, also ein Bereich in dem keine Bakterien wachsen. Dieser Hemmhof wird in mm gemessen. Sobald sich ein Hemmhof bildet (ab 1 mm Größe), zeigt der Testkörper eine bakteriostatische Wirkung. Je größer der

Hemmhof ist, desto stärker ist die bakteriostatische Wirkung (Abbildung 1).

Der Wirkstoff muss im Agardiffusionstest („nach unten“) in den Agar diffundieren und im wässrigen Milieu des Nährbodens wirken. Limitierend bei dieser Prüfmethode ist neben dem in-vitro-Charakter, die fehlende Verwendung einer zusätzlichen Proteinbelastung, die in einer Wunde vorhanden wäre und die Wirksamkeit beeinflussen kann. Dies spielt für das Ziel der Untersuchungen keine wesentliche Rolle, da keine Wirksamkeitsaussage unter klinischen Bedingungen getroffen werden sollte.

Die pH-Werte der Nährböden wurden mit NaOH und HCl vor der Sterilisation im Autoklaven auf pH-Werte von 5,0, 6,0, 7,0, 8,0 und 9,0 eingestellt. Die pH-Werte nach der Sterilisation hatten sich teilweise ge-

Tabelle 2: Mittelwerte aus einer Doppelbestimmung der Hemmhöfe (in mm) nach 24, 48 und 72 Stunden. Bebrütung bei 36 °C. WK = Wachstumskontrollen bei allen pH-Werten; + = identisch zu pH-Optimum 7,2, \pm = Wachstum geringfügig schlechter.

		<i>S. aureus</i> ATCC 33592 (MRSA)				<i>S. aureus</i> ATCC 6438				<i>E. faecium</i> ATCC 13590 (VRE)				<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442			
		Seasorb Ag	Biatain Ag	Suprasorb X+PHMB	WK	Seasorb Ag	Biatain Ag	Suprasorb X+PHMB	WK	Seasorb Ag	Biatain Ag	Suprasorb X+PHMB	WK	Seasorb Ag	Biatain Ag	Suprasorb X+PHMB	WK
24 h	pH 5,5	2,8	3,3	0	0	3,0	3,5	0	0	2,0	3,0	0	0	2,8	4,5	0	0
	pH 6,0	1,5	1,8	0,3	0	2,3	2,0	1,8	0	1,3	1,5	0	0	2,0	3,5	0	0
	pH 6,9	0,8	1,5	4,0	0	1,8	1,0	4,3	0	1,8	1,8	1,0	0	2,0	2,8	0	0
	pH 8	1,0	1,3	5,8	0	0,3	1,0	6,8	0	2,3	1,3	2,5	0	1,3	3,0	0,5	0
	pH 9	0,8	2,3	8,0	0	0,5	1,5	9,3	0	0	2,0	3,0	0	1,0	2,8	1,5	0
48 h	pH 5	2,5	2,3	0	0	3,0	2,8	0	0	1,1	1,5	0	0	2,3	3,0	0	0
	pH 6	1,3	0,8	0,5	0	2,3	1,3	1,8	0	0,8	0,8	0	0	1,8	2,8	0	0
	pH 7	0,8	1,0	4,0	0	0,8	0,5	4,3	0	1,5	1,0	1,0	0	1,8	2,3	0	0
	pH 8	0,5	0,6	5,8	0	0	0,5	6,5	0	1,5	0,8	2,5	0	0,8	2,3	0,3	0
	pH 9	0,6	1,8	8,0	0	0,3	1,5	8,8	0	0	1,5	2,8	0	0,5	2,3	1,3	0
72 h	pH 5	2,5	2,3	0	0	3,0	2,8	0	0	1,5	1,5	0	0	2,3	3,0	0	0
	pH 6	1,3	0,8	0,5	0	2,3	1,3	1,8	0	0,8	0,8	0	0	1,8	2,8	0	0
	pH 7	0,8	1,0	4,0	0	0,8	0,5	4,3	0	1,5	0,8	1,0	0	1,8	2,3	0	0
	pH 8	0,5	0,6	5,8	0	0	0,5	6,5	0	1,5	0,8	2,5	0	0,8	2,3	0,3	0
	pH 9	0,6	1,8	8,0	0	0,3	1,5	8,8	0	0	1,5	2,8	0	0,5	2,3	1,3	0

Tabelle 3: Hemmwirkung von Suprasorb X+PHMB im Agardiffusionstest in Anlehnung an DIN58940 (Mittelwerte aus einer Doppelbestimmung, Hemmhof in mm). WK = Wachstumskontrollen bei allen pH-Werten; + = identisch zu pH-Optimum 7,2; ± = Wachstum geringfügig schlechter.

