

Bakteriostatische und bakterizide in-vitro-Wirksamkeit antimikrobieller Wundauflagen unter organischer Belastung

Bacteriostatic and bactericidal in-vitro efficacy of antimicrobial wound dressings under organic load conditions

H. Braunwarth, F. H. H. Brill, H. Brill

ZUSAMMENFASSUNG

Studiendesign: Für eine wirksame antimikrobielle lokale Wundbehandlung müssen mit Silberverbindungen oder Polihexanid ausgerüstete Wundauflagen in Gegenwart hoher Eiweißkonzentrationen wirksam sein. Silber wird jedoch ein hoher Eiweißfehler zugeschrieben. Ziel der Untersuchung war, in in-vitro-Versuchsmodellen, den Einfluss von Eiweiß auf die bakteriostatische und bakterizide Wirkung eines Silberionen-freisetzenden Schaumverbands zu bestimmen.

Methodik: Die antimikrobielle Wirksamkeit eines Silberionen-freisetzenden Schaumverbands (Biatain® Ag) und einer PHMB-freisetzenden Wundauflage (Suprasorb® X + PHMB) gegenüber *Pseudomonas aeruginosa*, Methicillin-Resistentem *Staphylococcus aureus* (MRSA) und Vancomycin-Resistentem *Enterococcus faecium* (VRE) wurde in zwei Testverfahren geprüft. Im Agardiffusionstest wurde die bakteriostatische Wirksamkeit in Anlehnung an DIN 58940 bestimmt. Außerdem wurde eine auf Basis der DIN 58940 und der DIN EN 13727 neu entwickelte Prüfmethodik zur Bestimmung der bakteriziden Wirksamkeit eingesetzt. Bei diesem Verfahren werden nach einer Einwirkzeit von 24 h wurden die Wirkstoffe inaktiviert und die Reduktionsfaktoren (RF) berechnet.

Ergebnisse: Erwartungsgemäß zeigten beide Wundauflagen eine bakteriostatische und bakterizide Wirksamkeit. Mit steigen-

der Eiweißkonzentration reduzierte sich die Wirksamkeit beider Wundauflagen: Bei Silber ist dieser Effekt stärker als bei Polihexanid. Überraschenderweise war jedoch auch bei einer hohen Eiweißbelastung mit 9 % Albumin noch eine bakteriostatische und bakterizide Wirksamkeit der Silberionen freisetzenden Wundauflage nachweisbar. Es ergaben sich nach 24 h Einwirkzeit folgende RF: MRSA 5,04, VRE 2,96, *Pseudomonas aeruginosa* 3,66.

Schlussfolgerungen: Beide in-vitro-Prüfmodelle sind geeignet, das antimikrobielle Potential von Wundauflagen zu bestimmen. Die Gegenwart von Eiweiß reduziert die Wirksamkeit der Wundauflagen. Auch unter einer wundrelevanten organischen Belastung wurde jedoch eine ausreichende bakteriostatische und bakterizide Wirkung nachgewiesen.

SCHLÜSSELWÖRTER

Antimikrobielle Wundauflagen, Silberwundauflagen, bakteriostatische Wirksamkeit, bakterizide Wirksamkeit, Agardiffusionstest, Organische Belastung, Prüfmethodik, Silber, Silberionen, PHMB, Polihexanid, Eiweißfehler

SUMMARY

Study design: For a sufficient antimicrobial wound treatment silver- and polihexanide-releasing wound dressings have to remain active in the presence of high protein concentrations. However, for silver a significant influence of proteins is expected. The aim of this in-vitro-study was, therefore, to measure the influence of proteins on the bacteriostatic and bactericidal efficacy of a silver-releasing foam dressing.

Methods: The antimicrobial efficacy of a silver-releasing foam dressing (Biatain® Ag) and a polihexanide-releasing wound

dressing (Suprasorb® X + PHMB) against *Pseudomonas aeruginosa*, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* (VRE) was measured in two in-vitro assays. The bacteriostatic efficacy was determined in an agar diffusion assay based on DIN 58940. To measure the bactericidal efficacy a new developed test method based on DIN 58940 and EN 13727 was used. In this method the active agents were inactivated after the exposure time of 24 h and the corresponding reduction factor (RF) have been determined.

