

DIPLOMARBEIT

TOXISCHES SCHOCKSYNDROM BEI BRANDVERLETZTEN KINDERN

*Besteht ein Zusammenhang zwischen den lokalen Therapiemaßnahmen
bei der Erstversorgung und dem Auftreten des Toxischen
Schocksyndromes bei brandverletzten Kleinkindern?*

Eingereicht von
Magdalena Puttinger
Geb.Dat.: 13.09.1988

zur Erlangung des akademischen Grades
Doktorin der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)
an der Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der
Univ.Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz
Pädiatrische Intensivstation und Brandverletzteneinheit

unter der Anleitung von
Univ. Prof. Dr. med. univ. Marija Trop
Zweitbetreuung durch
OA Dr.med. Klaus Pfurtscheller

Ort, Datum

(Unterschrift)

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am

(Unterschrift)

VORWORT

Die vorliegende Diplomarbeit mit dem Titel „Toxisches Schocksyndrom bei brandverletzten Kindern“ beschäftigt sich mit dem Auftreten des TSS bei Kleinkindern mit Brandverletzungen in Zusammenhang mit der Primärversorgung der Brandwunden.

Ausschlaggebend für die Wahl dieses Themas war eine Famulatur am *“Institute for Indian Mother and Child“* im Februar 2011 in Kalkutta, Indien. Im Rahmen dieses Praktikums kam ich zum ersten Mal mit brandverletzten Kindern in Berührung. Ich half sowohl bei der Primärversorgung als auch Weiterbetreuung vieler Kinder mit großteils sehr schweren Brandverletzungen mit. Diese Erlebnisse waren sehr prägend für mich. Nach dem 4-wöchigen Praktikum wurde meine Neugierde geweckt und ich wurde motiviert, mich darüber hinaus mit der Thematik und möglichen Komplikationen auseinander zu setzen. Ich war sehr interessiert, das Wundmanagement von Brandverletzungen auch in einer österreichischen Brandverletzteneinheit kennen zu lernen. Aus diesem Grund fasste ich den Entschluss, mich im Rahmen meiner Diplomarbeit dem Thema Brandverletzungen bei Kindern zu widmen.

Da Daten über einen Zusammenhang der Wahl von Therapiemaßnahmen und dem Auftreten des Toxischen Schocksyndroms nur spärlich zu finden sind, war es besonders reizvoll für mich einen kleinen wissenschaftlichen Beitrag zu leisten und damit eine Anregung für zukünftige größer angelegte Studien zu sein.

Um nicht den Lesefluss durch eine ständige Nennung beider Geschlechter zu stören, wird entweder eine geschlechtsneutrale Formulierung verwendet oder es wird nur eines der beiden Geschlechter angegeben. Im letzteren Fall sind selbstverständlich beide Geschlechter gemeint.

DANKSAGUNG

Mein herzlicher Dank gilt Frau Univ. Prof. Dr. Marija Trop und Herrn OA Dr. Klaus Pfurtscheller für die Betreuung dieser Diplomarbeit. Des Weiteren möchte ich mich beim gesamten Team der Brandverletzteneinheit für Kinder und Jugendliche (BVE) des LKH Graz für die angenehme Zusammenarbeit und die mir entgegengebrachte Hilfsbereitschaft bedanken. Insbesondere Herr OA Dr. Pfurtscheller stand mir bei der Erstellung meiner Diplomarbeit mit viel Geduld tatkräftig zur Seite und trug mit seiner fachlichen Kompetenz viel zum Gelingen dieser Diplomarbeit bei. Ich bedanke mich auch für die Bereitstellung des Bildmaterials der Brandverletzteneinheit Graz.

Ein weiterer aufrichtiger Dank gilt Herrn Prim. Dr. Athanasios Bogiatzis und dem engagierten Team des Instituts für Krankenhaushygiene und Mikrobiologie des LKH Graz für das Bereitstellen der Materialien und Räumlichkeiten zur labormedizinischen Aufarbeitung dieses Themas und die zahlreichen fachlichen Beiträge zum Laborteil dieser Arbeit.

Zu Dank verpflichtet bin ich auch Ao.Univ.-Prof. Mag. Dr. Walter Gössler vom Institut für analytische Chemie der Karl-Franzens-Universität Graz für die Analyse der Silberlösungen.

Ein lieber Dank gilt auch meinen Eltern für ihre Unterstützung. Insbesondere meinem Vater Dr. med. Johann Puttinger, einem passionierten Hobbyimker, möchte ich für die Bereitstellung der Honigproben, die fachlich-kompetente Information über die Wirkung des Honigs und die Bereitstellung von Literatur danken.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinem Freund Mag.rer.nat. Jürgen Schlieber für die ideelle Unterstützung und seine Geduld.

ZUSAMMENFASSUNG

Das Toxische Schocksyndrom stellt eine seltene, jedoch sehr schwerwiegende toxin-medierte Komplikation bei Verbrennungsverletzungen dar, da es unbehandelt über ein Multiorganversagen zum Tod führen kann. Typischerweise tritt dieses Krankheitsbild bei Kleinkindern zwischen dem 1. und 3. Lebensjahr auf. Insbesondere bei Kleinkindern hängt das Auftreten des Toxischen Schocksyndroms jedoch nicht unmittelbar mit der Größe und Schwere der Verbrennung zusammen. Die meisten bisher dokumentierten Fälle wiesen kleinflächige Verbrennungen mit weniger als 10% der Körperoberfläche betreffend auf. Vielmehr dürften sowohl ein Antikörpermangel, als auch das initiale Wundmanagement für die Entstehung des TSS eine Bedeutung einnehmen.

Auf der BVE der Grazer Universitäts-Kinderklinik werden jährlich etwa 50 Kinder stationär und 200 Kinder ambulant aufgrund von Verbrennungen und Verbrühungen behandelt. Eine retrospektive Auswertung der Patientenakten über einen Zeitraum von 4 Jahren, von 2008 bis 2011, ergab eine Fallzahl von 15 möglichen TSS-Fällen an der Grazer Kinderklinik. Von diesen wurden laut den CDC-Diagnosekriterien fünf Fälle als gesichertes TSS bestätigt. Die übrigen wurden als TSS-Verdachtsfälle eingestuft, da gewisse Diagnosekriterien nicht erfüllt wurden. Um einen Zusammenhang zwischen der primären Wundbehandlung und dem Auftreten des TSS aufzuzeigen, wurde eine labormedizinische Studie durchgeführt, die das Verhalten gewisser Bakterienstämme gegenüber routinemäßig verwendeten Verbandsmaterialien untersuchte. Die Resultate der Laborstudie wurden mit den Ergebnissen der retrospektiven Patientenanalyse diskutiert.

Der Vergleich der Ergebnisse beider Studien bestärkte die Hypothese einer Korrelation zwischen der Wahl der lokalen therapeutischen Maßnahmen bei der Primärversorgung der Brandwunden und der Inzidenz des TSS. Die vorliegenden Resultate lassen darauf schließen, dass Kleinkinder mit Brandverletzungen von einer frühzeitigen antimikrobiellen Lokalthherapie mit silberhaltigen Wundverbänden profitieren. Mit dieser therapeutischen Maßnahme könnte das Risiko für ein Auftreten eines TSS minimiert und die Hospitalisierungsdauer damit verkürzt werden.

ABSTRACT

Toxic shock syndrome (TSS) is a rare, but severe toxin-mediated complication in patients with burns. If it is untreated it can cause death. This disease pattern is typical in small children aged between 1 and 3 years. Especially with young infants the incidence of a toxic shock syndrome is not directly correlated to extent and degree of the burn wound. In most cases of TSS which have been described in the literature, the burn affected a body surface area to an extent less than 10%. Instead, a lack of antibodies and the primary wound management could play an important role in the genesis of the TSS.

At the Children`s Burns Unit of the Department of Paediatrics and Adolescent Medicine Graz, every year about 50 children have been treated as inpatients and 200 children have been treated as outpatients because of burns and scalds. A retrospective analysis of patient charts over a period of 4 years, from 2008 to 2011 has revealed 15 possible TSS-cases at the Children`s Burns Unit Graz. According to the diagnosis criteria of the Centre for Disease Control, only 5 of those cases were confirmed as TSS. All other cases were designated as questionable TSS-cases, because certain diagnosis criteria were not fulfilled. In order to demonstrate a correlation between primary wound care and the presence of TSS, a laboratory study was conducted to investigate the behaviour of certain bacteria in the presence of routinely used dressings. The results of the laboratory study were compared with the results of the retrospective analysis.

The comparison of the findings of both investigations confirmed the hypothesis that a correlation between the initial choice of local treatment of the burn wound and the incidence of TSS is possible. The presented results imply that young infants with burns may benefit from an early antimicrobial local treatment with silver-containing dressings. With this therapeutic measure the incidence of TSS could be prevented and the duration of hospitalization could be considerably shortened.

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einführung.....	1
2	Grundlagen	2
2.1	Anatomie der Haut	2
2.2	Einteilung von Verbrennungen.....	2
2.2.1	Wundtiefe	2
2.2.2	Ausdehnung	3
2.3	Definition & Inzidenz des TSS.....	3
2.4	Historie	4
2.5	Pathophysiologie	5
2.6	TSS bei Brandverletzungen	6
2.7	Klinik.....	8
2.8	Diagnostik	9
2.9	Therapiemaßnahmen	11
3	Methoden	15
3.1	Labormedizinische Aufarbeitung	15
3.1.1	Experiment 1.....	19
3.1.2	Experiment 2.....	30
3.1.3	Experiment 3.....	45
3.2	Falldokumentationen der Universitätskinderklinik Graz.....	59
3.2.1	Methoden.....	60
3.2.2	Ergebnisse.....	61
3.2.3	Diskussion	67
4	Diskussion, Conclusio	71
5	Literaturverzeichnis	76

GLOSSAR UND ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%KOF	Prozent Körperoberfläche
°C	Grad Celsius
Act	Acticoat®
Ag	„Argentum“, Silber
AgCl	Silberchlorid
Aqua (bidest)	Aqua bidestillata
Atr	Atrauman Ag®
Bakt	Bakterien
Bh	Blütencremehonig
Bsp.	Beispielsweise
BVE	Brandverletzteneinheit für Kinder und Jugendliche
Bzw.	beziehungsweise
CDC	Center for disease control
Cfu	Colony forming units
cm/mm	Centi-/Millimeter
CO ₂	Kohlendioxid
CRP	C-reaktives Protein
EEG	Elektroenzephalogramm
Etc.	Et cetera
g/mg/µg	Gramm/Milli-/Mikrogramm
Gaz	Gazin®
GI	Gastrointestinal
GOT/AST	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT/ALT	Alanin-Aminotransferase
h	Stunde

IgG	Immunglobulin G
IKM	Institut für Krankenhaushygiene
IL	Interleukin
IVIG	Intravenöses Immunglobulin
KZ	Keimzahl
l/ml/μl	Liter/Milli-/Mikroliter
LKH	Landeskrankenhaus
Mep	Mepilex Ag®
Mh	Medihoney®
MHA/MHB	Müller-Hinton-Agar/-Blutagar
MHC	Major Histocompatibility Complex
Min	Minuten
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MRSA	Methicillinresistenter Staphylococcus aureus
NaCl	Natriumchlorid
Neg	Negativkontrolle
NFκB	Nuklear-Faktor-κB
Omi	Omiderm®
Pos	Positivkontrolle
SEA,SEB,SEC	Staphylokokken-Enterotoxine A,B,C
Sog.	Sogenannt
SSD	Silbersulfadiazin
Staph. aureus	Staphylococcus aureus
Strept. pyogenes	Streptococcus pyogenes
Sup	Suprathel®
TNF	Tumornekrosefaktor

TSS	Toxisches Schocksyndrom
TSST-1	Toxic shock syndrome toxin -1
Usw.	Und so weiter
Wh	Waldhonig
ZNS	Zentralnervensystem

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1 Exp.1 Testreihen für Staph.aureus nach 24h Inkubation.....	22
Abbildung 2 Exp.1 Testreihen für Strept.pyogenes nach 24h Inkubation	23
Abbildung 3 Exp.1 Staph.aureus-Kultur mit Silbermaterialien nach 48h Inkubation	26
Abbildung 4 Exp.2 Ergebnisse Variante 1 bis 5 nach 24h Inkubation	34
Abbildung 5 Exp.2 Ergebnisse Variante 1 nach 24h Inkubation	35
Abbildung 6 Exp.2 Sichtbare Staph.aureus-Kolonien bei Ansicht von oben nach Mepilex Ag® Entfernung	36
Abbildung 7 Exp.2 Ergebnisse Variante 2 nach 24h Inkubation	37
Abbildung 8 Exp.2 Ergebnisse Variante 3 nach 24h Inkubation	38
Abbildung 9 Exp.2 Ergebnisse Variante 4 nach 24h Inkubation	39
Abbildung 10 Exp.2 Ergebnisse Variante 5 nach 24h Inkubation	40
Abbildung 11 Exp.3 Silberproben auf Schüttelplatte	47
Abbildung 12 Exp.3 Übersicht Ergebnisse	49
Abbildung 13 Exp.3 Ergebnisse Acticoat® Reihe.....	50
Abbildung 14 Exp.3 Ergebnisse Mepilex Ag® Reihe.....	51
Abbildung 15 Exp.3 Ergebnisse Honigproben	52
Abbildung 16 Exp.3 Acticoat®-Silberlösungen nach 24h Tunkzeit.....	53
Abbildung 17 TSS-Exanthem	63
Abbildung 18 Desquamation an Fingerbeere nach TSS	63

Anmerkung: Die Abbildungen 17 und 18 zeigen Patienten der BVE Graz.

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1 Beurteilung der Ausdehnung einer Verbrennung bei Kindern (Angabe in % der KOF) [1]	3
Tabelle 2 CDC-Diagnosekriterien für die Faldefinition eines Toxischen Schocksyndroms [21] [Original übersetzt aus dem Englischen]	10
Tabelle 3 Simplifizierte TSS-Diagnosekriterien bei Kindern [21]	11
Tabelle 4 Exp.1 Ergebnisse Inhibitionszonen - Positivkontrolle	24
Tabelle 5 Exp.1 Ergebnisse Inhibitionszonen-Silberhaltige Verbandsmaterialien	25
Tabelle 6 Exp.2 Quantitative Ergebnisse Variante 1 nach 24h Inkubation	36
Tabelle 7 Exp.2 Quantitative Ergebnisse Variante 2 nach 24h Inkubation	37
Tabelle 8 Exp.3 Bezeichnung Silberlösungen à 12 ml	46
Tabelle 9 Exp.3 Ergebnisse Silberbestimmung nach 24h Tunkzeit.....	54
Tabelle 10 Gesicherte TSS-Fälle - Übersicht	61
Tabelle 11 Gesicherte TSS-Fälle - Klinische Präsentation	62
Tabelle 12 TSS-Verdachtsfälle mit unvollständiger Klinik - Übersicht	64
Tabelle 13 TSS-Verdachtsfälle mit unvollständiger Klinik-Klinische Präsentation	65
Tabelle 14 TSS-Verdachtsfälle ohne Klinik - Übersicht	66

1 EINFÜHRUNG

Die Diplomarbeit befasst sich mit dem Auftreten des Toxischen Schocksyndroms (TSS) bei Kleinkindern mit Brandverletzungen unter Berücksichtigung der jeweiligen Primärversorgung. Die Kernfrage dieser Arbeit besteht darin, in wieweit die Wahl der Verbandsmaterialien und die lokalen antimikrobiellen Therapiemaßnahmen einen Einfluss auf die Inzidenz des TSS haben. Das TSS stellt ein sehr seltenes, durch Bakterientoxine verursachtes Krankheitsbild dar, das unbehandelt über ein Multiorganversagen zum Tod führen kann. Daher ist diese Fragestellung von wesentlicher medizinischer Relevanz in Bezug auf die Primärversorgung von Brandverletzungen.

Die Hypothese besteht darin, dass die Wahl des Verbandmaterials beim Wundmanagement von Brandverletzungen bei Kleinkindern einen Einfluss auf das Auftreten des TSS haben kann. Um dies zu überprüfen wurde die Auswertung von Patientendaten der BVE des Universitätsklinikum Graz in Verbindung mit einer experimentellen Aufarbeitung im medizinischen Fachlabor des Instituts für Krankenhaushygiene und Mikrobiologie am LKH Graz durchgeführt. Dabei wurde genauer untersucht, wie sich gewisse Bakterienstämme in Gegenwart der zur Verfügung stehenden Wundverbände verhalten. Durch Vergleich der Studienergebnisse sollen klinisch-relevante Zusammenhänge aufgezeigt werden. Die neuen wissenschaftlichen Erkenntnisse sollten, in erster Linie hinsichtlich des Primärmanagements von brandverletzten Kleinkindern Einzug in die klinische Praxis finden.

Die Kernfrage dieser Diplomarbeit ist für beide Geschlechter gleich relevant, da keine geschlechterspezifischen Fragestellungen beantwortet werden sollen.

2 GRUNDLAGEN

2.1 Anatomie der Haut

Die Haut stellt das größte Organ des menschlichen Körpers dar und spielt neben ihrer Schutzfunktion vor mechanischen Einflüssen und Strahlung eine große Rolle bei der Regulierung von Temperatur, Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushalt und bei immunologischen Prozessen. Gegliedert wird die Haut in Cutis und Subcutis. Die Subcutis besteht aus Fettgewebe und Bindegewebe. Die Cutis umfasst die Hautanhangsgebilde (Haare, Nägel, Drüsen) und ist aufgebaut aus der Epidermis (Oberhaut), eine mehrschichtige verhornte Plattenepithelschicht, und der Dermis, eine bindegewebige Hautschicht, die auch als Corium (Lederhaut) bezeichnet wird. Sie besteht aus dem Stratum papillare und Stratum reticulare. In der Lederhaut liegen sowohl die Drüsen der Haut, als auch zahlreiche Rezeptoren zur Reizaufnahme. Die epidermale Basalmembran bildet die Grenzschicht zwischen Epidermis und Dermis. Die Hautdicke schwankt zwischen 1 mm am Augenlid und 4mm an Rücken und Fußsohle. Hier gilt es zu beachten, dass Kinder eine viel dünnere Haut als Erwachsene besitzen und so die Hitzeeinwirkungszeit, die zu einer Hautschädigung führt, kürzer ist [1].

2.2 Einteilung von Verbrennungen

Verbrennungen bezeichnen Schädigungen der Haut, die entweder durch direkte Hitzeeinwirkung oder durch Kontakt mit heißen Flüssigkeiten (Verbrühungen), erhitzten Gegenständen (Kontaktverbrennungen), Chemikalien, elektrischem Strom oder durch Strahlung hervorgerufen werden können. Zur Beurteilung der Schwere einer Brandverletzung werden die Wundtiefe und die Ausdehnung der verbrannten Hautfläche evaluiert. Je größer und tiefer die Brandwunde, desto ernster ist die Verbrennung.

2.2.1 Wundtiefe

Erstgradige epidermale Verbrennungen (1°) heilen in der Regel nach wenigen Tagen spontan ab. Zweitgradige dermale Verbrennungen mit Blasenbildung sind nochmals in zwei Kategorien zu unterteilen: Oberflächlich-dermale Läsionen (2°a) heilen unter konservativer Therapie innerhalb von 10-15 Tagen narbenfrei ab. Bei den tief-dermale Verbrennungen (2°b) sind die gesamte Basalmembran und Teile

der Dermis zerstört. Diese Verletzungen müssen chirurgisch versorgt werden, um eine hypertrophe Narbenbildung zu vermeiden. Die Unterscheidung zwischen oberflächlicher (Stratum papillare) und tiefer (Stratum reticulare) dermalen Verbrennung kann unmittelbar nach dem Trauma allerdings sehr schwierig sein und stellt somit ein diagnostisches und therapeutisches Problem dar. Drittgradige subdermale Verbrennungen (3°) weisen eine schmerzfreie bis in die Subcutis reichende Wundfläche ohne Blasenbildung auf, die makroskopisch eine problemlose Diagnose möglich macht und chirurgisch behandelt werden muss [1].

2.2.2 Ausdehnung

Die Ausdehnung einer Brandverletzung wird in Prozent (%) der Körperoberfläche (KOF) angegeben. Zur Beurteilung von Verbrennungen bei Erwachsenen gilt die sogenannte Neunerregel. Beim Kind ergeben sich je nach Alter andere Zahlen. Als Faustregel sowohl für Kinder als auch Erwachsene kann jedoch gelten, dass eine Handfläche mitsamt Fingern etwa 1% der KOF entspricht [1]. Tabelle 1 zeigt die genaue Bewertung der Ausdehnung einer Verbrennung bei Kindern mit Berücksichtigung des Alters.