Testkeim	h	Hemmhof in mm					WK
		pH 5,5	pH 6,0	pH 6,9	pH 7,8	pH 9,3	
<i>S. aureus</i> ATCC 33592 (MRSA) Ausgangskeimzahl 5 × 10 ⁷ KBE/ml	24	0	0,3	4,0	5,8	8,0	+
	48	0	0,5	4,0	5,8	8,0	+
	72	0	0,5	4,0	5,8	8,0	+
<i>S. aureus</i> ATCC 6438 Ausgangskeimzahl 1,7 × 10 ⁷ KBE/ml	24	0	1,8	4,3	6,8	9,3	+
	48	0	1,8	4,3	6,5	8,8	+
	72	0	1,8	4,3	6,5	8,8	+
<i>E. faecium</i> ATCC 13590 (VRE) Ausgangskeimzahl 1,2 × 10 ⁷ KBE/ml	24	0	0	1,0	2,5	3,0	±
	48	0	0	1,0	2,5	2,8	±
	72	0	0	1,0	2,5	2,8	±
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 Ausgangskeimzahl 3,4 × 10 ⁷ KBE/ml	24	0	0	0	0,5	1,5	+
	48	0	0	0	0,3	1,3	+
	72	0	0	0	0,3	1,3	+

Tabelle 4: Hemmwirkung von Biatain Ag nicht haftend im Agardiffusionstest in Anlehnung an DIN 58940 (Mittelwerte aus einer Doppelbestimmung, Hemmhof in mm). WK = Wachstumskontrollen bei allen pH-Werten; + = identisch zu pH-Optimum 7,2; ± = Wachstum geringfügig schlechter.

Testkeim	h	Hemmhof in mm					WK
		pH 5,5	pH 6,0	pH 6,9	pH 7,8	pH 9,3	
<i>S. aureus</i> ATCC 33592 (MRSA) Ausgangskeimzahl 5 × 10 ⁷ KBE/ml	24	3,3	1,8	1,5	1,3	2,3	+
	48	2,3	0,8	1,0	0,6	1,8	+
	72	2,3	0,8	1,0	0,6	1,8	+
<i>S. aureus</i> ATCC 6438 Ausgangskeimzahl 1,7 × 10 ⁷ KBE/ml	24	3,5	2,0	1,0	1,0	1,5	+
	48	2,8	1,3	0,5	0,5	1,5	+
	72	2,8	1,3	0,5	0,5	1,5	+
<i>E. faecium</i> ATCC 13590 (VRE) Ausgangskeimzahl 1,2 × 10 ⁷ KBE/ml	24	3,0	1,5	1,8	1,3	2,0	±
	48	1,5	0,8	1,0	0,8	1,5	±
	72	1,5	0,8	0,8	0,8	1,5	±
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 Ausgangskeimzahl 3,4 × 10 ⁷ KBE/ml	24	4,5	3,5	2,8	3,0	2,8	+
	48	3,0	2,8	2,3	2,3	2,3	+
	72	3,0	2,8	2,3	2,3	2,3	+

ringförmig verändert (Tabellen 1 bis 4). Da es möglich ist, dass durch die Einstellung des pH-Wertes zum Teil unphysiologische Wachstumsbedingungen für die Bakterien entstehen, wurden Wachstumskontrollen durchgeführt. Das Wachstum der Prüforganismen wurde auf unbehandelten Nährböden kontrolliert.

Die Wundauflagen wurden für die Prüfung ausgestanzt (20 mm Durchmesser) und für 30 Sekunden in physiologische Kochsalzlösung getaucht. In Vorversuchen hatte sich gezeigt, dass die ausgewählten Wundauflagen nach 30 Sekunden ausreichend Flüssigkeit aufnahmen (Tabelle 1).

Anschließend wurden die Prüfkörper auf die mit den Testorganismen beimpften Agarplatten unter leichtem Druck aufgelegt und für 24, 48 und 72 Stunden bei 36 °C bebrütet (Abbildung 2).