Results: As expected both wound dressings showed a bacteriostatic and a bactericidal efficacy. Increased protein burden reduced the efficacy of the dressings. This effect was stronger for silver compared to polihexanide. However, also with a high protein presence of 9 % albumin the silver dressing remained active. The following reduction factors were distributed with a contact time of 24 h: MRSA 5.04, VRE 2.96, *Pseudomonas aeruginosa* 3.66.

Conclusion: Both in-vitro-test assays were able to determine the antimicrobial potential of the wound dressings. Protein burden reduces the efficacy of the products. However, also in presence of high protein concentrations simulating wound conditions, the tested wound dressings showed a sufficient bacteriostatic and bactericidal efficacy.

KEYWORDS

Antimicrobial wound dressings, silver wound dressings, bacteriostatic efficacy, bactericidal efficacy, agar diffusion assay, organic burden, organic load, organic soil, test method, silver, silver ions, PHMB, polihexanide

Dr. rer. nat. Horst Braunwarth
Coloplast GmbH
Kuehnstraße 75, 22045 Hamburg
E-Mail: dedbr@coloplast.com

Dr. rer. nat. Florian H. H. Brill,
Dr. rer. nat. Holger Brill
Dr. Brill + Partner GmbH
Institut für Hygiene und Mikrobiologie
Stiegstück 34, 22339 Hamburg

I Einleitung

Es wurde bereits gezeigt, dass die pH-Werte in der Wunde einen entscheidenden Einfluss auf die antimikrobielle Wirksamkeit von Wundauflagen haben [1, 11, 13]. Neben dem pH-Wert und der Gegenwart verschiedener Mikroorganismen muss jedoch bei der Behandlung akuter und chronischer Wunden auch in Betracht gezogen werden, dass organisches Material wie Blut, Proteine und Fibrin die Wirksamkeit antimikrobieller Wundtherapeutika beeinflusst. Dieser Effekt ist bekannt und in der Literatur beschrieben [8, 12]. Es ist generell zu erwarten, dass die Wirksamkeit mit steigender organischer Belastung abnimmt, da die Wirkstoffe mit Proteinen reagieren oder interagieren [12]. Insbesondere oxidierenden Wirkstoffen wie Povidon-Iod [5] oder auch Silber-Verbindungen [8] wird ein besonders hoher Eiweißfehler zugeschrieben. Die Grundlage dieser Einschätzung sind die Ergebnisse von in-vitro Untersuchungen im qualitativen oder quantitativen Suspensionsversuch. Dieser Versuchsansatz spiegelt jedoch die Anwendungsbedingungen einer Wundauflage unzureichend wider.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es daher mit zwei verschiedenen in-vitro-Verfahren, die dem Wirkmechanismus und der Anwendung von Wundauflagen näher kommen, zu prüfen, inwieweit die bakteriostatische (Bakterien hemmende) und die bakterizide (Bakterien abtötende) Wirksamkeit von Silber-Ionen, die aus einer Schaumstoff-Wundauflage freigesetzt werden, und von Polihexamethylenbiguanid (PHMB) aus einer PHMB-freisetzenden Wundauflage, durch die Gegenwart von organischem Material beeinträchtigt wird.

I Material und Methode

Material

Folgende kreisrunde Prüfkörper mit einem Durchmesser von 20 mm kamen zum Einsatz:

1. Biatain Ag, Coloplast GmbH, Hamburg. Ch.Bez. 1672340
2. Suprasorb X + PHMB, Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG, Neuwied. Ch. Bez. 2980530131
3. Sterile Gaze mit WSH, Dr. Brill + Partner GmbH, Hamburg (Kontrolle Bakterizide Wirksamkeitsprüfung)

Zur Einstellung der Proteinbelastung wur-

de Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar (CSA) mit 0,3 %, 3,0 %, 6,0 % und 9,0 % Rinderalbumin versetzt. Eine Albuminkonzentration über 9 % konnte in CSA nicht eingestellt werden.