Tabelle 1 Beurteilung der Ausdehnung einer Verbrennung bei Kindern (Angabe in % der KOF) [1]

	≤ 1 Jahr	≤ 5 Jahre	≤ 14 Jahre
Kopf/Hals	20	16	14
Arme	19	19	19
Rumpf	32	32	32
Beine	28	32	34
Genitale	1	1	1

2.3 Definition & Inzidenz des TSS

Beim Toxischen Schocksyndrom handelt es sich um ein schwerwiegendes, toxinmediertes Krankheitsgeschehen, das unbehandelt tödlich enden kann. Dieses kann als seltene Komplikation bei diversen Infektionen mit toxinbildenden Mikroorganismen, in erster Linie Staphylokokken, auftreten. Die klinische Relevanz ein TSS frühzeitig zu erkennen spiegelt sich in seiner hohen Morbidität und Mortalität wieder. Die Mortalitätsrate ist einer hohen Schwankung unterworfen und liegt bei bis zu 50%, sofern sich der Patient mit hämodynamischen

Schockzeichen präsentiert noch bevor eine adäquate Therapie eingeleitet werden konnte [2]. Die genaue Inzidenz des TSS bei brandverletzten Kindern ist sehr schwierig zu ermitteln, da für eine korrekte Diagnose mehrere Kriterien erfüllt werden müssen. Diese in die Kriterien einfließenden Symptome können ausbleiben, sofern eine frühzeitige Unterbrechung des Krankheitsfortschrittes durch therapeutisches Eingreifen erfolgt [3].

2.4 Historie

Das Toxische Schocksyndrom wurde in der Literatur erstmals 1978 von Todd beschrieben. Bei sieben Kindern im Alter zwischen 8 und 17 Jahren mit lokalisierten Staphylokokken-Infektionen zeigte sich plötzlich eine multisystemische Reaktion ähnlich einer Scharlachinfektion. Sie präsentierten sich klinisch krank mit hohem Fieber, Kreislaufhypotonie und generalisiertem Erythem bis hin zu einer später folgenden Hautablösung an Händen und Füßen. Die initiale Schocksymptomatik führte in manchen Fällen zu einem Multiorganversagen. In einem Fall endete die Erkrankung tödlich [4]. In den darauffolgenden Jahren wurde eine ähnliche Schocksymptomatik gehäuft bei jungen, menstruierenden Frauen in Zusammenhang mit der Verwendung von hochabsorbierenden Tampons beobachtet. Diese Form des TSS, genannt menstruales TSS, wurde erstmals 1980 von Schrock [5] beschrieben. Die Inzidenz der menstruationsassoziierten TSS-Fälle ging stark zurück nachdem man sich dieses kausalen Zusammenhangs bewusst wurde und andere Materialien zur Tamponerzeugung eingesetzt wurden. Hingegen wurden weitere Fälle des nicht-menstruationsassoziierten TSS bekannt. Diese manifestierten sich im Rahmen von Hautinfektionen, Pharyngitis, Vaginitis und nach chirurgischen Eingriffen, unter anderem nach otolaryngologischen Operationen [6]. In den frühen 1980er Jahren kam man der vermeintlichen Ursache dieser systemischen Immunreaktion auf die Spur. Bergdoll [7] erkannte, dass ein bestimmtes vom *Staphylococcus aureus* produziertes Toxin durch eine Überstimulation des Immunsystems mit dem Auftreten des TSS eng in Verbindung steht. Dieses sogenannte "toxic shock syndrome-toxin", kurz TSST-1, konnte in den meisten Fällen von TSS nachgewiesen werden. Später wurden weitere *Staphylococcus*-Enterotoxine analysiert. Des Weiteren wurden seither eine Reihe anderer Bakterien gefunden,

die ebenfalls eine große Rolle bei der Entstehung des TSS spielen. Dazu gehören Gruppe A-Streptokokken, Pseudomonas- und Klebsiellastämme [8].

Im Jahr 1985 wurde erstmals über TSS-Fälle bei Kindern mit Brandverletzungen berichtet [9]. Bereits einige Jahrzehnte früher wurden scharlachähnliche Symptome nach Verbrennungen beobachtet, jedoch noch nicht weiter benannt beziehungsweise keinem speziellen Krankheitsbild zugeordnet. Siehe Zitat vom Lehrbuch der Kinderheilkunde von 1942: „[...] Die häufigen „Scharlachfälle“ nach Verbrennungen sind zum Teil als toxische Erytheme aufzufassen, andere aber als echter Scharlach [...]“ [10].

In der heutigen Zeit sind die meisten Fälle des Toxischen Schocksyndroms, insbesondere bei Kleinkindern, mit Brandverletzungen assoziiert. Durch die Vielfalt an möglichen ursächlichen Mikroorganismen und Toxinen kann das TSS heute als systemische Immunantwort auf diverse Triggerorganismen und -substanzen bezeichnet werden [8].

2.5 Pathophysiologie

Hinsichtlich der Pathogenese sowohl des Staphylokokken- als auch des Streptokokken-assoziierten TSS spielen bakterielle Exotoxine eine zentrale Rolle. Die Exotoxine agieren als sog. Superantigene und führen zu einer massiven T-Zell-Aktivierung und -Proliferation mit resultierender Aktivierung weiterer Entzündungszellen und exzessiver Zytokinausschüttung. Superantigene umgehen dabei den konventionellen Aktivierungsweg der T-Zellen. Gewöhnlich werden Antigene in Peptidfragmente zerlegt, um dann über spezifische Bindungsstellen den MHC-II-Molekülen präsentiert werden zu können. Es kommt zur Aktivierung derjenigen T-Zellen, die diesen MHC-II-Antigen-Komplex erkennen. Im Gegensatz dazu binden Superantigene simultan direkt an die MHC-II-Moleküle der antigen-präsentierenden Zellen und an variable Regionen der T-Zell-Rezeptoren. Über diese direkte Bindung der Superantigene werden bis zu 20-30% der T-Zellen aktiviert im Gegensatz zu etwa 0,01% aktivierter T-Zellen durch den konventionellen Aktivierungsweg. Diese massive T-Zell-Aktivierung führt zu einer NFκB-vermittelten exzessiven Zytokinfreisetzung aus aktivierten T-Zellen (Lymphotoxin α, IL-2, Interferon γ) und Monozyten (TNF, IL-1β, IL-6). Diese Zytokinlawine verursacht Gewebsschäden, wirkt prokoagulatorisch und resultiert

in Organversagen. Dem NF κ B (Nuklear-Faktor- κ B) kommt also eine zentrale Bedeutung im Zusammenhang mit dem Schweregrad der Schocksymptomatik und der damit korrelierenden Mortalität zu [11].

Das vom Staph.aureus produzierte "toxic-shock-syndrome-toxin-1", kurz TSST-1, ist das am häufigsten mit dem Auftreten des TSS assoziierte Toxin. Dieses ist für mehr als 90% der Fälle von menstruationsassoziiertem und 60% des nicht-menstruationsassoziierten TSS verantwortlich. Die Staphylokokken-Enterotoxine A (SEA), B (SEB) und C (SEC) und sog. Exfoliative Toxine stehen ebenfalls mit dem Auftreten des TSS in Zusammenhang. SEB ist dabei das beim nicht-menstruationsassoziierten TSS am häufigsten analysierte Staphylokokken-Enterotoxin [12]. Auch Methicillinresistente Staphylococcus aureus -Stämme (MRSA) können Toxine freisetzen und somit ein TSS verursachen. Bei den durch Streptokokken der Gruppe-A verursachten Fällen spielen die Exotoxine A, B und C und das M-Protein Typ M1 eine zentrale Rolle [11]. Auch bei gram-negativen Bakterienstämmen wurden ähnliche Proteintoxine, sog. Endotoxine, nachgewiesen. Das gleichzeitige Vorhandensein dieser Endotoxine verstärkt die Überstimulation des Immunsystems und somit die klinische Symptomatik [12].

Nicht alle mit toxinproduzierenden Staphylokokken oder Streptokokken infizierten Patienten entwickeln ein TSS. Die Ursache hierfür muss in der Interaktion zwischen dem Immunsystem des Erkrankten und dem eindringenden Pathogen liegen. Das Vorhandensein oder das Fehlen von Antikörpern gegen die Superantigene scheint hier eine große Bedeutung einzunehmen. Genetische Faktoren, wie zum Beispiel der MHC-II-Haplotyp, haben wie auch das Geschlecht einen Einfluss auf das Ausmaß der Immunreaktion. Frauen zeigen eine verstärkt ausgeprägte und verlängerte Immunreaktion als männliche Erkrankte. Dies scheint auf Effekte der Östrogene auf das Immunsystem zurückzuführen zu sein [11].

2.6 TSS bei Brandverletzungen

Seit 1985 wurden viele Fälle von TSS bei Brandverletzungen, insbesondere bei brandverletzten Kleinkindern, beschrieben. Dadurch gewann man mehr Kenntnis über das Auftreten und die Pathophysiologie dieses schwerwiegenden Krankheitsgeschehens. Aus den vielen Fallberichten geht hervor, dass die

Inzidenz des TSS nicht unmittelbar mit dem Ausmaß der Verbrennung in Verbindung steht. Häufig kommt es bei kleinen, oberflächlichen Brandwunden zum Auftreten des TSS, wo man aufgrund der geringgradigen Verletzung einen komplikationslosen Verlauf der Wundheilung erwarten würde. Bei einer von 2000 bis 2003 in England durchgeführten Studie wurden die Daten von vielen Brandverletzteneinheiten verglichen. Der typische Patient mit TSS war im Durchschnitt 2 Jahre alt, hatte eine Verbrennung von weniger als 10% der Körperoberfläche und zeigte die typische Symptomatik im Durchschnitt 2 Tage nach dem Trauma [13].

Für das Auftreten des TSS ist ein Zusammenspiel mehrerer Faktoren, die einen begünstigenden Effekt auf die Toxinbildung haben, erforderlich. Bei Brandverletzungen ist das Risiko ein TSS zu entwickeln besonders hoch, da die Brandwunde einen Defekt der schützenden Hautbarriere und somit eine mögliche Eintrittspforte für Mikroorganismen darstellt. Durch diesen Substanzdefekt ist eine erhebliche Beeinträchtigung der Hautimmunität gegeben [7]. Die anfangs sterile Brandwunde wird meist 1 bis 2 Tage nach dem Trauma von verschiedenen Mikroorganismen besiedelt. Hierbei kann es sich neben nicht-toxinbildenden auch um toxinbildende Stämme handeln. Als Haupterreger sind hier sowohl grampositive Staphylokokken oder Streptokokken als auch gramnegative Bakterien wie Pseudomonas zu nennen. Staphylococcus aureus ist dabei der häufigste kolonisierende und mit der Entstehung des TSS am häufigsten assoziierte Keim. Das Milieu einer Brandwunde bietet optimale Bedingungen für das Bakterienwachstum und die Bildung von Toxinen. Begünstigend auf die Toxinbildung wirkt unter anderem die lokale Hyperthermie als physiologische Antwort auf die thermische Noxe [14]. Das anaerobe, pH-neutrale Wundmilieu mit leicht erhöhten CO₂-Werten und niedrigen Magnesium-Konzentrationen spielt für die Bildung von Toxinen, in erster Linie TSST-1, ebenfalls eine große Rolle [15; 16].

Die Anfälligkeit für das TSS ist jedoch bei jedem Individuum unterschiedlich ausgeprägt. Aus den vielen Fallberichten geht hervor, dass vor allem Kleinkinder im Gegensatz zu den anderen Altersgruppen ein erhöhtes Risiko besitzen, ein TSS zu entwickeln. Um eine Erklärung dafür zu finden wurden Studien durchgeführt, die die Antikörpertiter gegenüber TSST-1 in verschiedenen

Altersgruppen bestimmt haben [17; 18]. Das gehäufte Auftreten des TSS bei kleinen Kindern zwischen 1 und 5 Jahren ist vermutlich auf einen IgG-Antikörper-Mangel gegenüber TSST-1 zurückzuführen, der sie für diese Superantigen Toxine sensibel macht [17]. Neugeborene und Säuglinge dürften durch die passive Immunität durch das mütterliche Blut und in weiterer Folge bis zum Ende der Stillzeit durch die Muttermilch geschützt sein. Mit dem Alter steigt der Schutz durch die IgG-Antikörper durch den Kontakt mit Staphylokokken stetig an. Bei 95% der Erwachsenen mit einem Alter von 30 Jahren ist bereits ein ausreichender Antikörpertiter gegen TSST-1 vorhanden [18]. Dies erklärt auch die Rarität von publizierten Fallberichten über das Auftreten des TSS nach Verbrennungen bei Erwachsenen. Bis 2007 wurden bescheidene 3 Fallberichte über TSS bei brandverletzten Erwachsenen publiziert [19].

Das vermehrte Auftreten von TSS bei Patienten mit kleinen Verbrennungen ist vermutlich auf die unterschiedlichen therapeutischen Maßnahmen zurückzuführen [12]. Bei Verbrennungen, die weniger als 10% der Körperoberfläche betreffen liegt der Fokus auf der primären Wundbehandlung. Hingegen wird bei großflächigeren Verbrennungen neben dem Wundmanagement auf eine frühzeitige Gabe von Flüssigkeiten und Blutprodukten geachtet. Diese Patienten dürften von der passiv übertragenen Immunität durch die Blutprodukte profitieren [13].

2.7 Klinik

Die klinische Manifestation des TSS ist charakterisiert durch eine akut auftretende, rasch progrediente systemische Entzündungsreaktion. Es gibt jedoch ein breites Spektrum an klinischen Zeichen und Symptomen, die in ihrer Ausprägung sehr variieren können. Der typische Patient präsentiert sich mit einem akuten Temperaturanstieg, einer Hypotension, die therapierefraktär sein kann, und einem feinfleckigen, Scharlach-ähnlichen Exanthem, das meist stammbetont auftritt, jedoch auch über den ganzen Körper verteilt sein kann. Zudem können gastrointestinale Beschwerden, wie Erbrechen und Diarrhö, Myalgien und eine hyperämische Reaktion der Schleimhäute auftreten. Mit dieser klinischen Symptomatik gehen für eine Entzündung beziehungsweise für eine Multiorganreaktion typische Laborveränderungen einher. Dazu gehören eine Leukozytose mit Linksverschiebung, eine Thrombozytopenie, deutlich erhöhte Leberenzyme und Kreatininwerte. Eine Blutkultur kann, muss aber nicht positiv

sein. Diese unspezifische Allgemeinsymptomatik in der Initialphase des TSS macht die Diagnose sehr schwierig. Spezifisch ist die Spätmanifestation des TSS an der Haut. Dabei handelt es sich um eine Abstoßung der epidermalen Hautschicht etwa zwei bis vier Wochen nach Krankheitsbeginn. Diese Desquamation beginnt meist an Finger und Zehen und breitet sich dann palmar und plantar aus [20].

2.8 Diagnostik

Die Diagnose des TSS wird anhand der klinischen Symptomatik und bestimmten Laborveränderungen gestellt. Hierfür hat das Center for Disease Control (CDC) 1980 eine Liste von Diagnosekriterien erstellt, die bis heute weltweit zur Diagnostik verwendet wird (siehe Tab.2). Ein Verdacht gilt dann als Toxisches Schocksyndrom bestätigt, wenn alle sechs aufgelisteten Kriterien zutreffen. Werden nur fünf der sechs möglichen Diagnosekriterien erfüllt, so spricht man von einem möglichen TSS. Die Diagnosestellung gestaltet sich aufgrund mehrerer Faktoren jedoch in der Praxis äußerst prekär. Da sich die Hautabschilferung erst frühestens ein bis zwei Wochen nach Erkrankungsbeginn manifestiert, kann die definitive Diagnose TSS erst sehr spät beziehungsweise erst retrospektiv in der Genesungsphase gestellt werden. Frühes therapeutisches Eingreifen verändert den Krankheitsverlauf und verhindert so das klinische Vollbild eines TSS, was die klinische Diagnostik unmöglich machen kann. Hinzu kommt, dass es sich in erster Linie um Kleinkinder handelt, die sich bezüglich ihrer subjektiven Symptome wie Kopf- oder Muskelschmerzen möglicherweise verbal nicht äußern können. Aufgrund dieser Problematik wurden vereinfachte Kriterien für die Diagnose von TSS bei kleinen Kindern definiert (siehe Tab.3) [21].

**Tabelle 2 CDC-Diagnosekriterien für die Falldefinition eines Toxischen Schocksyndroms [21]
[Original übersetzt aus dem Englischen]**

1. Fieber (Temperatur $\geq 39,2^{\circ}\text{C}$)
 2. Hautausschlag: Diffuse, makuläre Erythrodermie
 3. Desquamation, 1-2 Wochen nach Krankheitsbeginn, speziell an Handflächen und Fußsohlen
 4. Hypotonie: Blutdruck systolisch $\leq 90\text{mmHg}$ bei Erwachsenen oder $< 5.$ Perzentile bei Kindern < 16 Jahren; oder orthostatische Synkopen
 5. Beteiligung von mindestens drei der folgenden Organsysteme:
 - a. Gastrointestinal: Erbrechen oder Diarrhö bei Erkrankungsbeginn
 - b. Muskulär: schwere Myalgien oder Kreatinphosphokinase-Spiegel > 2 fach der Norm
 - c. Schleimhaut: Hyperämie vaginal, oropharyngeal, Konjunktiven
 - d. Renal: Harnstoff im Blut und Serum-Kreatinin ≥ 2 fach der Norm oder ≥ 5 Leukozyten pro High-Power-Gesichtsfeld bei Ausschluss einer Harnwegsinfektion
 - e. Hepatisch: Gesamtbilirubin, GOT/AST, GPT/ALT ≥ 2 fach der Norm
 - f. Hämatologisch: Thrombozyten $\leq 100.000/\mu\text{l}$
 - g. ZNS: Desorientierung oder Bewusstseinsveränderungen ohne fokalneurologische Ausfälle
 6. Negative Resultate folgender Tests, falls durchgeführt:
 - a. Blut-, Rachen- oder Liquorkulturen
 - b. Serologische Tests auf Rocky Mountain spotted fever, Leptospirose oder Masern
-

Tabelle 3 Simplifizierte TSS-Diagnosekriterien bei Kindern [21]

Fieber $\geq 39^{\circ}\text{C}$
Hautausschlag
Schocksymptomatik
Durchfall und/oder Erbrechen
Irritabilität
Lymphopenie

Die Bestimmung von geläufigen Toxinen (TSST-1, SEA, SEB, SEC, Streptokokken-Exotoxine etc.) kann in Speziallabors durchgeführt werden. Eine Isolation der toxinproduzierenden Keime von Schleimhäuten und Wunden ist in den meisten Fällen möglich und sollte bei jedem Verdachtsfall vorgenommen werden. Im Gegensatz dazu sind die angelegten Blutkulturen meist negativ. Der toxinbildende Mikroorganismus kann nur in weniger als 5% der Fälle im Blut nachgewiesen werden. Ein weiteres Kriterium für die Diagnose stellt der Nachweis von Antikörpern gegen die Superantigene in der Phase der Rekonvaleszenz dar. Für den Toxinnachweis und die Testung auf Enterotoxin-Gene in den Staph.aureus-Isolaten stehen eine Reihe von Tests zur Verfügung, die jedoch im klinischen Alltag nicht routinemäßig eingesetzt werden [22].

2.9 Therapiemaßnahmen

Da das TSS ein rasch-progredientes, schwerwiegendes Krankheitsbild darstellt, das unbehandelt mit einer hohen Morbidität und Mortalität einhergeht, ist frühzeitiges Erkennen und rasches therapeutisches Handeln für einen prognostisch-günstigen Verlauf von entscheidender Bedeutung.

Die Basismaßnahmen entsprechen in etwa denen eines septischen Schockes und gestalten sich rein supportiv. Diese beinhalten die Gabe von Volumenersatz, die frühe Verabreichung von Vasopressoren und inotropen Substanzen und den Einsatz von Organ-unterstützenden Maßnahmen. Ebenso ist die Suche nach dem möglichen Infektfokus essentiell. Dieser sollte rasch mit adäquater antimikrobieller Lokalthherapie versorgt werden, um die Keimbelastung zu reduzieren. In manchen Fällen kann ein Wund-Debridement notwendig sein. Bei Verdacht auf ein

menstruationsassoziiertes TSS ist eine vaginale Untersuchung mit Entfernung jeglicher Fremdkörper angezeigt [22; 11].

In vielen Fällen wird prophylaktisch eine systemische antibiotische Therapie eingeleitet. Ziel der antibiotischen Behandlung ist eine Reduktion der Bakterienzahl und der Exotoxinproduktion. Solange der ursächliche Keim unbekannt ist, wäre eine breite antibiotische Abdeckung erforderlich, da sowohl Staphylokokken als auch Streptokokken der Gruppe-A als Haupterreger in Frage kommen. Hier eignen sich in erster Linie β -Lactam-Antibiotika, die häufig, insbesondere bei TSS durch Streptokokken der Gruppe-A, mit einem Lincosamid (Clindamycin) kombiniert eingesetzt werden, da dieses toxinneutralisierende Eigenschaften haben soll [11]. Es ist jedoch fraglich, inwiefern eine prophylaktische antibiotische Therapie zur Prävention von TSS sinnvoll ist. Hierfür gibt es keine empirisch belegten Daten.