Die Ausgangskeimzahlen betragen ca. 10⁷ Koloniebildende Einheiten/ml (KBE/ml). Die Tests wurden jeweils als Doppelbestimmung durchgeführt. Eine statistische Berechnung und Bewertung erfolgte nicht. Zusätzlich wurde als interner Standard die quaternäre Ammoniumverbindung Didecyl-dimethyl-ammoniumchlorid (Bardac 22, Chargen-Bez. X 003 163 B 01, Fa. Lonza, Basel) als Positivkontrolle verwendet.

Diese wurde auf Antibiotika-Testplättchen mit 6 mm Durchmesser gegeben und diese getränkten Testplättchen als Prüfkörper verwendet. Diese Positivkontrollen wurden mit dem grampositiven Bakterium *Staphylococcus aureus* ATCC 6438 und dem gramnegativen Bakterium *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 durchgeführt.

Ergebnisse

Es konnten deutliche Unterschiede hinsichtlich der bakteriostatischen Wirksamkeit der geprüften Wundauflagen mit den beiden Wirkstoffen Silberionen und PHMB festgestellt werden (Tabelle 2).

Die Wundauflage mit PHMB (Tabelle 3) zeigte im leicht sauren pH-Bereich (pH 5,5) gegenüber allen Testkeimen keine Wirkung. Bei pH 6,0 wurde ebenfalls keine Wirkung gegenüber MRSA, *E. faecium* und *P. aeruginosa*, jedoch eine Wirkung gegenüber *S. aureus* (Hemmhof 1,8 mm) festgestellt. Bei neutralem pH-Wert (pH 7,0) und im alkalischen Bereich (pH 8,0) war mit Ausnahme von *P. aeruginosa* eine bakteriostatische Wirkung messbar (Hemmhöfe 1,0–6,8 mm). Bei pH 9,0 zeigte die mit PHMB ausgerüstete Wundauflage für alle Prüforganismen eine Hemmwirkung (Hemmhof 1,5–9,3 mm).

Die Silberionen-freisetzenden Wundauflagen (Tabelle 4 und 5) zeigten dagegen im getesteten pH-Bereich 5,5 bis 9,0 eine bakteriostatische Wirksamkeit (Hemmhof 0,8–5,5 mm). Für den Schaumverband wurde im Vergleich zum Alginatverband eine stärkere Wirksamkeit detektiert.

Die Ergebnisse des internen Standards (Positivkontrolle Bardac 22) sind in der Tabelle 6 zusammengefasst. Für Bardac 22 wiesen wir eine stärkere Hemmwirkung beim grampositiven Bakterium *S. aureus* ATCC 6438 (Hemmhof 8,3 ± 1,1 mm) und eine geringere Hemmwirkung bei dem gramnegativen Bakterium *P. aeruginosa* ATCC 15442 (Hemmhof 2,9 ± 0,2 mm) nach.

Diskussion

Bei akuten Wunden wird zu Beginn der Wundheilung eine Absenkung des pH-Wertes der Wunde beobachtet, wofür im Wesentlichen die CO₂-Anreicherung durch die Stase und ein erhöhter O₂-Bedarf verantwortlich sind. In chronischen Wunden liegen andere Verhältnisse vor, da die natürliche Heilungskaskade gestört ist. Diese

Tabelle 5: Hemmwirkung von Seasorb Ag im Agardiffusionstest in Anlehnung an DIN 58940 (Mittelwerte aus einer Doppelbestimmung, Hemmhof in mm). WK = Wachstumskontrollen bei allen pH-Werten; + = identisch zu pH-Optimum 7,2; ± = Wachstum geringfügig schlechter.

Testkeim	h	Hemmhof in mm					WK
		pH 5,5	pH 6,0	pH 6,9	pH 7,8	pH 9,3	
<i>S. aureus</i> ATCC 33592 (MRSA) Ausgangskonzentration 5×10^7 KBE/ml	24	2,8	1,5	0,8	1,0	0,8	+
	48	2,5	1,3	0,8	0,5	0,5	+
	72	2,5	1,3	0,8	0,5	0,5	+
<i>S. aureus</i> ATCC 6438 Ausgangskonzentration $1,7 \times 10^7$ KBE/ml	24	3,0	2,3	1,8	0,3	0,5	+
	48	3,0	2,3	0,8	0	0,3	+
	72	3,0	2,3	0,8	0	0,3	+
<i>E. faecium</i> ATCC 13590 (VRE) Ausgangskonzentration $1,2 \times 10^7$ KBE/ml	24	2,0	1,3	1,8	2,3	0	±
	48	1,1	0,8	1,5	1,5	0	±
	72	1,5	0,8	1,5	1,5	0	±
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 Ausgangskonzentration $3,4 \times 10^7$ KBE/ml	24	2,8	2,0	2,0	1,3	1,0	+
	48	2,3	1,8	1,8	0,8	0,5	+
	72	2,3	1,8	1,8	0,8	0,5	+