Folgende Prüforganismen kamen zum Einsatz (Bezugsquelle Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ), Braunschweig):

1. Methicillin-Resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA), ATCC 33952
2. Vancomycin-Resistenter *Enterococcus faecium* (VRE), ATCC 13590
3. *Pseudomonas aeruginosa*, ATCC 15442

Prüfung der bakteriostatischen Wirksamkeit in Anlehnung an DIN 58940

Grundlage der Untersuchung war die DIN 58940 (1999). Die Agarböden (CSA) wurden mit den Prüforganismen beimpft. Danach erfolgte die Applikation der Probekörper. Biatain Ag und Suprasorb X + PHMB wurden vor der Applikation für 30 Sekunden in 0,9 %iger NaCl-Lösung getränkt, um eine vollständige Befeuchtung der Wundauflage vor Versuchsbeginn zu erreichen.

Nach einer Einwirkzeit von 24 h wurden die Hemmhöfe um die Prüfkörper gemessen.

Prüfung der bakteriziden Wirksamkeit

Die Prüfmethode wurde neu entwickelt und erstmals in der beschriebenen Form durchgeführt [2]. Grundlage der Methodenentwicklung waren die DIN 58940 (1999) [7] sowie die DIN EN 13727 (2004) [15]. Die Agarböden wurden mit Prüforganismen beimpft. Danach erfolgte die Applikation der Probekörper auf die kontaminierten Oberflächen der Agarböden. Die Silberionen freisetzende Wundauflage wurden vor der Applikation für 30 Sekunden in 0,9 %iger NaCl-Lösung getränkt.

Nach einer Einwirkzeit von 24 h wurde der Agarboden direkt und exakt unter den Probekörpern (Durchmesser 20 mm) entnommen und mit der nach DIN EN 13727 (2004) validierten Inaktivierungskombination aus 80 g/L Polysorbat 80, 60 g/L Saponin, 8 g/L Lecithin und 20 g/L Natriumdodecylsulfat versetzt, um die Wirkung der antimikrobiellen Substanz zu beenden. Im Walkmischer (Stomacher) er-

folgte die Homogenisierung des Agars mit der Inaktivierungslösung. Aus der homogenisierten Suspension wurde die Lebendkeimzahl auf CSA bestimmt.

Parallel wurde nach dem beschriebenen Verfahren eine Kontroll-Untersuchung mit Wasser standardisierter Härte (WSH) getränkter steriler Baumwollgaze durchgeführt. Damit ist die quantitative Bestimmung des Reduktionsfaktors (RF) möglich. Die Reduktionsfaktoren wurden aus der Differenz der Keimzahlen am Ende der Kontroll-Versuche sowie der Lebendkeimzahl der Versuche mit den Probekörpern berechnet und als \log_{10} dargestellt:

$$\log_{10} \text{Koloniebildende Einheiten (KBE)/ml Kontrollversuch WSH} - \log_{10} \text{KBE/ml Probekörper} = \text{RF}$$

I Ergebnisse

Biatain Ag zeigte eine ausgeglichene bakteriostatische Wirksamkeit gegenüber den Prüforganismen. Die Wirksamkeit wurde durch die Gegenwart von Albumin reduziert. Jedoch war bei allen geprüften organischen Belastungen, auch noch bei 9 % Albumin, eine bakteriostatische Wirkung nachweisbar.

Die bakteriostatische Wirksamkeit von Suprasorb X + PHMB war prüforganismenspezifisch unterschiedlich. Die Wirksamkeit gegenüber MRSA war am stärksten und etwas schwächer gegenüber *Enterococcus faecium* (VRE). Gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* ist das Produkt an der Grenze zur Wirksamkeit. Der Wirkstoff PHMB aus Suprasorb X + PHMB zeigte jedoch nur einen geringen Eiweißfehler, der niedriger war als bei Biatain Ag (Tabelle 1).