Bezüglich TSS bei Brandverletzungen wurden einige Studien zur Untersuchung der Effizienz von prophylaktisch eingesetzten Antibiotika durchgeführt. In den meisten von Edwards-Jones et al. [23] untersuchten Verbrennungszentren wurden Antibiotika im Zuge der Therapie der Verbrennung nicht routinemäßig eingesetzt. In den 8 von 22 Zentren, die nie ein TSS beobachtet hatten, setzten 50% prophylaktisch Antibiotika ein. Nur in 2 von 14 Zentren, wo TSS diagnostiziert worden war, wurde eine prophylaktische antibiotische Therapie eingeleitet. Wie ein Fall in einem englischen Krankenhaus zeigt, kann jedoch trotz antibiotischer Abdeckung die Entwicklung eines TSS nicht immer verhindert werden [24].

Bei fortschreitender klinischer Symptomatik trotz eingeleiteter systemischer Antibiotikatherapie sollte daran gedacht werden, dass auch Methicillinresistente Staphylococcus aureus - Stämme (MRSA) reaktive Toxine bilden können. Sollte eine MRSA-Infektion die Ursache für ein TSS sein, so wird therapeutisch gewöhnlich Vancomycin eingesetzt [11].

Eine zusätzliche therapeutische Option stellt die Verabreichung von intravenösen Immunglobulinen (IVIg) dar. Dabei werden dem Patienten hohe Konzentrationen von präformierten Anti-Superantigen-Antikörpern verabreicht. Diese haben einen Effekt auf den Erkrankungsverlauf durch verschiedene Mechanismen. Dazu gehören die Toxinneutralisation, die Blockierung der T-Zell-Aktivierung und der T-

Zell-Proliferation und damit die hemmende Wirkung auf die Zytokinausschüttung (IL-6, TNF α). Zur Effizienz von IVIG bei TSS gibt es jedoch keine signifikanten Daten. Die Komplikationsrate durch die Gabe von IVIG ist allerdings gering. Bei Berücksichtigung des hohen Morbiditäts- und Mortalitätsrisikos durch TSS scheint daher bei schwerwiegender Schocksymptomatik die frühe Gabe von intravenösen Immunglobulinen sinnvoll [11; 22].

Inwiefern ein relevanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten des TSS bei Brandverletzungen und der Wahl des Verbandsmaterials besteht, ist noch nicht geklärt. Im Jahr 2000 publizierten Edwards-Jones et al. [23] eine Umfrage in 41 Verbrennungszentren in England, wobei nur 22 voll ausgewertet werden konnten. Die Autoren konnten in ihrer Studie keine Assoziation zwischen der Häufigkeit der Verbandswechsel, der Art des Verbandmaterials oder der Wahl an topischen antimikrobiellen Substanzen, wie Silbersulphadiazin oder Povidon Iodin, und dem Auftreten des TSS erkennen. In der Literatur sind einige Fälle von TSS bei Patienten erwähnt, die mit okklusiven Wundverbänden versorgt wurden. Diese Verbände werden üblicherweise bei oberflächlichen Verbrennungswunden mit niedriger Infektionsgefahr eingesetzt und sollten eine schützende Barriere für Bakterieneintritt von außen darstellen. Möglicherweise kann ein Zusammenhang zwischen dieser Art von Wundverband und dem Auftreten des TSS bestehen, wie der Fallbericht über ein 17-Monate altes Mädchen an der BVE der Grazer Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde aufzeigt. Bei dieser Patientin wurde das Verbandsmaterial Omiderm®, eine transparente hydrophile Polyurethan-Membran, die permeabel für Luft- und Wassermoleküle ist, verwendet. Dieses wurde laut dem Standard-Protokoll für das Management von kleinen, oberflächigen Brandwunden routinemäßig eingesetzt. In diesem Fall könnte es jedoch die Entwicklung des TSS begünstigt haben [6].

Das TSS stellt eine ernste, lebensbedrohliche Komplikation bei brandverletzten Kindern dar. Daher ist neben den erläuterten Basismaßnahmen eine sorgfältige Überwachung seitens des Personals, aber auch die Aufklärung der Eltern von ambulant versorgten brandverletzten Kindern über die Symptomatik und die Zeichen eines TSS unabdinglich. Bei Unwohlsein des Kindes sollte sofort Kontakt mit der zuständigen Brandverletzteneinheit aufgenommen werden. Durch

Einhalten dieser Maßnahmen könnte die Morbidität und Mortalität als Folge eines TSS bei brandverletzten Kindern weitestgehend vermieden werden [24].

Bei frühzeitigem therapeutischen Eingreifen ist die Prognose des TSS gut. In einigen wenigen Fällen wurden jedoch Spätfolgen des TSS beschrieben, wie persistierende neurologische Symptome, EEG-Abnormalitäten, das Auftreten neuer Allergien, spät-manifestierende Hautausschläge ohne erkennliche Ursache, eine periphere Zyanose oder eine leichtgradige Nierenschädigung. Zudem wurden auch Fälle von rezidivierendem TSS beschrieben, das bei Patienten ohne ausreichende Antikörperproduktion gegen die ursächlichen Toxine nach der Initialerkrankung auftrat. Die Mehrheit der Patienten mit TSS erholt sich jedoch gut und kann ohne bleibende Organschäden ein normales Leben führen [22].

3 METHODEN

3.1 Labormedizinische Aufarbeitung

In Zusammenarbeit mit dem Institut für Krankenhaushygiene und Mikrobiologie (IKM) des LKH Graz wurde das Verhalten bestimmter Bakterienstämme, die für die Entstehung eines TSS verantwortlich sein können, in Gegenwart verschiedener Verbandsmaterialien untersucht. Die chemisch-analytische Silberbestimmung wurde am Institut für analytische Chemie der Karl-Franzens-Universität Graz durchgeführt.

Verwendete Medien

In dieser Studie wurden zwei verschiedene Nährmedien verwendet. Es kamen ein gewöhnlicher Müller-Hinton-Agar (MHA) und Müller-Hinton-Blutagar (MHB) zum Einsatz. Dabei handelt es sich um mikrobiologische Nährmedien, die zur Testung von Antibiotikaresistenzen in medizinischen Fachlabors häufig eingesetzt werden. Diese Medien wurden vom IKM Graz zur Verfügung gestellt.

Zusammensetzung des Müller-Hinton-Agars [25]:

- 30 % Rindfleischaufguss
- 1,75 % hydrolysiertes Casein
- 0,15 % Stärke
- 1,7 % Agar

Beim Müller-Hinton-Blut-Agar werden zusätzlich noch 5 % Pferdeblut hinzugefügt.

Verwendete Keime

Für diese Studie wurden zwei grampositive Keime verwendet, die aufgrund ihrer Fähigkeit Toxine zu bilden eine große Rolle bei der Entstehung eines TSS spielen: *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus pyogenes* (Gruppe A).

Bei den hier verwendeten Mikroorganismen, zur Verfügung gestellt vom Institut für Krankenhaushygiene und Mikrobiologie des LKH Graz, handelt es sich um keine toxinbildenden Stämme. Diese müssten von extern zugekauft werden.

Verwendete Materialien

Bei den getesteten Wundverbänden handelt es sich um Verbandsmaterialien, die auf der BVE des LKH Graz bei Verbrennungen routinemäßig eingesetzt werden. Zur Übersicht sollen diese hier aufgelistet werden.

Silberhaltige Verbände:

ACTICOAT Silcryst® (Act)

Produktbeschreibung laut Firma: Acticoat® ist ein nanokristalliner Silberverband, produziert von Smith & Nephew. Dieser Wundverband besteht aus drei Schichten: Einem feuchtigkeitsspeichernden inneren Kern, der von zwei äußeren, silberbeschichteten und nicht verklebenden Netzen aus Polyethylen umgeben wird. Nanokristallines Silber schützt die Wunde vor bakteriellen Infektionen, während die innere Kernschicht die für die Wundheilung optimale Feuchtigkeit speichert [26]. Bei dieser Studie wurde Acticoat Silcryst 3® verwendet.

ATRAUMAN Ag® (Atr)

Produktbeschreibung laut Firma: Atrauman Ag®, hergestellt von der Fa. Hartmann bezeichnet silberhaltige Salbenkompressen aus hydrophobem Gittertüll aus Polyamid, dessen Fasern mit elementarem Silber ummantelt sind. Diese wirken im direkten Kontakt über mindestens sieben Tage antibakteriell. Dieser Verband ist besonders sekretdurchlässig, sodass abgetötete Bakterien und gelöste Endotoxine in das sekundäre Wundmaterial aufgenommen werden können. Durch die Salbenmasse wird ein Verkleben mit der Wunde verhindert [27].

MEPILEX Ag® (Mep)

Produktbeschreibung laut Firma: Bei Mepilex Ag® handelt es sich um einen mit Silber angereicherten Schaumverband von Mönlycke Health Care. In diesem Wundverband sind die einzigartigen Eigenschaften der Safetac-Technologie mit der antibakteriellen Wirkung des Silbers vereint. Die einzigartige Silikon-Hafttechnologie dieses Wundverbands verhindert ein Verkleben mit der Wunde und minimiert so Trauma und Schmerz beim Verbandswechsel [28].

Nicht-Silberhaltige Verbände:

SUPRATHEL®(Sup)

Produktbeschreibung laut Firma: Suprathel® von Polymedics ist eine synthetische Wundauflage und zeichnet sich durch Elastizität, Wasserdampfdurchlässigkeit und Dichtheit gegenüber Bakterien aus. Die Wundheilung wird durch Unterstützung der Angiogenese und des Dermisaufbaus gefördert. Durch Azidifizierung der Wunde hat dieses einmalig aufgebrachte Wundmaterial auch bakterizide Eigenschaften und beschleunigt so den Heilungsprozess [29].

OMIDERM® (Omi)

Produktbeschreibung laut Firma: Omiderm®, ein Produkt der Firma Taureon, ist eine transparente, flexible und nicht adhäsive Wundmembran mit einem hohen Maß an Permeabilität. Omiderm® besteht aus einem Gel in der Form einer besonderen Polyurethanmembran. Aufgrund seiner einzigartigen Struktur ist dieser Wundverband für Bakterien undurchlässig, für Wasserdampf und Sauerstoff jedoch permeabel [30].

GAZIN® Mullkompressen (Gaz)

Produktbeschreibung laut Firma: Gazin® Mullkompressen von Lohmann & Rauscher bestehen aus 100% Baumwolle und sind weich, luftdurchlässig und weisen eine gute Saugfähigkeit auf. In steriler Form werden diese gerne zur Wundreinigung oder als Wundauflage verwendet [31]. Im Rahmen dieser Laborstudie diente Gazin® als Negativkontrolle.

Honigsorten:

Medihoney®

Produktbeschreibung laut Firma: Dabei handelt es sich um einen neuseeländischen Manuka-Honig, der durch Gammabestrahlung sterilisiert wurde. Dieser kann sowohl bei akuten, als auch bei chronischen Wunden verwendet werden. Neben der antibakteriellen Wirkung begünstigt Medihoney® die Exsudatbildung durch sein hohes osmotisches Potential. Das feuchte Wundmilieu fördert die Heilung der Wunde [32].

*Naturbelassener österreichischer Waldhonig**

Produktbeschreibung: Dabei handelt es sich um reinen, naturbelassenen Waldhonig aus dem Innviertel, Oberösterreich.

*Naturbelassener österreichischer Blütencremehonig**

Produktbeschreibung: Dabei handelt es sich um reinen, naturbelassenen, vor der Abfüllung gerührten Blütenhonig aus dem Innviertel, Oberösterreich.

**Getestet außerhalb der Produktreihe von routinemäßig verwendeten Materialien*

Methoden

Die Methoden der einzelnen Laborversuche sind voneinander zu differenzieren und werden im folgenden Abschnitt detailliert dargestellt.

Dokumentation & Statistische Analyse

Die Ergebnisse wurden unter Verwendung von Microsoft Word 2007 Software und Microsoft Excel 2007 Software in Text- und Tabellenform festgehalten. Zur besseren Veranschaulichung wurden diese mit diversen Abbildungen ergänzt. Aufgrund des kleinen Testumfanges erfolgte keine statistische Berechnung und Auswertung.

3.1.1 Experiment 1

3.1.1.1 Material und Methoden

Verwendete Medien

In diesem Experiment wurde ein gewöhnlicher Mueller-Hinton-Blutagar verwendet. Es wurde auf den mit Pferdeblut versetzten Müller-Hinton-Agar zurückgegriffen, da bei diesem Laborversuch Streptokokken zum Einsatz kamen, die zum Wachstum einen höheren Nährstoffbedarf aufweisen als Staphylokokken.

Verwendete Keime

Für diesen Laborversuch wurden zwei verschiedene Keime verwendet: Staphylococcus aureus und Streptococcus pyogenes (Gruppe A).

Testmaterialien

Bei diesem Experiment wurden folgende Produkte getestet:

Silberhaltige Verbände:

ACTICOAT Silcryst® (Act)

ATRAUMAN Ag® (Atr)

MEPILEX Ag® (Mep)

Nicht-Silberhaltige Verbände:

SUPRATHEL®(Sup)

OMIDERM® (Omi)

GAZIN® Mullkompressen (Gaz)

Honigsorten:

Medihoney®

Naturbelassener österreichischer Waldhonig

Naturbelassener österreichischer Blütencremehonig

Methoden

Übernachtskulturen von *Staph.aureus* und *Strept.pyogenes* wurden angelegt und für 24 Stunden bei 36°C inkubiert.

Mit einem sterilen Wattestäbchen wurden von jedem Bakterienstamm einige Kolonien entnommen und in Kochsalzlösung eingerührt. Der Trübungsgrad der Suspension wurde entsprechend dem McFarland-Standard von 0,5 eingestellt. Davon ausgehend wurden von jeder Kultur Bakteriensuspensionen in ansteigenden Verdünnungen 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} und 10^{-6} hergestellt (300µl Bakt-Suspension kamen jeweils auf 3ml 0,45% NaCl) und in zwei unterschiedlichen Volumina (0,1ml und 1ml) auf Blutagarplatten ausgestrichen. Alle Platten wurden für 24h bei 36°C inkubiert. Dann wurden die Kolonien gezählt (10^{-4} und 10^{-5} eigneten sich hierfür am besten) und die Keimzahl in cfu („colony-forming-units“) pro ml bei einem McFarland-Trübungsstandard von 0,5 für jeden Bakterienstamm errechnet. Dabei ergeben sich für den *Staph.aureus* eine Keimzahl von $4,32 \cdot 10^7$ cfu/ml und für den *Strept.pyogenes* $7,35 \cdot 10^7$ cfu/ml.

Die Verbandsmaterialienscheibchen à 10mm Durchmesser wurden mittels einer 10mm Stanze bzw. steriler Verbandsschere in steriler Umgebung hergestellt. Dabei war die Einhaltung einer präzise geplanten Reihenfolge erforderlich, um Materialverunreinigungen zu verhindern. Zuerst wurden nicht-silberhaltige Verbände gestanzt (1. Gazin®, 2. Omiderm®, 3. Suprathel®), dann folgten die silberhaltigen Verbandsmaterialien (4. Mepilex Ag®, 5. Acticoat®, 6. Atrauman Ag®).

Ausgehend von den Bakteriensuspensionen mit McFarland-Standard 0,5 wurden erneut Verdünnungsreihen hergestellt und dann die jeweiligen Bakterienkonzentrationen ermittelt (Bsp. McFarland 0,5 entspricht Keimzahl von 10^7 , 10^{-1} -Verdünnung entspricht einer Konzentration von 10^6 usw.). Von den Bakterienkonzentrationen 10^3 bis 10^6 wurde jeweils ein Volumen von 0,5ml auf sterile Mueller-Hinton-Blutagarplatten ausgestrichen (vier Agarplatten pro Konzentration wurden benötigt). Insgesamt waren also mindestens 16 Petrischalen pro Bakterienstamm (jeweils vier Platten in den vier ansteigenden Konzentrationen) herzustellen.

Die beimpften Agarplatten wurden mit je drei unterschiedlichen Verbandsplättchen belegt. Die Anordnung auf den Agarplatten wurde wie folgt durchgeführt:

Pro Bakterienkonzentration...

- 1 Platte mit einem Cefuroxim- und einem mit 70% Ethanol beträufeltem Plättchen (Positivkontrolle)
- 1 Platte mit den drei Nicht-Silber-Verbänden (Negativ-Kontrolle)
- 1 Platte mit den drei Silber-Verbänden
- 1 Platte mit den drei Honigproben.

Durch diese Verteilung sollten Wechselwirkungen innerhalb der Testmaterialien möglichst vermieden werden.

Drei der verwendeten Verbandsmaterialien (Acticoat®, Mepilex Ag®, Gazin®) mussten vor dem Aufbringen auf die Agarplatte mit sterilem Aqua bidest benetzt werden, um ein wundähnliches Feuchtigkeitsmilieu zu schaffen und dadurch gegebenenfalls die Silberdiffusion zu erleichtern. Um engen Kontakt zwischen dem Testmaterial und der Bakterienkultur sicherzustellen, wurden die Verbandsplättchen nach dem Platzieren an die Agar-Oberfläche sanft angedrückt.

Inkubation

Die fertigen Petrischalen wurden im Brutschrank bei 36°C in einer feuchten Kammer inkubiert, um ein wundähnliches Milieu mit hohem Hydrationsgrad zu schaffen.

Messung der Inhibitionszonen

Nach 24 und 48 Stunden Inkubation wurden die Platten aus dem Brutschrank genommen, auf Zeichen einer Bakterienhemmung inspiziert und gegebenenfalls der ausgebildete Hemmhof um jedes Testmaterial manuell vermessen. Gazin®, Suprathel® und Omiderm® dienten dabei als Negativkontrollen, Cefuroxim und 70% Ethanol als Positivkontrollen.

3.1.1.2 Ergebnisse

Die Ergebnisse dieser experimentellen in vitro-Testung von verschiedenen Verbandsmaterialien in Wechselwirkung mit den zwei grampositiven Bakterienstämmen (Staph.aureus, Strept.pyogenes) sind aus den folgenden Abbildungen ersichtlich.