Verhältnisse führen dazu, dass der pH-Wert üblicherweise im alkalischen Bereich zwischen pH 8 und 9 liegt. In chronischen Wunden sind zahlreiche proteolytische Enzyme, z. B. Metalloproteinase-2 (MMP-2), aktiv, die die Wundheilung unterstützen. Greener et al. [4] zeigten, dass das pH-Wert-Optimum einzelner proteolytischer Enzyme im alkalischen Bereich, z. B. für MMP-2 bei 8,0 und damit im pH-Bereich von chronischen

Wunden liegt. Eine Verschiebung des pH-Wertes in Richtung 6,0 senkt die entsprechende Enzymaktivität um ca. 40–90 %.

Die Wirksamkeit von antimikrobiellen Wirkstoffen wird in vitro üblicherweise bei einem neutralen pH-Wert gemessen und trägt demnach der Wundphysiologie insbesondere chronischer Wunden nicht ausreichend Rechnung. Diese Frage wurde in der vorliegenden Untersuchung aufgegriffen.

Tabelle 6: Hemmwirkung von Bardac 22 (0,5 Vol-% Didecyl-dimethyl-ammoniumchlorid) im Agardiffusionstest in Anlehnung an DIN 58940 (Mittelwerte aus 6 Testserien, Hemmhof in mm).

Prüfkeim	Hemmhof in mm
<i>S. aureus</i> ATCC 6438	8,3 mm ± 1,1
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442	2,9 mm ± 0,2

fen. Die Ergebnisse zur bakteriostatischen Wirksamkeit der geprüften Wundaufgaben sind wirkstoffspezifisch bezogen auf den pH-Wert unterschiedlich. Die Resultate der in-vitro-Wirksamkeiten zu PHMB bei pH-Werten ≥ 7 stimmen gut mit theoretischen Überlegungen überein: Die Nettoladung von Bakterien durch die Phosphoglyceride der Zellmembranen sind in diesem pH-Bereich neutral bis negativ. Damit ist die Interaktion mit dem zweifach positiv geladenen Molekül PHMB möglich [14].

Bei sauren pH-Werten waren die Silberionen-freisetzenden Wundaufgaben wirksamer als die PHMB-freisetzende Wundaufgabe. Bei alkalischen pH-Werten war dies umgekehrt. Die Silberionen-freisetzenden Wundaufgaben zeigten darüber hinaus im Vergleich zur PHMB-freisetzenden Wundaufgabe eine weniger pH-abhängige bakteriostatische Wirksamkeit (Tabelle 7).

Tabelle 7: Hemmwirkung der geprüften Wundaufgaben Biatain Ag, Seasorb Ag und Suprasorb X+PHMB. Ein Hemmhof ≥ 1 mm wurde als wirksam (ohne besondere Markierung) und ein Hemmhof ≤ 1 mm wurde als nicht wirksam (grauer Hintergrund) bewertet.