Biatain Ag zeigte eine bakterizide Wirksamkeit gegenüber allen Prüforganismen. Diese Wirkung war erwartungsgemäß abhängig von der Albuminkonzentration. Mit steigender Albuminkonzentration reduzierte sich die bakterizide Wirksamkeit. Jedoch war auch bei einer hohen Proteinkonzentration von 9 % Albumin noch eine bakterizide Wirksamkeit nachweisbar. Bei dieser hohen organischen Belastung lag der Reduktionsfaktor für MRSA bei 5,04, für VRE bei 2,96 und für *Pseudomonas aeruginosa* bei 3,66 (Tabelle 2 und Abbildung 1).

I Diskussion

Nach Pitten et al. [12] sind (flüssige) Wundantiseptika ab einem Reduktions-

Tabelle 1

Ergebnisse im Agardiffusionstest in Anlehnung an DIN 58940 der Silberionen-Freisetzenden Wundauflage Biatain Ag und der PHMB-freisetzenden Wundauflage Suprasorb X+PHMB. Angegeben sind die Mittelwerte der Hemmhöfe in mm und die Standardabweichungen aus je 10 Paralleluntersuchungen.

Albumin-konzentration	Hemmhof in [mm]					
	MRSA ATCC 33592, (2,5 x 10 ⁶ KBE/ml)*		<i>Enterococcus faecium</i> (VRE) ATCC 13590, (3,0 x 10 ⁶ KBE/ml)*		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442, (2,6 x 10 ⁶ KBE/ml)*	
	Biatain Ag	SuprasorbX + PHMB	Biatain Ag	SuprasorbX + PHMB	Biatain Ag	SuprasorbX + PHMB
0,3 % Albumin	2,1 ± 0,6	3,5 ± 0,5	2,4 ± 0,9	2,2 ± 0,2	3,9 ± 1,1	0,7 ± 0,2
3,0 % Albumin	1,0 ± 0,3	3,5 ± 0,5	1,9 ± 0,6	1,5 ± 0,3	2,0 ± 0,6	0,5 ± 0,3
6,0 % Albumin	1,1 ± 0,7	3,0 ± 0,0	2,1 ± 0,9	1,0 ± 0,0	2,3 ± 0,8	0,8 ± 0,4
9,0 % Albumin	1,1 ± 0,4	3,0 ± 0,0	2,0 ± 0,6	1,0 ± 0,0	2,0 ± 0,9	0,8 ± 0,4

* Ausgangskeimzahlen der Prüforganismen.

Tabelle 2

Bakterizide Wirksamkeit im modifizierten Agardiffusionstest in Anlehnung an DIN 58940 und DIN EN 13727 der Silberionenfreisetzenden Wundauflage Biatain Ag und Gaze+WSH (Kontrolle). Für Biatain Ag sind die Mittelwerte der Reduktionsfaktoren (log RF) und die Standardabweichungen aus je 3 Paralleluntersuchungen angegeben.

Albumin-konzentration	Reduktionsfaktor		
	MRSA ATCC 33592, (1,5 x 10 ⁸ KBE/ml)*	<i>Enterococcus faecium</i> (VRE) ATCC 13590, (2,0 x 10 ⁸ KBE/ml)*	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442, (2,2 x 10 ⁸ KBE/ml)*
	Biatain Ag	Biatain Ag	Biatain Ag
0,0 % Albumin	7,9 ± 0,7	5,9 ± 0,1	6,0 ± 0,2
3,0 % Albumin	7,6 ± 0,4	5,5 ± 0,6	6,5 ± 0,0
6,0 % Albumin	4,2 ± 0,1	6,2 ± 0,2	6,6 ± 0,6
9,0 % Albumin	5,0 ± 0,5	3,0 ± 0,2	3,7 ± 0,3

* Ausgangskeimzahlen der Prüforganismen.