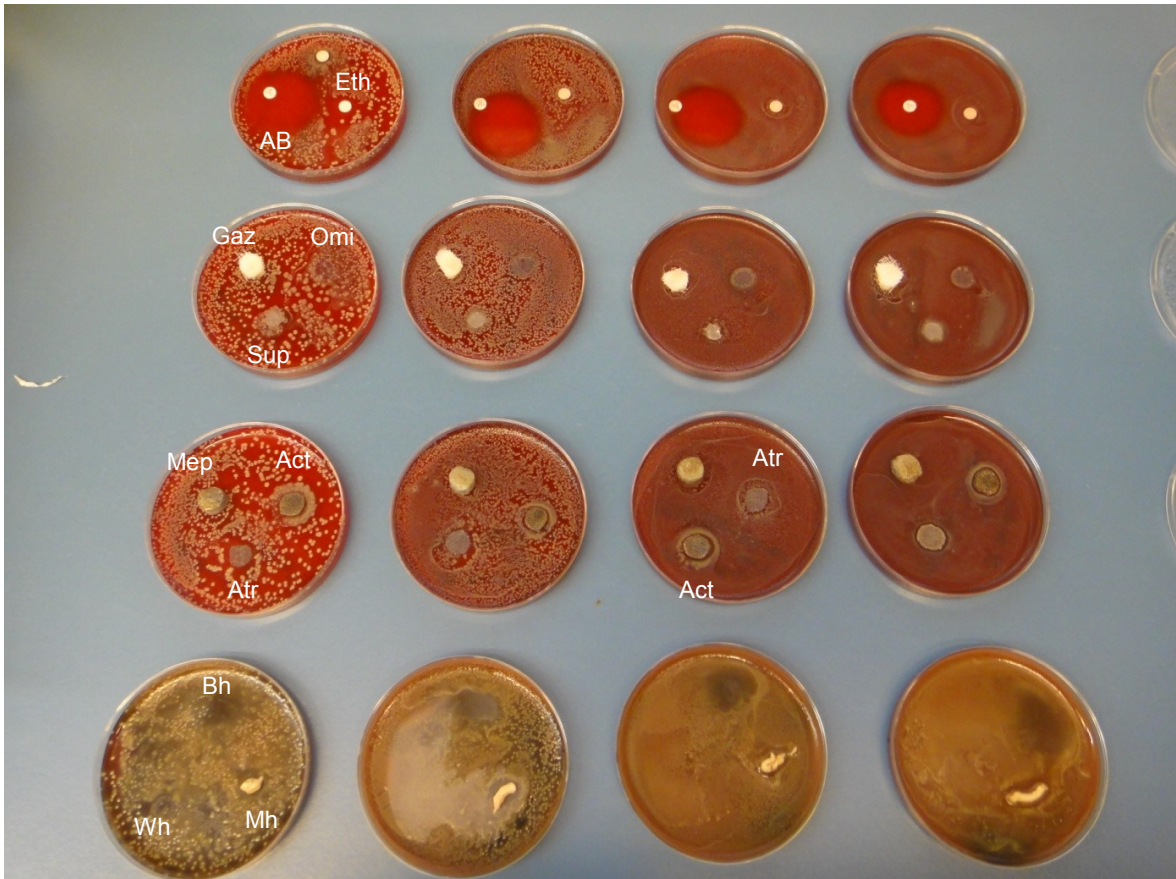


Abbildung 1 Exp.1 Testreihen für Staph.aureus nach 24h Inkubation

Erläuterung zu Abb.1:

horizontal (von links nach rechts): Konzentrationen 10^3 bis 10^6

vertikal (von oben nach unten): Positivkontrolle (links: Antibiotikum, rechts: Ethanol)

Negativkontrolle (Gazin®, Omiderm®, Suprathel®)

Silbermaterialien (Mepilex Ag®, Acticoat®, Atrauman Ag®)

Honigproben (Blütencremehonig, Medihoney®, Waldhonig)

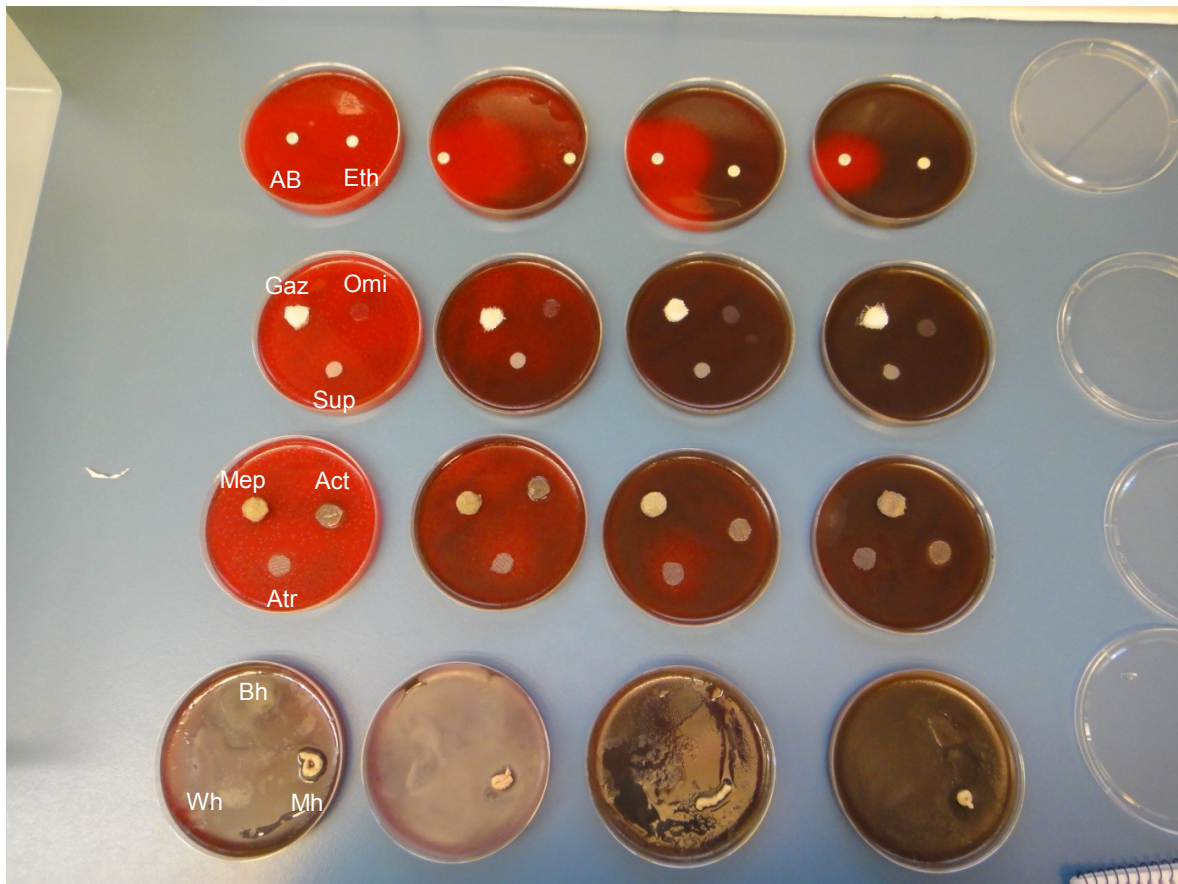


Abbildung 2 Exp.1 Testreihen für Strept.pyogenes nach 24h Inkubation

Erläuterung zu Abb.2:

horizontal (von links nach rechts): Konzentrationen 10^3 bis 10^6

vertikal (von oben nach unten): Positivkontrolle (links: Antibiotikum, rechts: Ethanol)

Negativkontrolle (Gazin®, Omiderm®, Suprathel®)

Silbermaterialien (Mepilex Ag®, Acticoat®, Atrauman Ag®)

Honigproben (Blütencremehonig, Medihoney®, Waldhonig)

Die Ergebnisse der Vermessung der Inhibitionszonen in Millimeter (mm) sind in den folgenden Tabellen (Tab.4, Tab.5) zusammengefasst. Die Keimkonzentration wurde in „colony-forming-units“ pro Milliliter (cfu/ml) angegeben.

Tabelle 4 Exp.1 Ergebnisse Inhibitionszonen - Positivkontrolle

Inhibitionszonen Positivkontrolle mit Cefuroxim				
Inkubationszeit [h]	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h
Keimkonzentration	Strept.pyogenes		Staph.aureus	
[cfu/ml]	[mm]		[mm]	
10^6	30	35	30	33
10^5	40	40	32	34
10^4	40	nm	35	36
10^3	40	nm	36	38

Anmerkung: nm...nicht messbar

Die Positivkontrolle mit dem Cefuroxim-Antibiotikum zeigte in jeder Konzentration eine gute wachstumshemmende Wirkung gegenüber den beiden verwendeten Keimen. Die Hemmhöfe waren von großem Durchmesser und gut messbar (siehe Tab.4). Bei den Strept.pyogenes-Konzentrationen 10^4 und 10^3 konnte nach 48h der Hemmhof nicht vermessen werden, da eine Wiederbesiedlung durch den Keim durch manuelles Verschieben des Testplättchens am Vortag begünstigt wurde. Die Verwendung eines Antibiotikaplättchens stellte sich im Vergleich zu 70% Ethanol als besser geeignete Variante dar. Bei Ethanol war nur vereinzelt eine Inhibition nachweisbar. Dies dürfte auf das geringe verwendete Volumen an Ethanol zurückzuführen sein.

Die drei nicht-silberhaltigen Verbände zeigten keine Inhibition, was aufgrund ihrer Zusammensetzung zu erwarten war. Sie dienten als Negativkontrolle.

Tabelle 5 Exp.1 Ergebnisse Inhibitionszonen - Silberhaltige Verbandsmaterialien

Inhibitionszonen Silberverbände				
Inkubationszeit [h]	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h
Keimkonzentration	Strept.pyogenes		Staph.aureus	
[cfu/ml]	[mm]		[mm]	
Mepilex				
10^6	nv	nv	12	12
10^5	nv	nv	14	14
10^4	nv	nv	12	12
10^3	nv	nv	nv	nv
Atrauman				
10^6	14	14	13	14
10^5	12	12	12	12
10^4	12	13	12	14
10^3	11	12	12	14
Acticoat				
10^6	14	15	14	13
10^5	12	14	14	14
10^4	13	15	12	12
10^3	13	14	12	11

Anmerkung: nv...(Hemmhof) nicht vorhanden

Für die Bakterienstämme Staph.aureus und Strept.pyogenes wurden ähnliche Messergebnisse erhalten, wobei die Hemmhöfe um die Staph.aureus-Kulturen deutlicher sichtbar und dadurch besser messbar waren (siehe Abb.1). Diese Hemmhöfe wurden nach 24 und nach 48 Stunden Inkubation vermessen, wobei kaum Unterschiede in den Messwerten erhalten wurden.

Die silberhaltigen Verbandsmaterialien bildeten im Vergleich zu nicht-silberhaltigen Materialien in vitro gegen die verwendeten Teststämme sichtbare Inhibitionszonen aus, deren Durchmesser eine Dimension zwischen 11 und 15 mm (inklusive 10 mm Plättchendurchmesser) erreichte, je nach Verbandsmaterial, Bakterienstamm und Bakterienkonzentration (siehe Tab.5). Die Hemmhöfe waren bei beiden Keimen bei den Konzentrationen 10^4 und 10^5 am besten auswertbar.

Innerhalb der silberhaltigen Materialien gab es nur kleine Unterschiede zu erkennen. Acticoat® und Atrauman Ag® bildeten auf nahezu allen Platten Hemmhöfe aus. Bei Acticoat® war allerdings vor allem auf den Staph.aureus-Platten ein dicht besiedelter Bakterienraum um die Hemmzone zu erkennen (siehe Pfeile in Abb.3). Dies dürfte auf die Tränkung mit Aqua bidest und auf den dadurch ausgebildeten Flüssigkeitsfilm zurück zu führen sein. Mepilex Ag® zeigte nur gegen Staph.aureus eine Wirkung, die jedoch im Vergleich zu den anderen Testmaterialien eher diskret war und sich durch asymmetrische Hemmzonen präsentierte.

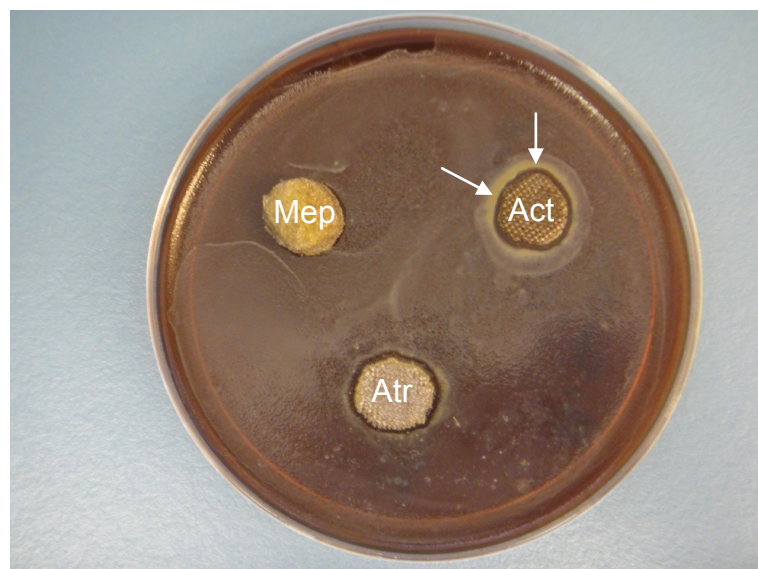


Abbildung 3 Exp.1 Staph.aureus-Kultur mit Silbermaterialien nach 48h Inkubation

Die getesteten Honigproben zeigten Aufhellungszonen, was auf eine antibakterielle Wirkung hindeutete. Um den formstabilen Medihoney® waren deutliche Inhibitionsbereiche zu erkennen (siehe Abb.1&2). Diese Beobachtungen konnten jedoch aufgrund der großflächigen Verteilung und Vermischung der unterschiedlichen Honigsorten nicht vermessen und daher nicht ausgewertet werden.

Um die antibakterielle Potenz des Honigs messbar zu machen, wurden bei den weiteren Laborversuchen sterile Plastikringe verwendet. Dadurch konnten die Honigproben auf der Agarplatte lokalisiert aufgebracht und eine Vermischung der Honigproben verhindert werden.

3.1.1.3 Diskussion

Die antiseptische Wirkung von silberhaltigen Verbandsmaterialien im Vergleich zu herkömmlichen Materialien ohne Silberkomponente konnte mit diesem Testversuch klar aufgezeigt werden. Die Hemmhöfe waren sichtbar, jedoch die antibakterielle Wirkung der Silbermaterialien im Vergleich zu einem Antibiotikum offensichtlich schwächer ausgeprägt. Dies bedeutet, dass das Bakterienwachstum durch Silber scheinbar geringer inhibiert wird.

Der Unterschied zwischen den einzelnen getesteten Silber-Verbänden dürfte auf die labortechnische Aufbereitung zurückzuführen sein. Acticoat® und Mepilex Ag® wurden vor dem Versuch mit Aqua bidest beträufelt. Mepilex Ag® scheinbar zu wenig, um eine korrekte Silberdiffusion zu ermöglichen. Acticoat® vermutlich etwas zu viel, da sich ein schwimmender Bakterienrasen um die Inhibitionszone ansammelte. Diese Aspekte sollten in weiteren Testläufen berücksichtigt werden, um bessere Aussagen in Bezug auf Wirkunterschiede zwischen den einzelnen Silberpräparaten treffen zu können.

Die Positivkontrolle mit Ethanol stellte sich als nicht geeignet dar, da keine auswertbaren Ergebnisse gewonnen werden konnten. Dies ist vermutlich auf ein zu gering verwendetes Volumen (10µl) zurückzuführen.

Nach 24 Stunden Inkubation sind die Bakterienkulturen gut angewachsen und die Agarplatten konnten ausgewertet werden. Die Inkubation für weitere 24 Stunden zeigte schlussendlich ähnliche Messergebnisse. Daraus lässt sich schließen, dass die Silberdiffusion nach den ersten 24 Stunden zur Stagnation kommt.

Durch diesen ersten Testdurchlauf konnten wichtige Informationen über das in vitro-Verhalten der Verbandsmaterialien gegenüber den für das TSS relevanten Stämmen und den verwendeten Medien gesammelt werden. Einige Aspekte machen jedoch eine weitere wissenschaftliche Untersuchung hoch spannend, die in abgeänderter Durchführung stattfinden soll. Neue Ansätze sollen labortechnisch umgesetzt werden (siehe Experiment 2). Die Keimkonzentrationen 10^4 bis 10^6 zeigten im Vergleich zu den geringeren Konzentrationen einen dichteren Bakterienrasen, der die Hemmwirkung der Materialien gut beurteilbar macht. In weiteren Testläufen kann daher an Aufwand und Material durch Beschränkung auf bestimmte Konzentrationen eingespart werden.

Um die antimikrobielle Wirkung des Honigs messbar zu machen, ist die Anschaffung von sterilen Glas- oder Plastikringen notwendig. Dadurch könnten die Honigproben auf die Agarplatte genau lokalisiert aufgebracht und dann korrekt ausgewertet werden.

Um die Testvorbereitung und das Handling der einzelnen Testplättchen zu vereinfachen, könnte man die Testmaterialien in quadratische Formen schneiden. Die Ausmessung der Durchmesser wäre dann horizontal und vertikal vorzunehmen. Dies würde eventuell auch eine bessere Tränkung der Testplättchen vor dem Auflegen ermöglichen. Diese sollten mit geeigneter Flüssigkeit angesaugt und danach gut ausgedrückt werden, da dies der Anwendung im klinischen Alltag entspricht. Man könnte sich auch überlegen, statt dem Aqua bidest, das im Grunde keinem physiologischen Wundsekret ähnelt, humanes Serum oder Humanalbumin zu verwenden.

Eine weitere Variante zur Ermöglichung einer besseren Silberdiffusion in das Testmedium wäre die Aufbringung der silberhaltigen Verbandsmaterialien auf sterile Agarplatten, die dann ohne Inoculum bereits für 24 bis 48 Stunden bei Raumtemperatur gelagert werden. Erst danach sollten die Agarplatten mit den jeweiligen Bakteriensuspensionen beimpft werden. Dadurch sollten statistisch relevantere Ergebnisse gewonnen werden. Bei Betrachtung der Ergebnisse dieses ersten Laborversuchs ist zu bedenken, inwiefern dieses Studiendesign für den klinischen Alltag relevant ist. Faktum ist, die Brandwunde ist primär steril und wird erst sekundär von Bakterien besiedelt. Die Verbände mit Silber als Inhaltsstoff sind also eine prophylaktische Maßnahme und sollten eine Keimbesiedelung der Wunde beziehungsweise eine schwerwiegende systemische Reaktion, wie das TSS, verhindern. Diesen Sichtpunkt betreffend wäre die beschriebene Methode also ein guter Ansatz für weitere Testdurchläufe, um klinisch-relevantere Ergebnisse zu erzielen.

Die Testung von weiteren silberhaltigen Verbandsmaterialien mit anderer Oberflächenbeschaffenheit beziehungsweise Zusammensetzung wäre ebenfalls von wissenschaftlichem Interesse. Dadurch könnte man den Wirkungsgrad mehrerer Testmaterialien untereinander vergleichen.

Um Aussagen über das Verhalten in unterschiedlichen Milieus zu erlangen könnte man testen, ob sich die Inkubation in einer feuchten Kammer im Gegensatz zur nicht-feuchten Inkubation im Wärmeschrank auf die Reaktion auswirkt. In Kenntnis der Kinetik der Silbermaterialien wäre des Weiteren eine längere Versuchsdauer mit Inkubation bis zu sieben Tage und dadurch ein deutlich prolongierter Beobachtungszeitraum von großem Interesse. Dadurch sollte genau auf die Dauer der Wachstumshemmung rückgeschlossen werden können beziehungsweise etwaige Wiederbesiedelung nach x Tagen festgehalten werden.

Im Rahmen dieser Laborarbeit beschränkten wir uns allerdings auf andere Versuchsvarianten (siehe Experiment 2 und 3).

3.1.2 Experiment 2

3.1.2.1 Material und Methoden

Verwendete Medien

Beim zweiten Testversuch dieser Studie wurde in erster Linie ein gewöhnlicher Müller-Hinton-Agar (MHA) und für eine Vergleichsreihe Müller-Hinton-Blutagar (MHB) verwendet.

Verwendete Keime

Ein hauseigener Staphylokokkus aureus kam hier zum Einsatz. Dieser Keim ist labortechnisch einfacher zu kultivieren und somit für Laborversuche besser geeignet als der Streptokokkus. Hierbei handelt es sich um keinen toxinbildenden Stamm.

Testmaterialien

Für diesen Testversuch wurden folgende Verbandsmaterialien verwendet:

Silberhaltige Verbände:

ACTICOAT Silcryst® (Act)

MEPILEX Ag® (Mep)

Diese wurden sowohl als quadratische Verbandsplättchen mit 10x10mm Größe, als auch gelöst in halbisotoner Natriumchloridlösung getestet.

Honig:

Medihoney®

Naturbelassener österreichischer Waldhonig

Naturbelassener österreichischer Blütencremehonig

Methoden

Eine Übernachtskultur von Staph.aureus wurde angelegt und für 24 Stunden bei 36°C inkubiert.

Mit einem sterilen Wattestäbchen wurden von jedem Bakterienstamm einige Kolonien entnommen und in halbisotone Kochsalzlösung eingerührt. Der

Trübungsgrad der Suspension wurde entsprechend dem McFarland-Standard von 0,5 (entspricht einer Keimzahl von 10^7 cfu/ml) eingestellt. Davon ausgehend wurden Bakteriensuspensionen in ansteigenden Verdünnungen 10^{-1} (KZ 10^6), 10^{-2} (KZ 10^5) und 10^{-3} (KZ 10^4) hergestellt. Für den Versuch wurde ausschließlich die Bakteriensuspension mit 10^4 cfu/ml verwendet. Ausgehend von dieser Keimsuspension wurde jeweils ein Volumen von 0,5ml auf die sterilen Agarplatten ausgestrichen. Es wurden 2 MHB-Platten und mindestens 11 gewöhnliche MHA-Platten benötigt.

Die Verbandsmaterialien wurden in 10x10mm Quadrate mittels einer sterilen Schere in steriler Umgebung unter der Abzughaube geschnitten.

Mittels Agardiffusionstests in mehreren Varianten, die sich in ihrer Durchführung unterscheiden, wurde die bakterio-statische Wirkung der einzelnen Materialien gegenüber *Staphylococcus aureus* in-vitro analysiert. Eine antimikrobielle Wirkung galt als nachgewiesen, wenn sich um das Testplättchen bzw. die Testlösung ein Hemmhof bildete. Dieser wurde nach 24 und nach 48 Stunden Inkubation genau vermessen.

Testvarianten

Hier eine Übersicht über die unterschiedlichen Varianten dieses Laborversuches:

Variante 1:

Acticoat® und Mepilex Ag® wurden für mindestens 30 Sekunden in Aqua bidest bzw. in 0,45% halbisotone NaCl-Lösung getunkt und per Hand gut ausgedrückt. Es wurden jeweils ein Acticoat®- und ein Mepilex Ag®-Plättchen (einmal in Aqua, einmal in 0,45% NaCl getunkt) auf beimpfte MHA- bzw. MHB-Platten appliziert. Um engen Kontakt zwischen dem Testmaterial und der Bakterienkultur sicherzustellen, wurden die Verbandsplättchen nach dem Platzieren an die Agar-Oberfläche sanft angedrückt.

Variante 2:

Acticoat®- und Mepilex Ag®-Plättchen wurden für mindestens 30 Sekunden in Aqua getunkt, per Hand gut ausgedrückt und für 30 bzw. für 60 Minuten auf beimpfte MHA-Platten aufgelegt, dann entfernt und in dieser Form inkubiert.