		<i>S. aureus</i> ATCC 33592 (MRSA)			<i>S. aureus</i> ATCC 6438			<i>E. faecium</i> ATCC 13590 (VRE)			<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442		
		Seasorb Ag	Biatain Ag	Suprasorb X+PHMB	Seasorb Ag	Biatain Ag	Suprasorb X+PHMB	Seasorb Ag	Biatain Ag	Suprasorb X+PHMB	Seasorb Ag	Biatain Ag	Suprasorb X+PHMB
24 h	pH 5,5	2,8	3,3	0	3,0	3,5	0	2,0	3,0	0	2,8	4,5	0
	pH 6,0	1,5	1,8	0,3	2,3	2,0	1,8	1,3	1,5	0	2,0	3,5	0
	pH 6,9	0,8	1,5	4,0	1,8	1,0	4,3	1,8	1,8	1,0	2,0	2,8	0
	pH 8	1,0	1,3	5,8	0,3	1,0	6,8	2,3	1,3	2,5	1,3	3,0	0,5
	pH 9	0,8	2,3	8,0	0,5	1,5	9,3	0	2,0	3,0	1,0	2,8	1,5
48 h	pH 5	2,5	2,3	0	3,0	2,8	0	1,1	1,5	0	2,3	3,0	0
	pH 6	1,3	0,8	0,5	2,3	1,3	1,8	0,8	0,8	0	1,8	2,8	0
	pH 7	0,8	1,0	4,0	0,8	0,5	4,3	1,5	1,0	1,0	1,8	2,3	0
	pH 8	0,5	0,6	5,8	0	0,5	6,5	1,5	0,8	2,5	0,8	2,3	0,3
	pH 9	0,6	1,8	8,0	0,3	1,5	8,8	0	1,5	2,8	0,5	2,3	1,3
72 h	pH 5	2,5	2,3	0	3,0	2,8	0	1,5	1,5	0	2,3	3,0	0
	pH 6	1,3	0,8	0,5	2,3	1,3	1,8	0,8	0,8	0	1,8	2,8	0
	pH 7	0,8	1,0	4,0	0,8	0,5	4,3	1,5	0,8	1,0	1,8	2,3	0
	pH 8	0,5	0,6	5,8	0	0,5	6,5	1,5	0,8	2,5	0,8	2,3	0,3
	pH 9	0,6	1,8	8,0	0,3	1,5	8,8	0	1,5	2,8	0,5	2,3	1,3

Die zweite im Markt verfügbare Wundauflage mit PHMB, Kendall AMD Schaumverband (Covidien, Neustadt), wurde nicht in die Prüfungen einbezogen, da diese Wundauflage nach Herstellerangaben kein PHMB (in die Wunde) abgibt und daher im gewählten Prüfdesign keine Wirkung zu erwarten gewesen wäre.

Die Verwendung des internen Standards erlaubt eine unmittelbare, vergleichende Bewertung mit den antimikrobellen ausgerüsteten Wundauflagen. Von Didecyl-dimethyl-ammoniumchlorid (DDAC) ist bekannt, dass es eine ausgesprochen gute Hemmwirkung gegenüber Bakterien besitzt [15].

Der Vergleich der bakteriostatischen Wirksamkeiten mit dem internen Standard DDAC zeigte, dass sowohl die Silberionen als auch die PHMB-freisetzenden Wundauflagen eine ähnliche Wirksamkeit aufweisen. Alle drei Produkte haben damit ein relevantes antimikrobielles Potenzial. Es ist zu erwarten, dass sie in der klinischen Anwendung in einer Wunde die Bakterienbelastung deutlich reduzieren können. Hierbei sind die pH-Wert-abhängigen Unterschiede zu berücksichtigen.

Es ist eine Vielzahl Silberionenhaltiger und -freisetzender Wundauflagen verfügbar. Einige dieser Wundauflagen setzen Silberionen in z. T. sehr unterschiedlichen Mengen frei [16]. Aufgrund dieser Tatsache können die hier gewonnenen Ergebnisse nicht auf alle silberhaltigen Wundauflagen übertragen werden.

Die Ergebnisse zeigen, auch ohne statistische Analyse, dass die bakteriostatische Wirksamkeit sich wundauflagenspezifisch und pH-abhängig deutlich unterscheidet. Für die Unterschiede zwischen der Silber-Alginat- und der Silber-Schaum-Wundauflage dürfte die unterschiedliche Freisetzung von Silberionen ursächlich sein. Dem Unterschied zwischen der PHMB-freisetzenden Wundauflage und den Silber-freisetzenden Wundauflagen scheint ein wirkstoffspezifischer Unterschied zu Grunde zu liegen, der mit dem speziellen oben kurz beschriebenen Wirkprinzip von PHMB zusammenhängen könnte.

Außerdem ist zu berücksichtigen, dass beim Agardiffusionstest die Wirkstoffe in den Agar diffundieren müssen, um eine Wirksamkeit zu zeigen. Dies kann bei großen Molekülen, wie z. B. PHMB, ein limitierender Faktor sein.

Die vorliegende Untersuchung verdeutlicht, dass die bisherige Praxis der in-vitro-Prüfungen von antimikrobiell ausgerüsteten Wundauflagen nicht optimal ist. Es wird dringend ein einheitlicher, europaweit anerkannter Prüfstandard benötigt, der einen praxisnahen vorklinischen Wirksamkeitsnachweis erlaubt. Nur so kann eine einheitliche und für den Anwender transparente Wirksamkeitsbewertung der verschiedenen am Markt befindlichen Wundauflagen erfolgen. In Zukunft sollte bei der Bewertung der antimikrobiellen Wirksamkeit neben der Wirkstofffreisetzung auch und insbesondere der pH-Wert berücksichtigt werden. Es ist möglich, dass der Wund-pH-Wert den Erfolg einer bestimmten Therapie direkt beeinflusst. Um diesen direkten Zusammenhang zu belegen, wären weitere auch klinische Untersuchungen notwendig.