faktor von 3, der innerhalb von 1 Stunde Einwirkzeit erreicht werden sollte, als ausreichend bakterizid wirksam zu bewerten. Eine weitere Bedingung ist eine praxisrelevante organische Belastung mit 4,5 % Rinderserumalbumin, 4,5 % Blut und 1 % Mucin. In den vorliegenden Untersuchungen wurde die organische Belastung ausschließlich mit aus Rinderserumalbumin (Proteingemisch) eingestellt. Mucin wurde nicht berücksichtigt, weil diese Proteinklasse nur in Schleimhäuten vorkommt, die eingesetzten Wundauflagen aber insbesondere für die Behandlung chronischer Wunden eingesetzt werden. In diesen Wunden spielt Blut keine entscheidende Rolle. Jedoch könnte der Einsatz von z. B. Schafblut in weiteren Untersuchungen Erkenntnisse über das Verhalten der Wundauflagen in z. B. akuten, traumatischen Wunden erbringen. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass bei der eingestellten organischen Belastung die Bedingungen in einer chronischen Wunde recht realistisch simuliert worden sind. Eine höhere organische Belastung mit Albumin konnte im eingesetzten Agarmedium auf-

grund einer begrenzten Löslichkeit nicht eingestellt werden. Es konnte daher in diesem Versuchsmodell nicht die organische Belastung festgestellt werden, bei der keine antimikrobielle Wirkung mehr nachweisbar ist.

Bei infektionsgefährdeten und infizierten Wunden erfolgt der erste Verbandwechsel üblicherweise nach einem Tag und die darauffolgenden Verbandwechsel, je nach Wundzustand, im Durchschnitt nach 2 bis 3 Tagen [10], so dass die Wundauflagen mindestens 24 h Zeit haben, um ihre Wirksamkeit zu entfalten. Die Einwirkzeit wurde deshalb auf 24 h festgesetzt. Antimikrobiell ausgerüstete Wundauflagen haben das therapeutische Ziel, dass sich die mikrobiologische Belastung während der Tragezeit nicht erhöht und im optimalen Fall sogar reduziert. Es scheint deshalb sinnvoll, Produkte als ausreichend wirksam zu bewerten, die einen Reduktionsfaktor von größer zwei unter praxisrelevanter organischer Belastung innerhalb von 24 h erreichen.

Die von uns erarbeiteten Ergebnisse stimmen mit den Ergebnissen aus dem Ob-

jektträgerstest [6] überein. In diesem Versuchsmodell werden auf eine rostfreie Stahlplatte Mikroorganismen in einem Belastungsmedium, das u. a. 10 % fötales Rinderserum enthält, appliziert und anschließend 30 Minuten angetrocknet. Die zu prüfende Wundauflage wird dann auf den Objektträger gelegt und die Zahl der überlebenden Mikroorganismen nach definierten Zeitabständen bestimmt. Für Biatain Ag wurden nach 24 Stunden Reduktionsfaktoren (log RF) bei *Staphylococcus aureus* von 1,90 (SD ± 0,15), bei MRSA von 3,10 (SD ± 0,18) und bei *Pseudomonas aeruginosa* von 2,10 (SD ± 0,14) gemessen. Die Keimreduktionen sind nach 30 Minuten (*Pseudomonas aeruginosa*), 3 Stunden (MRSA) bzw. 10 Stunden statistisch signifikant höher im Vergleich zu derselben Wundauflage ohne Silberionen.

Methicillin-Sensitiver *S.aureus* (MSSA) und MRSA können eine unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber antimikrobiellen Substanzen aufweisen. Für den Silberionenkomplex in Biatain Ag wurde eine stärkere Empfindlichkeit als gegenüber MSSA nachgewiesen [3, 6]. Eine klinische

Relevanz hat dieser Effekt jedoch nicht, da für eine Anwendungsempfehlung die Testergebnisse mit MSSA herangezogen werden und daher eine sichere Wirkung gegenüber MSSA und MRSA gewährleistet ist.