Von der klinischen Anwendung dieser Silbermaterialien ist bekannt, dass diese bereits unmittelbar nach lokaler Aufbringung auf die Wunde einer Kolonisation mit diversen Bakterien entgegen wirken. Um das Ausmaß der Silberdiffusion nach zeitlich begrenztem Kontakt der Verbände mit dem Untergrund festzustellen, wurde diese Methode in Anlehnung an eine erst kürzlich erschienene Studie [33] in-vitro durchgeführt. Dafür wurden zwei fixe Applikationszeiten (30 bzw. 60 Minuten) gewählt.

Variante 3:

1 cm² große quadratische Acticoat®- & Mepilex Ag®-Plättchen wurden für 24 bzw. 48 Stunden in 5ml einer halbisotonen NaCl-Lösung eingelegt. Dabei soll eine gewisse (noch unbekante) Menge an freiem Silber gelöst werden. Ein Teil wird als Silberchlorid gebunden werden. Von diesen Silberlösungen wurde ein Volumen von 40µl in, auf den beimpften MHA-Platten liegende, sterile Plastikringe mit Außenrand-Durchmesser von 15mm pipettiert.

Als Positivkontrolle diente für diesen Versuch Octenisept®. Als Negativkontrolle wurde halbisotone (0,45%) Kochsalzlösung verwendet.

Variante 4:

Durchführung wie Variante 3, jedoch wurde von den Silberlösungen ein Volumen von 20µl auf neutrale Testplättchen mit 5mm Durchmesser geträufelt. Positiv- und Negativkontrolle wie Variante 3.

Variante 5:

Die vorher bei 36°C verflüssigten Honigproben wurden in möglichst gleichen Mengen in die, auf den beimpften MHA-Platten liegenden, sterilen Plastikringe mit 15mm Außenrand-Durchmesser pipettiert bzw. geträufelt.

Inkubation

Die Inkubation erfolgte im Brutschrank bei 36°C in einer feuchten Kammer, um einen ähnlichen Hydrationsgrad wie in einem Wundmilieu zu erreichen. Nach 24 und 48 Stunden Inkubation wurden die Platten aus dem Brutschrank genommen, auf Zeichen einer Bakterienhemmung inspiziert und gegebenenfalls die ausgebildeten Inhibitionszonen genau vermessen.

Messung der Inhibitionszonen

Die manuelle Messung der Inhibitionszonen musste aufgrund der unterschiedlichen Methoden in drei verschiedenen Varianten erfolgen. Die Hemmzonen um die 10 mm² großen Quadrate wurden horizontal und vertikal in Millimeter vermessen (inklusive Seitenlänge des Plättchens von jeweils 10 mm). Um einen besseren Vergleich der Ergebnisse untereinander zu ermöglichen, wurde ähnlich vorgegangen wie in einer aktuellen englisch-amerikanischen Studie zur Testung der Effektivität von Silber-Alginat-Verband [34]. Aus den zwei Messungen wurde der Mittelwert in mm berechnet mit dem Unterschied, dass die Maße der Plättchen von den Messwerten nicht subtrahiert wurden und die Maße daher im Vergleich zu der zitierten Studie als nicht korrigiert zu bezeichnen sind. Es handelt sich also um absolute Messwerte. Um die verwendeten Kunststoffringe wurden die Durchmesser der Hemmhöfe in Millimeter vermessen und inklusive dem Ringaußendurchmesser von 15mm in die Tabelle eingetragen. Auch um die in Variante 4 verwendeten Testplättchen wurden die Durchmesser der Hemmzonen inklusive 5mm Plättchendurchmesser ermittelt.

3.1.2.2 Ergebnisse

Es konnten deutliche Unterschiede hinsichtlich der antimikrobiellen Aktivität zwischen den getesteten Materialien in den verschiedenen Varianten der labortechnischen Durchführung festgestellt werden.

Bei der zweiten Auswertung nach 48 Stunden Bebrütungszeit konnten keinerlei Veränderungen hinsichtlich des Hemmverhaltens beziehungsweise keinerlei Anzeichen einer Rekolonisation durch Staph.aureus-Kolonien beobachtet werden. Die quantitativen Ergebnisse entsprechen also denen nach 24 Stunden Inkubation. Aus diesem Grund werden sie bei der Endauswertung nicht separat erläutert.

Die folgenden Abbildungen und Tabellen sollen einen Überblick über die Ergebnisse der verschiedenen Varianten des zweiten Laborversuches nach 24 Stunden Inkubation in der feuchten Kammer geben.

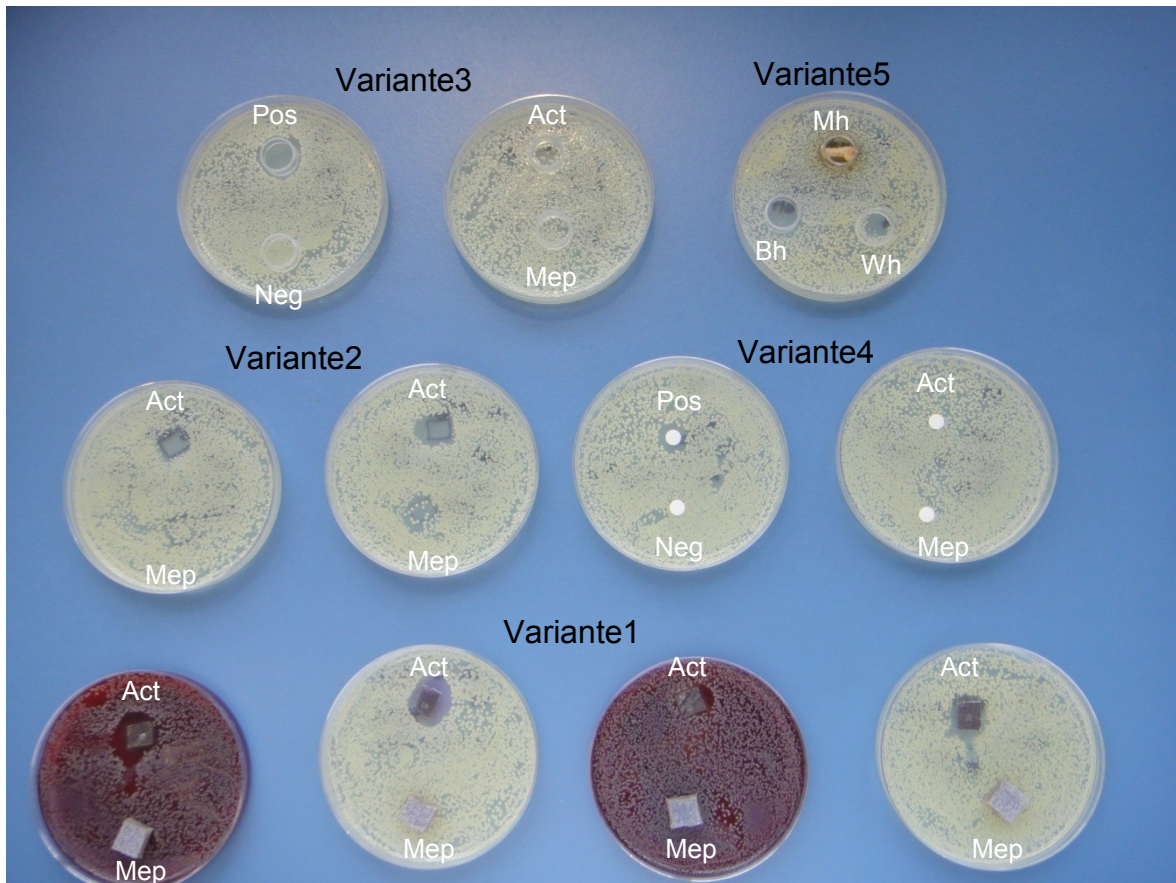


Abbildung 4 Exp.2 Ergebnisse Variante 1 bis 5 nach 24h Inkubation

Erläuterung zu Abb.4: Beschreibung der Varianten von unten nach oben, jeweils von links nach rechts:

1. Reihe: Variante 1 (4 Platten)
2. Reihe: Variante 2 (2 Platten li), Variante 4 (2 Platten re)
3. Reihe: Variante 3 (2 Platten li), Variante 5 (1 Platte re)

Bei *Variante 1* der durchgeführten Methoden ist bereits im Übersichtsbild (Abb.4) ein deutlicher Unterschied in der Hemmwirkung zwischen den verwendeten Verbandsmaterialien Acticoat® und Mepilex Ag® zu erkennen.

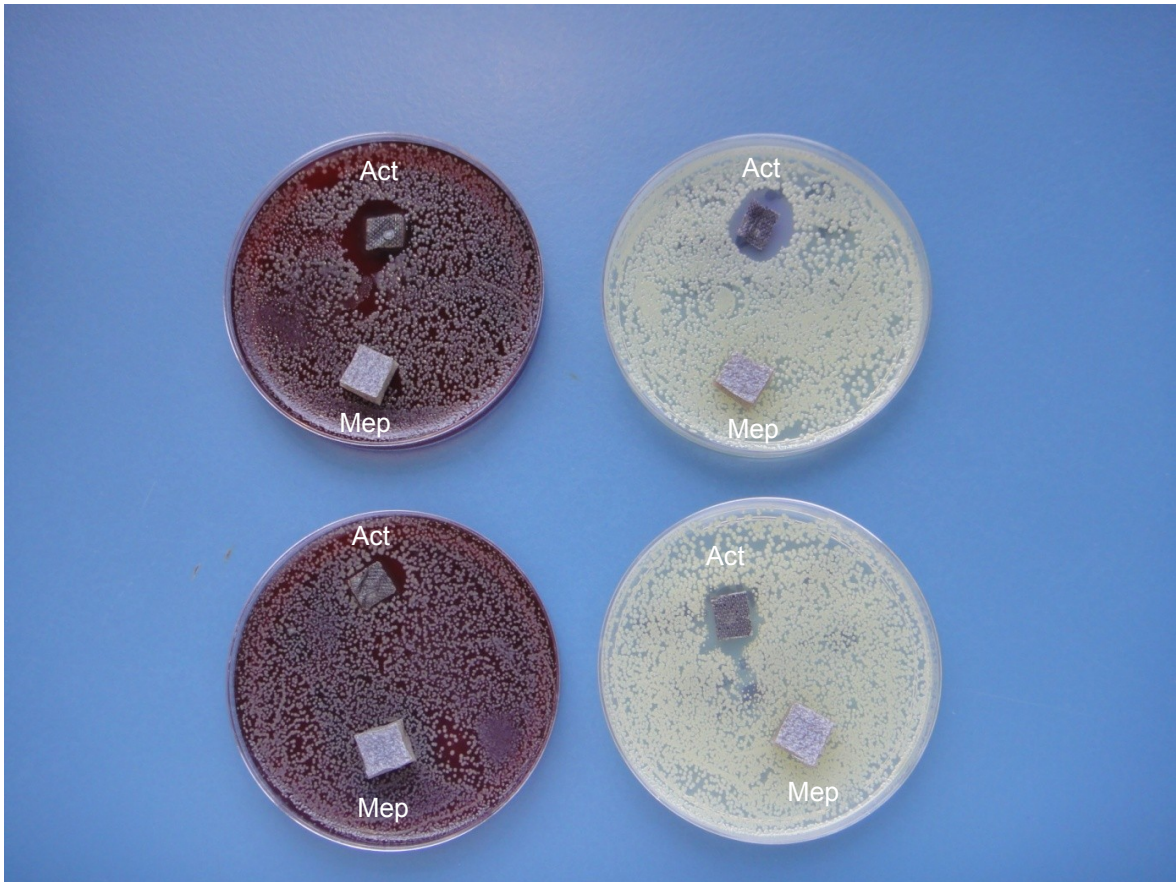


Abbildung 5 Exp.2 Ergebnisse Variante 1 nach 24h Inkubation

Erläuterung: oben: Act & Mep getunkt in Aqua auf MHB- (li) bzw. MHA-Platte (re)
 unten: Act & Mep getunkt in 0,45% NaCl auf MHB- (li) bzw. MHA-Platte (re)

Der Silberverband Acticoat® mit nanokristallinen Komponenten zeigte eine deutliche antimikrobielle Aktivität gegenüber Staph.aureus (siehe Abb.5). Wie aus Tab.6 ersichtlich wurden Hemmhöfe im Ausmaß von 13,5 bis 15 mm um das in halbisotoner (0,45%) Kochsalzlösung getunkte bzw. 19 bis 19,5 mm um das in Aqua getunkte Verbandsplättchen vermessen. Sowohl auf der MHB- als auch auf der MHA-Platte wurden bei Hydrierung in den gleichen Lösungen vergleichbare Werte gemessen. Die Differenz der Mittelwerte beträgt 0,5 bzw. 1,5 mm. Im Vergleich zu Acticoat® waren beim silberhaltigen Schaumverband Mepilex Ag® keine Hemmzonen messbar. Mit freiem Auge war beim Aqua getunkten Mepilex Ag® auf der MHB-Platte eine hemmende Wirkung angedeutet, jedoch nicht als eindeutige Zone ohne Bakterienbewuchs deutbar.

Tabelle 6 Exp.2 Quantitative Ergebnisse Variante 1 nach 24h Inkubation

Variante 1				
Medium	MHA		MHB	
Tunklösung	Aqua	0,45%NaCl	Aqua	0,45%NaCl
Acticoat	19*	15*	19,5*	13,5*
Mepilex	-	-	-	-

*...Mittelwert der Hemmhof-Durchmesser in mm (inklusive 10mm Plättchenseitenlänge)

Bei Betrachtung der MHA- und MHB-Platte von der Unterseite beziehungsweise nach Entfernung des Mepilex Ag®-Testplättchens zeigte sich eine diskrete antibakterielle Wirkung von Mepilex Ag® mit Wachstum einzelner Staph.aureus-Kolonien (siehe Pfeile in Abb.6).

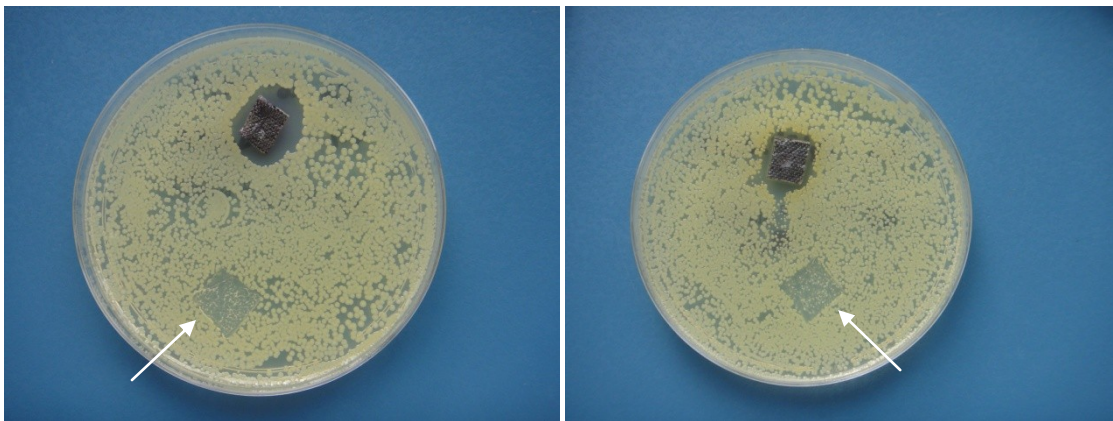


Abbildung 6 Exp.2 Sichtbare Staph.aureus-Kolonien bei Ansicht von oben nach Mepilex Ag® Entfernung

Erläuterung: linkes Bild: in Aqua getunktes Mepilex Ag®, rechtes Bild: in 0,45% NaCl getunktes Mepilex Ag®

In *Variante 2* konnten ähnliche Unterschiede in der antimikrobiellen Aktivität zwischen Acticoat® und Mepilex Ag® festgestellt werden (siehe Abb.7).

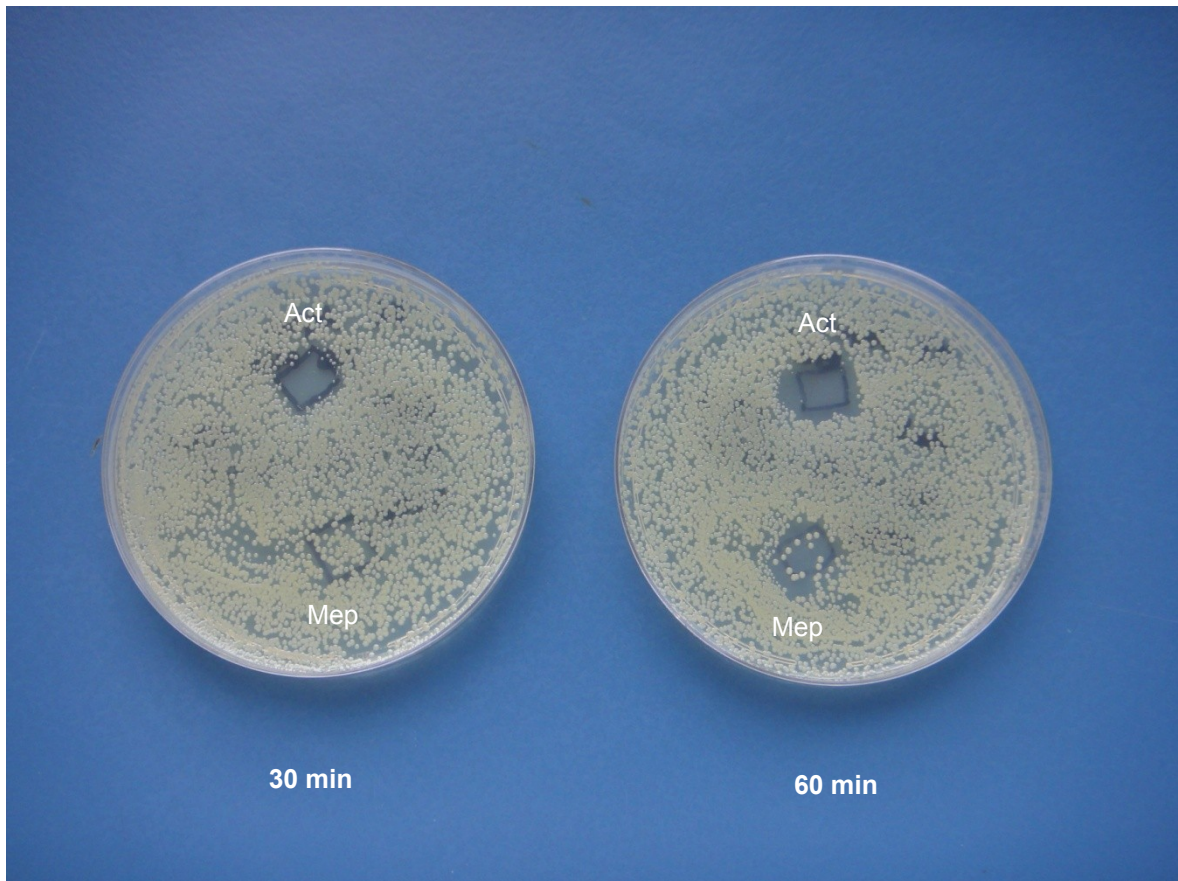


Abbildung 7 Exp.2 Ergebnisse Variante 2 nach 24h Inkubation

Bereits nach 30 Minuten zeigte Acticoat® eine klare Inhibition des Bakterienwachstums, die nach 60 Minuten Applikationszeit in ihrem Ausmaß noch ausgeprägter war (siehe Tab.7). Mepilex Ag® hemmte das Wachstum von Staph.aureus ungleichmäßig, also mit Wachstum einzelner Kolonien auch in dem Bereich, wo Mepilex Ag® zuvor aufgebracht wurde. Wie bei Acticoat® war jedoch auch hier eine Steigerung der antiseptischen Wirkung bei prolongierter Applikationszeit zu beobachten.

Tabelle 7 Exp.2 Quantitative Ergebnisse Variante 2 nach 24h Inkubation

Variante 2		
Applikationszeit	30 min	60 min
Acticoat	12,5*	14,5*
Mepilex	-	12,5*

*...Mittelwert der Hemmhof-Durchmesser in mm (inklusive 10mm Plättchenseitenlänge)

Die ähnlich angelegten *Variante 3 und 4* wurden in der Aussagekraft ihrer Durchführbarkeit dadurch bestätigt, dass die Positivkontrolle mit und die

Negativkontrolle ohne der Ausbildung einer Hemmzone den gewünschten Effekt zeigten.