Fazit für die Praxis

Die im Laborversuch nachgewiesenen teilweise pH-Wert-abhängigen Unterschiede der bakteriostatischen Wirksamkeit von Silber-Ionen und PHMB-freisetzenden Wundauflagen lassen sich nicht direkt auf die Praxis übertragen. Es ist jedoch möglich, dass der Wund-pH-Wert den Erfolg einer bestimmten Therapie direkt beeinflusst. Sollte in der Praxis die gewählte Behandlungsstrategie nicht zum gewünschten Heilungserfolg führen, sollten die Ergebnisse dieser Untersuchung berücksichtigt und ggfs. eine Änderung der antimikrobiellen Therapie erwogen werden.

Interessenkonflikt

Diese Studie wurde teilweise von der Firma Coloplast GmbH, Hamburg finanziell unterstützt. Der Autor Dr. Horst Braunwarth ist Mitarbeiter der Coloplast GmbH, Hamburg.

Literatur

1. Dissemmond J, Witthoff M, Brauns TC, Haberer D, Goos M: Ph values in chronic wounds. Evaluation during modern wound therapy. *Hautarzt* 2003; 54: 959–65.
2. Hamacher S, Matern S, Roeb E: Extracellular matrix-from basic research to clinical significance. An overview with special consideration of matrixmetalloproteinases. *Dtsch Med Wochenschr* 2004; 129 (38): 1976–80.
3. Rushton I: Understanding the role of proteases and pH in wound healing. *Nurs Stand* 2007; 21 (32): 68–72.
4. Greener B, Hughes AA, Bannister NP, Douglass J: Proteases and pH in chronic wounds. *J Wound Care* 2005; 14(2): 59–61.
5. Dissemmond J: Der Einfluss des pH-Wertes auf die Wundheilung. *ZfW* 2004; 9:242–43.
6. Dissemmond J: Die Bedeutung des pH-Wertes für die Wunde. *Hartmann Wundforum* 2006; 1:15–19.
7. Vin F, Teot L, Meaume S: The healing properties of Promogran in venous leg ulcers. *J Wound Care* 2002; 11(9):335–41.
8. Romanelli M, Dini V, Barbanera S, Bertone MS: Evaluation of the Efficacy and Tolerability of a Solution Containing Propyl Betaine and Polihexanide for Wound Irrigation. *Skin Pharmacol Physiol* 2010;23 (suppl 1):41–44.
9. Kramer A et al.: Konsensusempfehlung zur Auswahl von Wirkstoffen zur Wundantiseptik. *ZfW* 2004; 9 (4): 110–120.
10. Carter MJ, Tingley-Kelley K, Warriner RA: Silver treatments and silver-impregnated dressings for the healing of leg wounds and ulcers: A systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol* 2010; 63:668–79.
11. Goroncy-Bermes P, Brill H, Christiansen B, Braunwarth H: Wird die lokale Wirksamkeit von Wundantiseptika durch moderne Wundauflagen beeinträchtigt? *ZfW* 2002; 7:177–81.
12. Hübner NO, Kramer A: Review on the Efficacy, Safety and Clinical Applications of Polihexanide Modern Wound Antiseptic in Polihexanide – A New Option for Wound Treatment. *Skin Pharmacol Physiol* 2010; 23 (suppl 1): 17–27.
13. DIN 58940 Medizinische Mikrobiologie: Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika. Beuth Verlag 1999.
14. Kaehn K: Polihexanide: A Safe and Highly Effective Biocide in Polihexanide - A New Option for Wound Treatment. *Skin Pharmacol Physiol* 2010; 23 (suppl 1): 7–16.
15. Wallhäußer: Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung. 6. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2008.
16. Schwarzkopf A, Brill H, Buchholtz Ch, Braunwarth H: Freisetzung von Silberionen aus Schaumverbänden. *Wundmanagement* 2010; 4 [1]: 10–13.

Dieser Artikel ist im Original in der Zeitschrift *Wundmanagement* des mhp-Verlags erschienen: *WundM* 2011; 5 [3]: 119–125.