Aus unserer Sicht sind beide eingesetzten in-vitro-Prüfmodelle geeignet, das antimikrobielle Potential bezüglich der bakteriostatischen und bakteriziden Wirksamkeit von Wundauflagen nachzuweisen. Das Versuchsdesign zur Prüfung der bakteriziden Wirksamkeit von Wundauflagen hat plausible Resultate geliefert. Es wird ebenfalls in der Laborroutine als praktikabel bewertet. Die vorgeschlagene Prüfmethodik scheint damit geeignet zu sein, die bakterizide Wirksamkeit von Wundauflagen zu prüfen. Insbesondere die neue Methodik zur Prüfung der bakteriziden Wirksamkeit kann einen wichtigen Beitrag zur Wirksamkeitsbewertung antimikrobiell ausgerüsteter Wundauflagen liefern [2]. Natürlich sind in-vitro-Modelle immer nur eine Vorstufe eines klinischen Wirksamkeitsnachweises, jedoch geben sie wichtige Hinweise, die auch für den Praktiker hilfreich sind.

Unter Berücksichtigung dieser Fakten wurde mit beiden Prüfmodellen überraschenderweise gezeigt, dass auch hohe organische Belastungen bis zu 9 % Albumin, die bakteriostatische und bakterizide Wirksamkeit einer Wundauflage, die Silberionen freisetzt zwar reduzierte, jedoch nicht aufhob. Offensichtlich behält zumindest das eingesetzte Prüfprodukt (Biatain® Ag) mit seiner Silberkonzentration und Darreichungsform auch unter hoher Eiweißkonzentration, also unter wundrelevanten Bedingungen, eine bakteriostatische und bakterizide Wirkung. Der geringste Reduktionsfaktor, der bei 9 %iger Albuminbelastung nachgewiesen wurde, war gegenüber *Enterococcus faecium* (VRE) 2,98. Damit ergab sich immer noch eine deutliche Keimreduktion um nahezu 99,9 % innerhalb von 24 h. Diese Keimreduktion erlaubt es auch unter diesen Bedingungen dem Prüfprodukt eine ausreichende bakterizide Wirkung zuzusprechen.

Es ist wahrscheinlich, dass Wundauflagen mit anderen Silberkonzentrationen und Darreichungsformen differierende Ergebnisse liefern. Dennoch scheint der Eiweißfehler, der dem Wirkstoff Silber zugesprochen wird, geringer zu sein als erwartet, auch wenn unser Versuchsaufbau bestätigt, dass sich die antimikrobielle Wirksamkeit von Silber-Ionen bei steigender or-

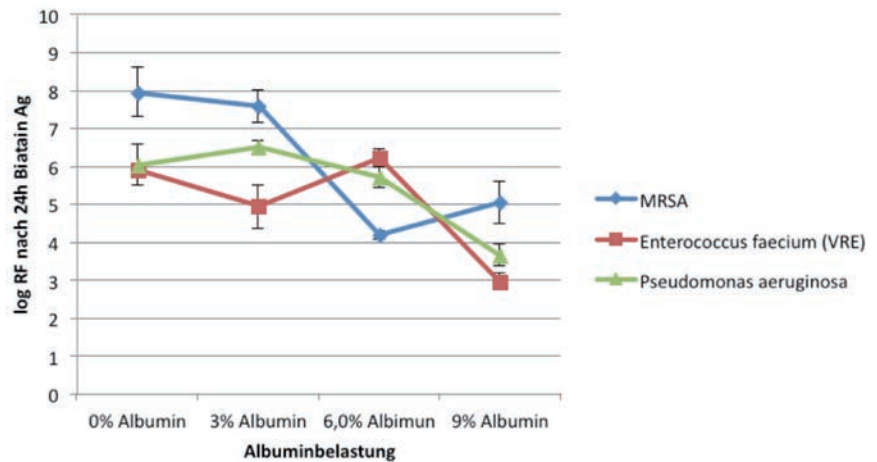


Abbildung 1
Bakterizide Wirksamkeit im modifizierten Agardiffusionstest in Anlehnung an DIN 58940 und DIN EN 13727 der Silberionen-Freisetzenden Wundauflage Biatain Ag. Angegeben sind die Mittelwerte der Reduktionsfaktoren (log RF) nach 24 Stunden und die Standardabweichungen aus je 3 Paralleluntersuchungen als Fehlerbalken.