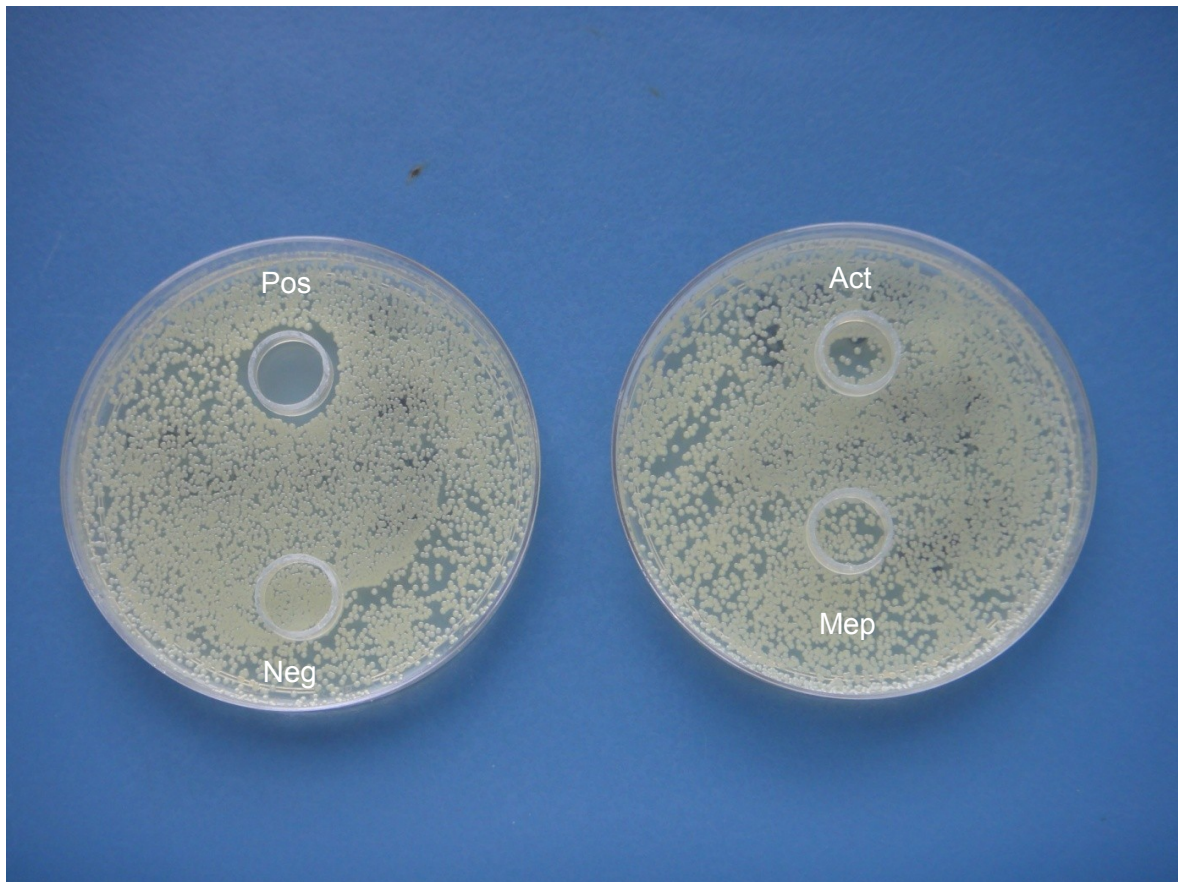


Abbildung 8 Exp.2 Ergebnisse Variante 3 nach 24h Inkubation

Bei Variante 3 bildete die Positivkontrolle mit Octenisept® einen Hemmhof von 18 mm (inklusive 15mm Ringdurchmesser) und die Negativkontrolle mit halbisotoner Kochsalzlösung, wie erwartet, keinen Hemmhof aus. Die mit dem Silber aus den Materialien angereicherten halbisotonen Kochsalzlösungen zeigten sowohl nach 24, als auch nach 48 Stunden Tunkzeit nur angedeutet eine antiseptische Wirkung gegenüber Staph.aureus. Diese Wirkung ist sehr gering und dadurch nicht auswertbar (siehe Abb.8).

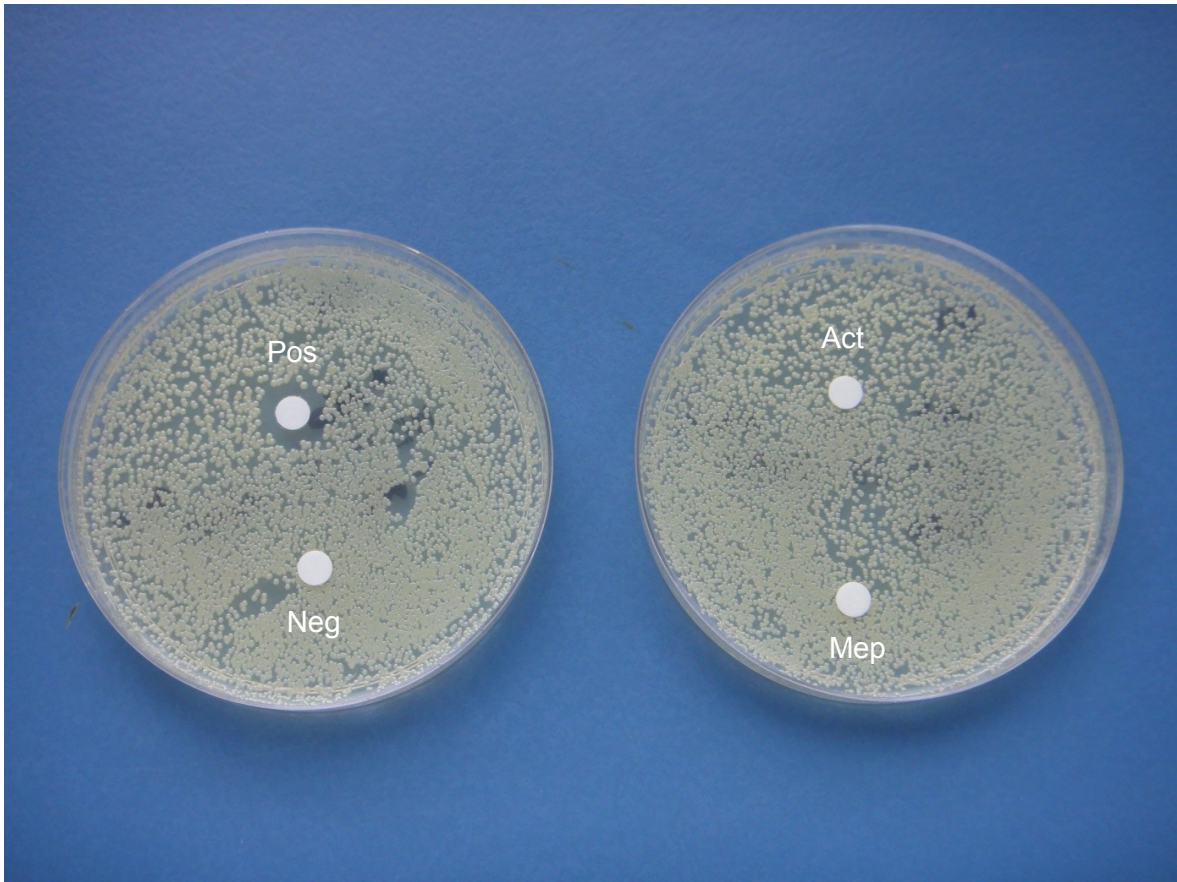


Abbildung 9 Exp.2 Ergebnisse Variante 4 nach 24h Inkubation

Bei Variante 4 wurde ein Testplättchen mit 5mm Durchmesser verwendet, um das die Positivkontrolle eine Hemmzone von insgesamt 12mm ausbildete. Die Negativkontrolle blieb wie erwartet ohne Reaktion. Die mit dem Silber aus den Materialien angereicherten halbisotonen Kochsalzlösungen zeigten sowohl nach 24, als auch nach 48 Stunden Tinkzeit keinerlei antiseptische Wirkung gegenüber Staph.aureus (siehe Abb.9).

Die Ergebnisse der *Variante 5* lassen mit freiem Auge erkennen, dass alle drei verwendeten Honigsorten eine Inhibition des Staph.aureus-Wachstums zeigten (siehe Abb.10).

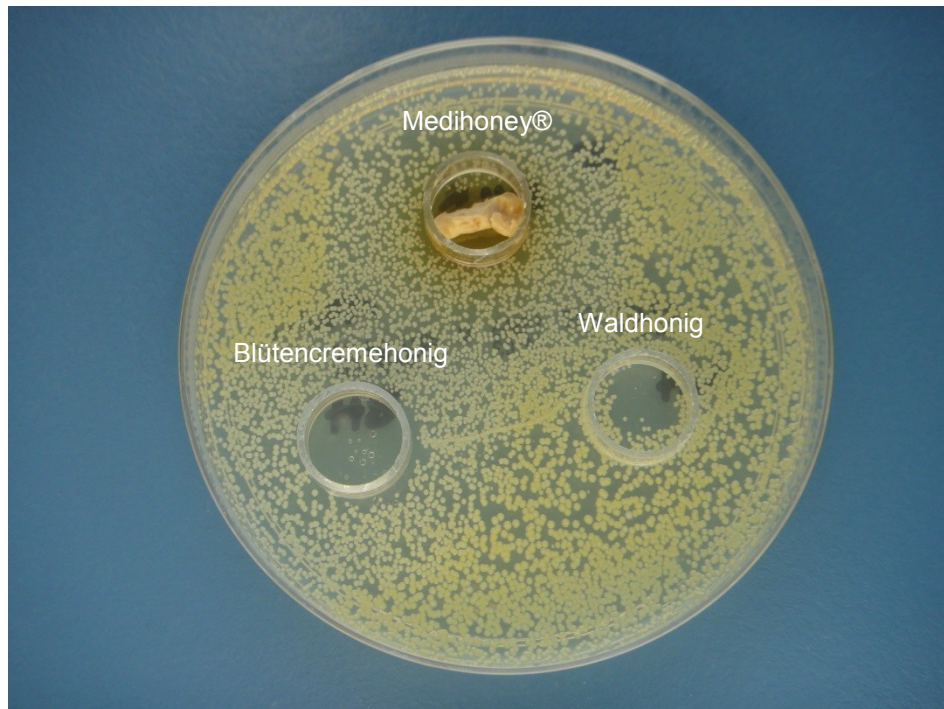


Abbildung 10 Exp.2 Ergebnisse Variante 5 nach 24h Inkubation

Der medizinische Honig und die naturbelassenen Honigsorten zeigten eine vergleichbare antibakterielle Wirkung, wobei die hemmende Wirkung fast ausschließlich auf den Bereich innerhalb der Testringe beschränkt war. Wie in Abb.10 ersichtlich ist, war bei dieser in-vitro-Testung bei Blütencremehonig mit einem Hemmhofdurchmesser von 17mm (inklusive 15mm Ringdurchmesser) die antimikrobielle Wirkung am stärksten ausgeprägt.

3.1.2.3 Diskussion

Die Ergebnisse schließen an ähnliche, bereits veröffentlichte Studien zur Testung von diversen silberhaltigen Verbandsmaterialien an. Nanokristalline Silberverbände zeigten in verschiedenen in-vitro-Testungen auf mit *Staphylococcus aureus* beimpftem Müller-Hinton-Agar stets gute antimikrobielle Wirkung [35].

Die bei diesem Laborversuch verwendeten Verbandsmaterialien zeigten ebenfalls eine antimikrobielle Wirkung gegenüber dem verwendeten Keim, jedoch in unterschiedlicher Ausprägung, von ungleichmäßig bis deutlich.

Die Ergebnisse der *Variante 1* spiegeln die Unterschiede in der antimikrobiellen Aktivität der silberhaltigen Verbände gut wieder. Während sich Acticoat® in vitro als Wundverband mit deutlicher Hemmwirkung gegenüber *Staph.aureus* präsentiert, scheint Mepilex Ag® kaum Wirkung zu entfalten. Dies könnte darauf hindeuten, dass sich Mepilex Ag® als präventiver Verband bei frischen Brandwunden durch seine sehr zurückhaltende antiseptische Wirkung weniger eignet als Acticoat®. Diesbezüglich wäre interessant, diese Ergebnisse mit klinischen Fallberichten der BVE Graz zu vergleichen. Diese Wirkunterscheide könnten in unserem Experiment jedoch auch auf Fehler in der Anwendung, unter anderem bei suboptimaler Befeuchtung von Mepilex Ag® mit Aqua bidestillata beziehungsweise halbisotoner Kochsalzlösung zurückzuführen sein. Durch seinen schwammartigen Aufbau könnte eine längere oder auch kürzere Tunkphase notwendig sein als bei Acticoat®. Sowohl bei Acticoat®, als auch bei Mepilex Ag® zeigte sich bei Befeuchtung mit Aqua in vitro eine größere Hemmwirkung. Möglicherweise löst die halbisotone Kochsalzlösung bereits mehr Silber und bildet mit den Silberionen das unlösliche Silberchlorid aus, das dann jedoch in der Lösung zurückbleibt. Aus diesem Grund wird beispielsweise Acticoat® vor der Anwendung immer mit Aqua bidest befeuchtet. Man müsste diesbezüglich weitere Testungen durchführen, um exaktere Aussagen treffen zu können. Die Differenz zwischen den Hemmhofdurchmessern um Acticoat® auf den zwei verschiedenen verwendeten Medien ist minimal und aufgrund von möglichen manuellen Messfehlern nicht aussagekräftig.

Wie zuvor bereits diskutiert, ist auch bei *Variante 2* mit freiem Auge ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Materialien in ihrer antibakteriellen Wirkung erkennbar. Bei diesem Versuch konnte jedoch auch gezeigt werden, dass bereits nach 30 Minuten Applikation von Acticoat® eine bedeutende Konzentration an Silber in den Agar diffundiert ist und sich klare, keimfreie Hemmzonen ausbildeten. Nach der doppelten Applikationszeit ist wie erwartet ein um zwei Millimeter größerer Hemmhof zu messen. Auch Mepilex Ag® zeigte Wirkung, jedoch gleich wie bei den anderen Versuchsvarianten mit geringerer Potenz. Einzelne Staph.aureus-Kolonien sind in den Applikationsbereich eingewachsen. Diese Ergebnisse sind für den klinischen Alltag insofern relevant, als dass man bei korrekter Anwendung sicher gehen kann, dass die Verbände unmittelbar nach Applikation und nicht erst verzögert ihre Wirkung durch das freie Silber entfalten. So können diese einer Besiedelung mit Keimen, die in weiterer Folge zu einer systemischen Infektion mit Schockreaktion führen könnte, frühzeitig entgegen wirken.

Die methodischen Ansätze der *Varianten 3 und 4* sind aus dem Grund interessant, da daraus nach quantitativer Bestimmung der exakten gelösten Silbermenge direkte Zusammenhänge zwischen antimikrobieller Wirkung und Menge an diffundiertem Silber gezogen werden könnten. Bei diesem Testdurchlauf konnten für die getesteten Silberlösungen keine positiven Ergebnisse dokumentiert werden. Dies dürfte an der zu großen Verdünnung der Silberlösung gelegen sein oder aber es war zu wenig freies Silber in der Lösung vorhanden. Denn eine wesentliche Voraussetzung für diesen Testversuch war, dass der Silberanteil der Verbände in ausreichender Menge als freies Silber gelöst wird und nicht zu großen Teilen eine Verbindung mit den Chloridionen der Lösung eingeht. Für weitere Versuche müsste eine konzentriertere Lösung durch eine Vergrößerung der Fläche an Verbandsmaterial oder eine Reduktion des Volumens an Kochsalzlösung hergestellt werden.

Die *Variante 5* lieferte gute Ergebnisse hinsichtlich der antibakteriellen Wirksamkeit der verschiedenen Honigsorten. Die hemmende Wirkung auf das Wachstum von Staph.aureus war bei allen drei Proben eindeutig ersichtlich.

Das Wissen über die heilende Wirkung des Honigs und seine Anwendung in der Behandlung von frischen und chronischen Wunden geht bis in die Antike zurück. Die Heilkraft des Honigs geriet aber im Laufe des letzten Jahrhunderts durch neue pharmakologische Ansätze in der Wundheilung immer mehr in Vergessenheit. In erster Linie durch die Einführung der Antibiotika Anfang des 20. Jahrhunderts wurde Honig vor allem in den Industrienationen als Wundheilungsmittel weitgehend verdrängt. Mit der Zulassung von Medihoney® als Medizinprodukt in der Wundheilung 2005 gewann Honig für den Einsatz in der Wundbehandlung, in erster Linie chronischer Wunden, wieder neue Bedeutung. Beim Produkt Medihoney® handelt es sich um einen aus dem Blütennektar von verschiedenen Leptospermum-Buscharten gewonnenen neuseeländischen Manuka-Honig, der durch Gammastrahlung sterilisiert und mit einem speziellen Verfahren gefiltert wird, um allergische Reaktionen zu vermeiden [36]. Die antibakterielle, entzündungshemmende und wundreinigende Wirkung des Honigs mit Förderung der Granulation und Epithelialisierung beruht auf verschiedenen Mechanismen, die im folgenden Absatz genannt werden sollen: Die Wasserstoffperoxid-Synthese durch das Enzym Glucose-Oxidase, die hohe Osmolarität und das saure Milieu des Honigs spielen hierfür eine wesentliche Rolle [37]. In mehreren Studien wurde dokumentiert, dass sich Honig bei der Wundbehandlung von Ulcera, Verbrennungen und chronischen Wunden im Vergleich zu herkömmlichen Wundverbänden als deutlich effizienter erweist durch Reduktion der Wundheilungszeit. Dies beschreibt unter anderem eine in Pakistan durchgeführte Studie [38]. Die Behandlung von leichten bis mittelschweren oberflächlichen Brandwunden und Verbrennungen zweiten Grades wurde mit einem handelsüblichen Naturhonig und im Vergleich dazu mit Silber-Sulfadiazin durchgeführt. Die mit Honig versorgten Wunden heilten im Durchschnitt um zwei Tage schneller aus. Aufgrund der wissenschaftlichen Ergebnisse hat sich Honig als nebenwirkungsarme Zusatzbehandlung in der Wundtherapie wieder bewährt. Die klinische Anwendung von nicht-sterilisierten Honigsorten ist deshalb nicht verbreitet, da man Verunreinigungen mit sporenbildenden Keimen nicht ausschließen kann, obwohl die Beschaffenheit des Honigs und seine antibakteriellen Inhaltsstoffe dies sehr unwahrscheinlich machen. Es liegen etliche Ergebnisse von internationalen Studien [38; 39] zur Wirksamkeit von für die klinische Anwendung sterilisierten Honigsorten (in erster Linie Manuka- oder

Tualang-Honig) als Heilmittel vor. Bis jetzt gab es jedoch keine in-vitro Testungen, wo naturbelassener, österreichischer Honig hinsichtlich seiner antiseptischen Wirkung untersucht wurde.

In dieser Studie überzeugten alle drei Honigsorten mit ihrer antiseptischen Wirkung. Die größte Hemmzone um den Testring mit naturbelassenem Blütenhonig ist wohl auf seinen üblicherweise saureren pH-Wert zurückzuführen (laut Österreichischem Imkerbund pH-Sollwert 3,5 – 4,5 bei Blüten- und pH 4,0 – 5,4 bei Waldhonig). Eine andere Ursache für die unterschiedliche Hemmaktivität können jedoch auch die nicht exakt übereinstimmenden, aufgetragenen Mengen darstellen. Um die genauen Wirkunterschiede zu testen sind weitere exaktere Testversuche notwendig. Dies wurde im folgenden Experiment umgesetzt, indem die Mengen der Honigproben exakt abgewogen und so aufeinander abgestimmt wurden. In zukünftigen Laborversuchen wäre außerdem von großem Interesse Unterschiede in den pflanzlichen Inhaltsstoffen genauer zu untersuchen, um hier exaktere Aussagen treffen zu können.

Die Vielfältigkeit der Versuchsmethoden dieses zweiten Laborversuchs erlaubt es, weitere Rückschlüsse über die Kinetik der Verbandsmaterialien ziehen zu können als im ersten Experiment zuvor. Für den klinischen Alltag können dadurch neue Anregungen zur antiseptischen Wundbehandlung gewonnen werden. Man muss jedoch bedenken, dass es sich um eine Studie mit reinem in-vitro-Charakter handelt und die Ergebnisse mit klinischen Daten verglichen werden müssen, um daraus eine Relevanz für den klinischen Alltag ableiten zu können.

3.1.3 Experiment 3

3.1.3.1 Material und Methoden

Verwendete Medien

Bei diesem Laborversuch wurde ein gewöhnlicher Mueller-Hinton-Agar (MHA) verwendet.

Verwendete Keime

Für den dritten Testversuch dieser Studie wurde ein hauseigener Staphylococcus aureus verwendet. Hierbei handelt es sich um keinen toxinbildenden Stamm.

Testmaterialien

Bei diesem Laborversuch wurden zwei verschiedene silberhaltige Verbandsmaterialien und drei unterschiedliche Honigsorten verwendet:

Silberhaltige Verbände:

ACTICOAT Silcryst®

MEPILEX Ag®

Honigsorten:

Medihoney®

Naturbelassener österreichischer Waldhonig

Naturbelassener österreichischer Blütencremehonig

Methoden

Eine Übernachtkultur von Staph.aureus wurde angelegt und für 24 Stunden bei 36°C inkubiert.

Mit einem sterilen Wattestäbchen wurden von der Staph.aureus-Kultur einige Kolonien entnommen und in halbisotone Kochsalzlösung eingerührt. Der Trübungsgrad der Suspension wurde entsprechend dem McFarland-Standard von 0,5 (entspricht einer Keimzahl von 10^7 cfu/ml) eingestellt. Davon ausgehend wurden Bakteriensuspensionen in ansteigenden Verdünnungen 10^{-1} (Keimzahl

10^6), 10^{-2} (KZ 10^5) und 10^{-3} (KZ 10^4) hergestellt. Für den Versuch wurde ausschließlich die Bakteriensuspension mit 10^4 cfu/ml verwendet. Ausgehend von dieser Keimsuspension wurde jeweils ein Volumen von 0,5ml auf die sterilen Agarplatten ausgestrichen.

Es wurden 8 Aqua- und 8 0,45% NaCl-Lösungen mit einem Volumen von jeweils 12ml vorbereitet. Die Verbandsmaterialien wurden hingegen in unterschiedlichen Größen (0,5x1cm, 0,5x2cm, 0,5x4cm, 0,5x8cm) mittels einer sterilen Schere in steriler Umgebung zugeschnitten. Diese Verbandsteile wurden in die bereitgestellten Lösungen eingelegt und wie aus Tabelle 8 ersichtlich beschriftet.

Tabelle 8 Exp.3 Bezeichnung Silberlösungen à 12 ml

Bezeichnung	Material	Größe in cm²	Lösung
Act .5 L1	Acticoat	0,5	Aqua bidest
Act 1 L1	Acticoat	1	Aqua bidest
Act 2 L1	Acticoat	2	Aqua bidest
Act 4 L1	Acticoat	4	Aqua bidest
Act .5 L2	Acticoat	0,5	0,45% NaCl
Act 1 L2	Acticoat	1	0,45% NaCl
Act 2 L2	Acticoat	2	0,45% NaCl
Act 4 L2	Acticoat	4	0,45% NaCl
Mep .5 L1	Mepilex Ag	0,5	Aqua bidest
Mep 1 L1	Mepilex Ag	1	Aqua bidest
Mep 2 L1	Mepilex Ag	2	Aqua bidest
Mep 4 L1	Mepilex Ag	4	Aqua bidest
Mep .5 L2	Mepilex Ag	0,5	0,45% NaCl
Mep 1 L2	Mepilex Ag	1	0,45% NaCl
Mep 2 L2	Mepilex Ag	2	0,45% NaCl
Mep 4 L2	Mepilex Ag	4	0,45% NaCl

Erläuterung: L1 ... Aqua bidest; L2 ... 0,45% NaCl

Variiert wurden also lediglich die Größen an Verbandsmaterial, das Volumen der Lösungen wurde konstant gehalten. Act.5 L1/L2 bzw. Mep.5 L1/L2 stellen die Lösungen mit der geringsten Fläche an Testmaterial in einem Volumen von 12ml Lösung dar. In Relation dazu bezeichnen Act4 L1/L2 bzw. Mep4 L1/L2 die größte Fläche an Verbandsmaterial bei gleichem Volumen der Lösung (12 ml). Bei einer Tunkzeit von 24 Stunden sollte eine gewisse Menge an Silber aus den getesteten Materialien gelöst werden. Um eine gute Diffusion von Silber zu ermöglichen,

wurden die angesetzten Lösungen über 24 Stunden auf einer Schüttelplatte bei Raumtemperatur gelagert (siehe Abb.11).



Abbildung 11 Exp.3 Silberproben auf Schüttelplatte

Nach 24 Stunden wurden diese Silberlösungen in, auf der beimpften MH-Platte liegende, sterile Plastikringe mit Außenranddurchmesser von 16,5mm pipettiert (Menge: 50 μ l). Als Positivkontrolle diente für diesen Versuch Octenisept®. Als Negativkontrolle wurde halbisotone Kochsalzlösung verwendet. Parallel zu diesem Laborversuch wurden die Silberlösungen nach 24 Stunden Tunkzeit zum Institut für Analytische Chemie der Karl-Franzens-Universität Graz gebracht, wo die Konzentrationen an Silber quantitativ bestimmt wurden.

Der Versuch mit den Honigproben entspricht in der Durchführung der Variante 5 des zweiten Laborversuchs, wurde allerdings mit exakter übereinstimmenden Mengen wiederholt. Nach Verflüssigung der Honigproben bei 36°C wurden 0,2 Gramm der jeweiligen Honigsorte in sterile Kunststoffringe mit Außendurchmesser von 15mm aufgebracht.

Inkubation

Die Inkubation erfolgte im Brutschrank bei 36°C in einer feuchten Kammer, um einen ähnlichen Hydrationsgrad wie in einem Wundmilieu zu erreichen. Nach 24 Stunden Inkubation wurden die Platten aus dem Brutschrank genommen und auf Zeichen einer Bakterienhemmung inspiziert.

Messung der Inhibitionszonen

Um die verwendeten Kunststoffringe wurden gegebenenfalls die Durchmesser der Hemmhöfe manuell vermessen und inklusive dem Ringaußendurchmesser von 15 bzw. 16,5 mm in die Tabellen eingetragen.

3.1.3.2 Ergebnisse

Laborteil

Die folgenden Abbildungen sollen einen Überblick über die Ergebnisse des dritten Laborversuches nach 24 Stunden Inkubation in der feuchten Kammer geben.

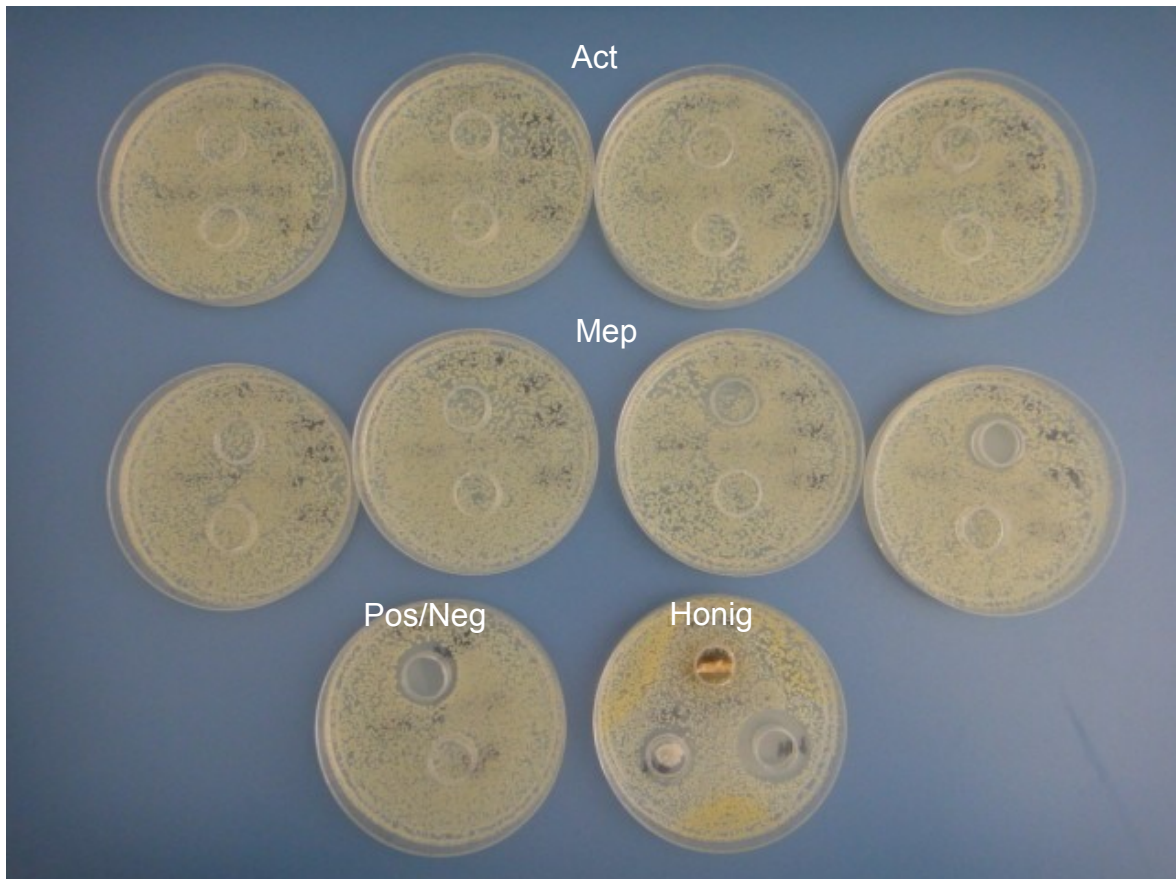


Abbildung 12 Exp.3 Übersicht Ergebnisse

Erläuterung:

oben: Acticoat®-Reihe, von links-rechts: .5, 1, 2, 4 cm²; Ring oben: Aqua, Ring unten: 0,45%NaCl
mittig: Mepilex Ag®-Reihe, von links-rechts: .5, 1, 2, 4 cm²; Ring oben: Aqua, Ring unten: 0,45%NaCl
unten: links: Positiv- und Negativ-Kontrolle; rechts: Honigproben

Die Gültigkeit der Ergebnisse dieses Laborversuchs wurde durch die Positiv- bzw. Negativkontrolle bestätigt. Die Positivkontrolle mit Octenisept® hemmte wie erwartet die Staph.aureus-Kolonien mit einem Hemmhofdurchmesser von 22mm (bei einem Ringaußenranddurchmesser von 16,5mm). Die Negativkontrolle mit halbisotoner Kochsalzlösung zeigte wie zu erwarten war uneingeschränktes Wachstum des Keimes. Die Hemmung des Wachstums von Staph.aureus durch die unterschiedlich konzentrierten Silberlösungen war sehr variabel ausgeprägt.



Abbildung 13 Exp.3 Ergebnisse Acticoat® Reihe

Bei Betrachtung der Acticoat®-Reihe war weder bei der Lösung mit der geringsten Fläche an Verbandsmaterial (Act5 L1/L2) noch bei der Lösung mit der höchsten Materialmenge (Act4 L1/L2) eine signifikante Hemmwirkung zu erkennen. Es konnte auch kein Unterschied zwischen dem in Aqua und dem in halbisotoner Kochsalzlösung getunkten nanokristallinen Silberverband festgestellt werden (siehe Abb.13).

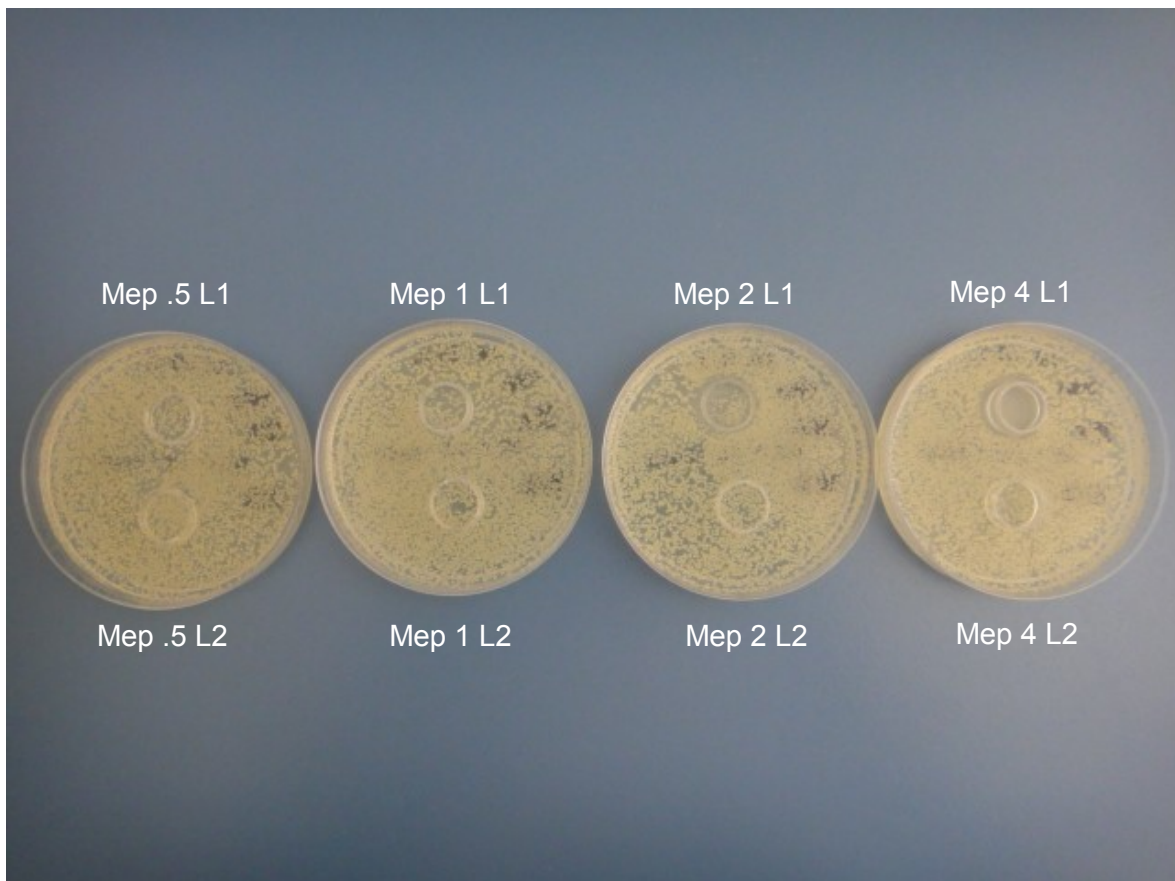


Abbildung 14 Exp.3 Ergebnisse Mepilex Ag® Reihe

Auch die in halbisotoner Kochsalzlösung gelösten Mepilex Ag®-Proben zeigten keine signifikante Hemmwirkung gegenüber Staph.aureus. Bei der Mepilex Ag®-Reihe des in Aqua gelösten Silberverbandes war mit ansteigender Fläche an Verbandsmaterial eine zunehmende Hemmung zu erkennen. Bei der höchst konzentrierten Lösung (Mep4 L1) bildete sich ein sauberer, keimfreier Hemmhof mit einem Durchmesser von 21mm (bei einem Ringaußenranddurchmesser von 16,5 mm) aus. Bei allen anderen Konzentrationen war mit ansteigender Verbandoberfläche eine zunehmende, aber dennoch nur diskrete Hemmwirkung zu erkennen. Diese Hemmzonen wurden innerhalb der ersten 24 Stunden jedoch von Bakterienkolonien besiedelt (siehe Abb.14).

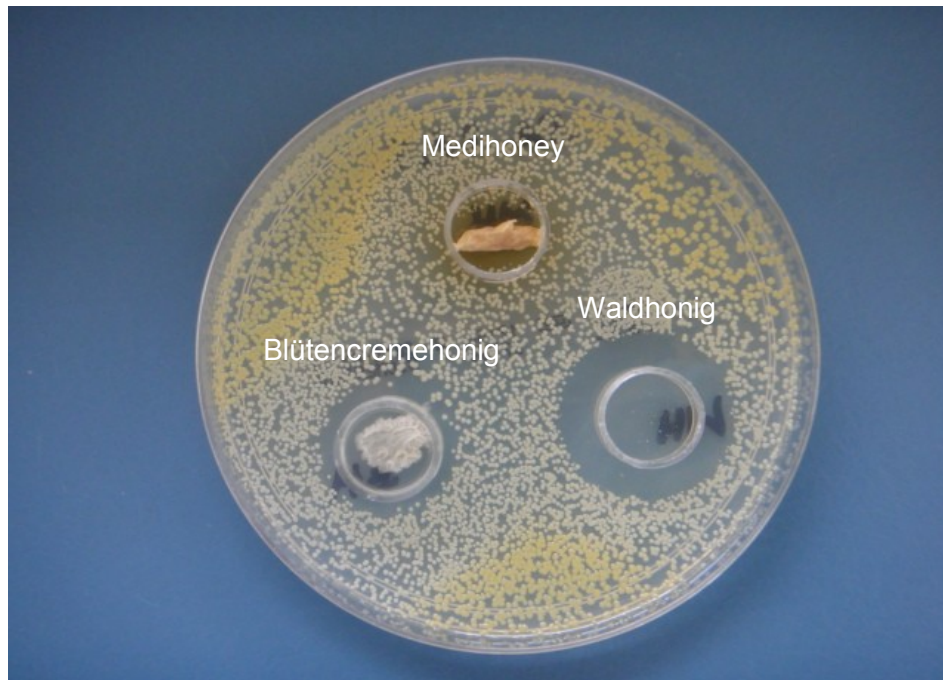


Abbildung 15 Exp.3 Ergebnisse Honigproben

Die getesteten Honigsorten zeigten in-vitro eine ausgeprägte antibakterielle Wirkung gegenüber Staph.aureus (siehe Abb.15). Jedoch zeigten sich Unterschiede im Ausmaß der Hemmwirkung. Die hierbei verwendeten Ringe hatten einen Außenranddurchmesser von 15 mm.

Medihoney® zeigte den kleinsten Hemmhof mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 13mm. Die Hemmwirkung blieb also auf die Ringinnenfläche beschränkt. Waldhonig zeigte die größte Hemmwirkung mit einem Hemmhof von 25mm Durchmesser. Blütencremehonig hemmte die Staph.aureus-Kolonien in einem Umkreis von 20mm. In dieser Hemmzone war ein Luftkeim eingewachsen.

Silberprobenbestimmung

Bei Betrachtung der Testlösungen mit den Silberverbänden mit freiem Auge war nach 24 Stunden Tunkzeit bei den meisten Lösungen keine Veränderung hinsichtlich Farbe und Trübungsgrad festzustellen. Einzig und allein bei in Aqua getunktem Acticoat® kam es zu einer bernsteinfarbenen Verfärbung (siehe Abb. 16). Der bräunliche Niederschlag nahm mit zunehmender Fläche an Verbandsmaterial an Intensität zu.

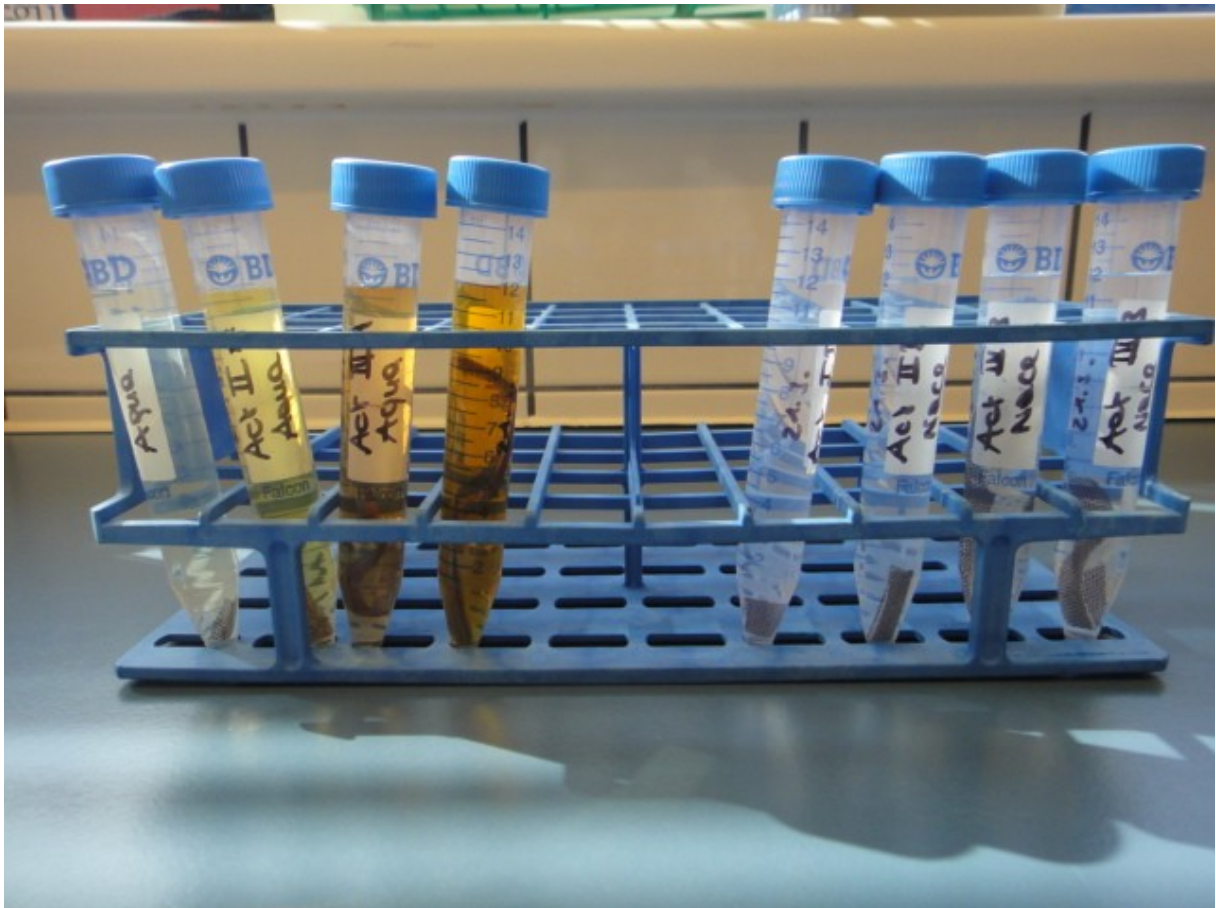


Abbildung 16 Exp.3 Acticoat®-Silberlösungen nach 24h Tunkzeit

Am Institut für Analytische Chemie der Karl-Franzens-Universität Graz wurde die Bestimmung der Silberkonzentration der Lösungen nach 24 Stunden Tunkzeit mittels ICPMS (Inductively coupled plasma mass spectrometry mit einer AGILENT 7500ce) durchgeführt. Einerseits wurde die Menge an gelöstem Silber direkt gemessen, andererseits nach Filtration zur Bestimmung der Menge an freiem Silber. Bei den hierfür verwendeten Filtern handelte es sich um Spritzenvorsatzfilter der Fa. Markus Bruckner in Linz. Diese Filter haben einen Durchmesser von 25 mm und bestehen aus einer Membran aus Nylon mit einer Porenweite von 0.2 μm . Die Silberkonzentration wurde in $\mu\text{g/l}$ angegeben. Bei den Ergebnissen ist die Signifikanz nicht berücksichtigt.