ganischer Belastung reduziert, d. h. ein Eiweißfehler besteht. Deshalb kann jedoch nicht generell bei allen Silberprodukten davon ausgegangen werden, dass sie unter hoher organischer Belastung keine oder keine ausreichende Wirksamkeit mehr besitzen. Allerdings kann dies durch unsere Untersuchungen auch nicht ausgeschlossen werden, weshalb z. B. klinischen Studien in Zukunft wünschenswert wären. Unsere Ergebnisse ergänzen die bisherigen in vitro-Untersuchungen, die sich ausführlich mit Fragen der Toxizität, der Konzentrationsabhängigkeit der antimikrobiellen Wirkung, der Biofilmproblematik beschäftigten. Wir teilen auch die in der Literatur geäußerte Vorsicht vor Übertragbarkeit von in vitro Ergebnissen auf die klinische Praxis [5]. Dennoch liefern valide in vitro-Untersuchungen oftmals wertvolle Hinweise für klinischen Einsatz der Produkte.

Literatur

1. BRAUNWARTH H, BRILL FHH, BRILL H: Ergebnisse einer in-vitro-Untersuchung zur antimikrobiellen Wirksamkeit von Polihexanid (PHMB) und Silberionenfreisetzenden Wundauflagen bei verschiedenen pH-Werten. WundM 2011; 5 [3]: 119–125.
2. BRAUNWARTH H, BRILL FHH, BRILL H: Bestimmung der quantitativen bakteriziden Wirkung von Biatain Ag und PHMB-freisetzenden Wundauflagen. Posterpräsentation auf dem Bremer Pflegekongress 2011.
3. BRAUNWARTH H, BRILL FHH, BRILL H: Ergebnisse einer in vitro Untersuchung zur antimikrobiellen Wirksamkeit von Polihexanid (PHMB) und Silberionen-freisetzenden Wundauflagen bei verschiedenen pH-Werten. HygMed 2011;36–10,393–98.
4. DIN EN 13727: Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Quantitativer Suspensionsversuch zur Prüfung der bakteriziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel für Instrumente im humanmedizinischen Bereich – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 1). Ausgabedatum: 2004–03.
5. EBERT M, ASSADIAN O, HÜBNER NO, T. KOBURGER, KRAMER A: Antimicrobial Efficacy of the Silver Wound Dressing Biatain Ag in a Disc Carrier Test Simulation Wound Secretion. Skin Pharmacol Physiol 2011, 24 (6): 337–41.
6. EBERT M, ASSADIAN O, HÜBNER NO, KOBURGER T, KRAMER A: Antimicrobial efficacy of the silver wound dressing Biatain Ag in a disc carrier test simulating wound secretion. Skin Pharmacol Physiol. 2011 Aug 11;24 (6):337–341.
7. http://www.coloplast.de/Wundversorgung/Evidenz/Documents/Poster%20Ao_2011_Biatain%20Ag%20Finale%20Version.pdf.
8. KRAMER A, ASSADIAN O (HRSG.): Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung, Thieme-Verlag 2008.
9. KRAMER A ET AL.: Konsensempfehlung zur Auswahl von Wirkstoffen für die Wundantiseptik. ZfW 3 (2004): 110–20.
10. MÜNTER KC, BEELE H, RUSSEL L ET AL: Effect of a sustained silver-releasing dressing on ulcers with delayed healing: the CONTOP study. Journal of Wound Care 2006 Vol. 15 (5): 199–206.
11. PERCIVAL SL, THOMAS J ET AL: The antimicrobial efficacy of silver on antibiotic-resistant bacteria isolated from burn wounds. Int Wound J 2011. Doi 10.1111/j.1742-481X.2011.00903x.
12. PITTEN FA, WERNER HP, KRAMER A: A standardized test to assess the impact of different organic challenges on the antimicrobial activity of antiseptics. J Hosp Inf 2003; 55:108–115.
13. 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.
14. Toy LW, Macera L: Evidence-based review of silver dressing use on chronic wounds. J Am Acad Nurse Pract 2011, 23 (4): 183–92.
15. 58940-3: Medizinische Mikrobiologie – Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika – Teil 3: Agar-Diffusionstest; Text Deutsch und Englisch, Ausgabedatum: 2007–10.