Nach 24 Stunden Tunkzeit konnten beträchtliche Silberkonzentrationen gemessen werden (siehe Tab.9).

Tabelle 9 Exp.3 Ergebnisse Silberbestimmung nach 24h Tunkzeit

Bezeichnung	Direkt [$\mu\text{g/l}$]	Filtriert [$\mu\text{g/l}$]
Act .5 L1	1,53E+04	8,43E+03
Act 1 L1	1,73E+04	1,38E+04
Act 2 L1	4,38E+04	2,95E+04
Act 4 L1	8,89E+04	6,39E+04
Act .5 L2	5,61E+02	3,95E+02
Act 1 L2	5,68E+02	3,21E+02
Act 2 L2	5,21E+02	5,08E+02
Act 4 L2	6,36E+02	5,40E+02
Mep .5 L1	4,91E+04	4,58E+04
Mep 1 L1	8,61E+04	8,23E+04
Mep 2 L1	1,79E+05	1,73E+05
Mep 4 L1	3,65E+05	3,31E+05
Mep .5 L2	9,26E+02	4,87E+02
Mep 1 L2	1,41E+03	4,51E+02
Mep 2 L2	1,02E+03	4,53E+02
Mep 4 L2	1,63E+03	4,23E+02

Erläuterung: L1 ... Aqua bidest; L2 ... 0,45% NaCl (siehe Tab.8)

Die Konzentrationen an gelöstem Silber nahmen mit zunehmender Verbandgröße bis auf wenige Ausnahmen kontinuierlich zu. Bei Betrachtung der Tabelle ist ersichtlich, dass bei beiden getesteten Materialien eine deutliche Differenz zwischen der gelösten Gesamtsilbermenge in Aqua und derjenigen in halbistoner Kochsalzlösung zu erkennen war. Die Gesamtsilberkonzentration war jeweils in der Aqualösung um ein zig-faches höher als beim in 0,45% Natriumchlorid getunkten Verband. Bei Acticoat® wurde im Vergleich zur Silberlösung mit halbistoner Kochsalzlösung in Aqua die 27fache-, bei Mepilex Ag® in Aqua sogar die 53fache-Menge an Gesamtsilber bestimmt. Wie erwartet waren die Messwerte für das gelöste Silber nach Filtration niedriger als bei der direkten Messung. Jedoch geht aus der Tabelle hervor, dass die Differenz zwischen den direkten und den Messwerten nach Filtration je nach Verbandsmaterial unterschiedlich ausgeprägt war. So war der Unterschied bei in Aqua getunktem Mepilex Ag®

geringer als im Vergleich bei in Aqua getunktem Acticoat®. Die Differenz in den Gesamtsilberkonzentrationen in halbisotoner Kochsalzlösung ist dieser Beobachtung genau konträr. Mepilex Ag® weist hierbei die quantitativ größere Differenz auf als Acticoat®.

3.1.3.3 Diskussion

Wie schon bei den vorigen Laborversuchen stellten die Honigproben ihre antimikrobielle Wirkung in-vitro unter Beweis. Die Verteilung der Wirkstärke war allerdings mit den Ergebnissen des zweiten Laborversuches nicht kongruent. Bei diesem Versuch wurden die aufgetragenen Mengen exakter abgestimmt, was einen ursächlichen Faktor für die vorliegenden von den Resultaten des zweiten Laborteils abweichenden Ergebnisse darstellen könnte. Medihoney® zeigte eine ausgeprägte Hemmwirkung, die allerdings auf die Fläche innerhalb des Ringes beschränkt blieb. Dies könnte auf die feste, kristalline Eigenschaft des Medihoney® zurückzuführen sein. Im Gegensatz zu den anderen Honigproben verflüssigte sich Medihoney® bei einer Temperatur von 36°C nicht. Eine flächenhafte Verteilung, wie sie beim Wald- oder Blütencremehonig der Fall war, war dadurch nicht möglich. Naturbelassener Waldhonig zeigte bei diesem Versuch die stärkste Hemmwirkung. Unterschiede in der inhaltlichen Zusammensetzung, speziell den unterschiedlichen pflanzlichen Inhaltsstoffen könnten diese Wirkung erklären. Zu beachten ist allerdings auch der Aspekt, dass Blütencremehonig eine gute Hemmwirkung zeigte, der Hemmhof jedoch von einem Luftkeim besiedelt wurde, was einen Störfaktor darstellen und die Ergebnisse verfälschen kann. Diese Beobachtung könnte ein Hinweis auf einen Verlust der antimikrobiellen Kapazität des Honigs bereits innerhalb der ersten 24h Stunden, sofern in so geringen Mengen aufgetragen, sein. Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die hemmende Wirkung von Honig auf Staph.aureus zwar durch diesen Laborversuch wiederholt bestätigt wurde, die Unterschiede in der antimikrobiellen Wirksamkeit der verschiedenen Honigsorten jedoch nicht signifikant sind. Der Versuch müsste unter gleichen Bedingungen wiederholt werden, um eine genauere Aussage treffen zu können. Weitere Untersuchungen bezüglich Wirkdauer und Wirkspektrum der Honigproben wären wünschenswert, um Wissen über die optimale therapeutische Anwendung und Dosierung der Honigproben im klinischen Alltag zu erlangen.

Bei der labortechnischen Aufarbeitung der Silberlösungen konnten interessante Ergebnisse gewonnen werden. Eine Hemmung der Staph.aureus-Kolonien war bei der Mehrzahl der Testplatten nur diskret oder gar nicht ausgeprägt. Die meisten Silberkonzentrationen dürften zu gering für einen sichtbaren bakterienhemmenden Effekt gewesen sein. Die nach 24 Stunden beobachtete Verfärbung der Acticoat®-Aqua-Lösungen, die auf die Lichtexposition der Silberlösungen zurückzuführen sein wird, stand mit der Menge an gelöstem Silber sowohl bei Einbeziehung der Messergebnisse des analytischen Labors, als auch bei Betrachtung der antimikrobiellen Potenz gegenüber Staph.aureus nicht in unmittelbarem Zusammenhang. Diese Verfärbung wird auch häufig im betreffenden Wundareal nach Abnahme des Acticoat®-Verbands beobachtet. Mepilex Ag® in Aqua getunkt zeigte als einzige Lösung gute antibakterielle Wirkung. Diese in-vitro Beobachtung stimmt mit den Messwerten der Analytischen Chemie überein. Bereits die kleinste Fläche an Verbandsmaterial (Mep.5 L1) wies vergleichbar hohe Messwerte für Silber auf wie Acticoat® mit der 4-fachen Fläche (Act2 L1). Die Mep4 L1 - Lösung wies mit einer Silberkonzentration von $3,65 \cdot 10^5 \mu\text{g/l}$ bei der direkten Silberbestimmung den höchsten Messwert auf. Daraus ist abzuleiten, dass eine signifikante antibakterielle Potenz von Silber einer Mindestkonzentration von nahezu $10^5 \mu\text{g/l}$ in vitro bedarf. Die Ergebnisse von Mikrobiologie- und Chemielabor scheinen also gut zu korrelieren. Daher sind mögliche Fehler bei der Probenentnahme, wie zum Beispiel der mögliche Kontakt mit Verbandsmaterial bei der Entnahme von Lösung, als unwahrscheinlich anzusehen. Auch die Aufbereitung und Lagerung erfolgte unter den gleichen Konditionen wie die anderen getesteten Lösungen. Vielmehr dürften die Kinetik der Wirkstoffe und die Beschaffenheit der Verbandsmaterialien hierbei eine große Rolle spielen. Das Silber dürfte durch Aqua bidest aus dem schwammartigen Mepilex Ag® Verband besser oder zumindest rascher gelöst werden als bei Acticoat® mit den Silcryst Nanokristallen.

Interessant war zu beobachten, dass bei den Lösungen auf Kochsalzbasis schon bei der direkten Messung geringere Messwerte für freies Silber gewonnen wurden als in Aqua. Dieser Aspekt ist vermutlich auf die Bildung eines Löslichkeitsproduktes in Form von Silberchlorid (AgCl) zurückzuführen. Dies dürfte eine Erklärung dafür sein, dass die Hersteller stets Aqua bidest zur Befeuchtung

des Verbands vor Aufbringung auf die Wunde empfehlen. Durch die Filtration wurden Moleküle größer als $0,2\mu\text{m}$ zurückgehalten. Viele Silberverbindungen blieben dadurch zurück, wodurch die niedrigeren Messwerte zustande kamen. Hier tut sich jedoch die Frage auf, warum sich die Silbermenge nach dem Filtern beim Acticoat® in Aqua deutlicher reduzierte als beim Mepilex Ag® in Aqua. Während sich bei Mepilex Ag® die direkten Messwerte und die Messwerte nach Filtration nur unbeachtlich unterscheiden, lassen sich bei Acticoat® signifikante Unterschiede erkennen. Möglicherweise hat die nanokristalline Beschaffenheit von Acticoat® einen Einfluss auf die höhere Reaktionsfreudigkeit und Bildung von Silberverbindungen, die dann durch den Filter zurückgehalten werden. Um relevantere Aussagen treffen zu können, müsste man die Kinetik der Verbandsmaterialien genauer studieren und weitere auf die Testmaterialien abgestimmte Untersuchungen in die Wege leiten. Mit dieser Versuchsmethode sollten lediglich die Verbandsmaterialien hinsichtlich ihrer chemischen und physikalischen Eigenschaften genauer untersucht und Kenntnisse über den Zusammenhang der Quantität an Silber und seiner antibakteriellen Potenz gewonnen werden. Die klinische Aussagekraft ist beschränkt, da die Verbandsmaterialien laut Anweisungen der Hersteller vor Verwendung als Wundauflage zwar mit sterilem Aqua bidest befeuchtet werden müssen, jedoch der Wundverband selbst und nicht die Lösung auf die Wunde aufgebracht wird. Diese Testmethode sollte einen Ansatz für zukünftige Laborversuche zur Kenntniserweiterung über die Wirkung von Silber im Rahmen der topischen Wundbehandlung bieten.

Die hier angewandte Methode der labortechnischen Testung von getunkten Verbandsmaterialien in Korrelation mit einer analytischen Silberbestimmung wurde in dieser Durchführung bisher nicht beschrieben. Während Erstellung dieser Diplomarbeit wurde in der Zeitschrift Burns jedoch eine italienische Studie von Rigo et al. [40] zur chemischen Analyse der Menge und Art der Silberfreisetzung aus Verbandsmaterialien, die bei Verbrennungen routinemäßig verwendet werden, publiziert. Im Rahmen dieser Studie wurden die Silberfreisetzungsprofile von vier unterschiedlichen Wundauflagen, unter anderem Acticoat® und Mepilex Ag® analysiert. Neben der quantitativen Silberbestimmung wurde zusätzlich auch die Struktur der Verbände vor und nach der Silberfreisetzung mittels einem speziellen

Spektroskop bildlich festgehalten. Ein Vergleich der Ergebnisse dieser Studie mit den Resultaten unseres Laborversuchs ist hoch spannend. Mepilex Ag® präsentierte sich in der italienischen Studie als der Verband mit der höchsten Silberfreisetzungsrate pro Zeiteinheit. Dies stimmt mit unseren Beobachtungen überein, da die Lösung mit Mepilex Ag® nach 24 Stunden Inkubation die größte Menge an Gesamtsilber aufwies. Rigo et al. ließen die Verbände so lange in den Testlösungen, wie sie laut Hersteller zur Anwendung als Wundverband empfohlen werden. Bei Mepilex Ag® waren dies 7 Tage, bei Acticoat® 3 Tage Tunkzeit. Nach Ablauf der Versuchszeit überzeugte schließlich Acticoat® mit der höchsten Konzentration an Gesamtsilber in der Lösung. Wir schränkten die Versuchszeit auf 24 Stunden ein und konnten so diese Beobachtung nicht machen.

Im Rahmen der italienischen Studie wurden die Verbände in Aqua, in physiologischer Kochsalzlösung und in humanem Serumersatz getunkt. Ein ähnliches Ergebnis gewann die italienische Forschergruppe bei Vergleich der in physiologischer bzw. in unserem Fall in halbisotoner Kochsalzlösung gemessenen Silbermengen mit den anderen Testlösungen. Bei Acticoat® und Mepilex Ag® war die Konzentration an Gesamtsilber der Lösung im Vergleich zu Aqua reduziert, was wie schon erwähnt auf die Bildung der unlöslichen Silberchloridverbindung zurückzuführen ist. Bei Auswertung der Strukturanalyse konnten die Kristalle an der Oberfläche der Verbandsmaterialien dargestellt werden. Diese bildeten eine Barriere und verhinderten so den Transport weiterer Silberionen in die Lösung und „deaktivierten“ so das Verbandmaterial [40]. Diese Ergebnisse unterstreichen nochmals die Empfehlung der Hersteller, dass die Verwendung von physiologischer oder halbisotoner Kochsalzlösung zur Befeuchtung der Wundmaterialien vor Anwendung vermieden werden sollte.

In Kenntnis unserer Beobachtungen und der Ergebnisse der aktuellen italienischen Studie wären weitere Untersuchungen zur Optimierung und besseren Kontrolle der Silberfreisetzung von silberhaltigen Wundauflagen, die im Rahmen der Versorgung von Brandwunden häufig eingesetzt werden, wünschenswert.

3.2 Falldokumentationen der Universitätskinderklinik Graz

Seit einigen Jahren ist europaweit ein Rückgang der stationär behandelten Verbrennungsverletzungen zu beobachten. Dies ist auf eine sorgfältige Aufklärungsarbeit und Bewusstseinschaffung für Gefahren im Alltag, sowie auf Verbesserungen des Lebensstandards zurückzuführen. Vorwiegend sind kleine Kinder von Verbrennungen betroffen. Eine professionelle Erstversorgung ist von grundlegender Bedeutung, da Brandverletzungen mit lebensbedrohlichen Komplikationen, unter anderem mit der Entwicklung eines TSS einhergehen können.

Seit 1987 befindet sich an der Universitätsklinik Graz das erste und bis heute einzige deklarierte österreichische Zentrum für die Behandlung schwerbrandverletzter Kinder und Jugendlicher. Zudem hat sich diese Einheit als kompetentes Zentrum für exfoliative Hauterkrankungen, wie das "Staphylococcal scalded skin syndrome" (SSS) [41] oder die toxische epidermale Nekrolyse (TEN) [42] etabliert. Diese einzigartige Brandverletzteneinheit ist technisch auf dem neuesten Stand und besteht aus einem Erstversorgungs- und Ambulanzraum, einem Eingriffsraum, einer Intensivpflegeeinheit und einem weiteren Zimmer für Patienten mit leichteren Verbrennungen und zur Nachbehandlung. Für die Nachbetreuung steht den brandverletzten Patienten auch eine Nachsorgeambulanz zur Verfügung. Das Betreuungsteam besteht aus erfahrenen Verbrennungsspezialisten aus den verschiedensten Fachbereichen. Die enge Zusammenarbeit von Kinderintensivmedizinern, Plastischen Chirurgen, Anästhesisten, dem Pflegepersonal, Physiotherapeuten und Psychologen ist hier von grundlegender Bedeutung. Dieses dem internationalen Standard entsprechende Brandverletztzentrum ermöglicht somit eine professionelle Akutversorgung und bestmögliche Betreuung von jungen Brandopfern. Das Einzugsgebiet umfasst das südliche Burgenland, die Steiermark und Kärnten.

Dem internationalen Trend folgend ist auch an der Kinderklinik Graz in den letzten Jahren ein signifikanter Rückgang hinsichtlich der Anzahl an stationär aufgenommenen brandverletzten Kindern zu beobachten. Laut internen Daten der BVE wurden um etwa 50% weniger Brandopfer mit Verbrennungen unterschiedlichen Grades an der Grazer Kinderklinik stationär behandelt verglichen mit Daten aus den 80er und Anfang der 90er Jahre. Jedes Jahr werden

in diesem Brandverletzententrum 40-60 Patienten stationär betreut und weitere 200 ambulante Versorgungen von leichteren Brandverletzungen durchgeführt. In diesen Zahlen sind sowohl die akuten Wundversorgungen als auch Narbenrekonstruktionen mit eingeschlossen. In erster Linie handelt es sich bei den Patienten um Kleinkinder zwischen dem ersten und vierten Lebensjahr. Mehr als Dreiviertel aller Brandopfer wurden mit Verbrühungen durch heiße Flüssigkeiten auf die Brandverletzteneinheit gebracht.

3.2.1 Methoden

Für die klinische Aufarbeitung wurden interne Patientendaten in anonymisierter Form von der BVE des Universitätsklinikum Graz zur Verfügung gestellt. Diese umfassen einen Beobachtungszeitraum von vier Jahren (2008 bis 2011) und wurden retrospektiv ausgewertet.

Im folgenden Abschnitt werden nun die 15 Fälle mit gesicherter bzw. fraglicher TSS-Diagnose an der Grazer BVE, die in den Jahren 2008 bis 2011 sowohl stationär als auch ambulant behandelt wurden, genau dargestellt und analysiert. Diese werden je nach Ausprägung der klinischen Symptomatik in drei Kategorien eingeteilt. Bei 10 der beschriebenen Patienten wurden die Brandwunden durch Verbrühungen verursacht. Vier Kinder wurden mit Kontaktverbrennungen und ein Kind mit einer Verbrennung durch eine offene Flamme auf die Grazer BVE gebracht. Zur Diagnostik des TSS wurden die vereinfachten Diagnosekriterien nach Cole und Shakespeare [21] herangezogen, da diese auf Kleinkinder abgestimmt sind und es sich bei den erläuterten Patienten fast ausschließlich um Kleinkinder handelt. 14 der 15 dokumentierten Patienten waren zum Zeitpunkt der Erstaufnahme und Betreuung zwischen 12 und 33 Monaten, das heißt zwischen 1 und 3 Jahren alt. Ein Patient mit nachgewiesenem TSS-Toxin war bereits 6 Jahre alt.

Es gilt drei verschiedene Kategorien zu unterscheiden:

- Gesicherte TSS-Fälle
- TSS-Verdachtsfälle mit unvollständiger Klinik
- TSS-Verdachtsfälle ohne Klinik

Die Charakteristika der einzelnen Patientengruppen wurden in Tabellen übersichtlich dargestellt und die relevanten Ergebnisse erläutert.

3.2.2 Ergebnisse

3.2.2.1 Gesicherte TSS-Fälle

Hierbei handelt es sich um fünf dokumentierte Fälle eines gesicherten TSS, da die diagnostischen Kriterien nach Cole & Shakespeare erfüllt wurden. Neben dem Toxinnachweis war eine typische TSS-Klinik vorliegend. Vier der insgesamt fünf Patienten waren männlichen Geschlechts. Die Kinder waren zwischen 14 und 21 Monaten alt. Das Durchschnittsalter dieser Patientengruppe lag also bei rund 18 Monaten. Bei einem Brandopfer handelte es sich um eine Kontaktverbrennung an der Handinnenfläche, die anderen vier Patienten wurden mit Brandwunden durch Verbrühung mit heißen Flüssigkeiten auf die Brandverletzteneinheit gebracht. Tabelle 10 zeigt die Lokalisation und das Ausmaß der Verbrennung, das im Wundabstrich nachgewiesene Bakterium und Toxin, den Zeitpunkt der Manifestation klinischer Symptome und das bei der Erstversorgung verwendete Verbandsmaterial. Des Weiteren wurde festgehalten, ob die Patienten ambulant oder stationär in Behandlung waren.

Tabelle 10 Gesicherte TSS-Fälle - Übersicht

	Bakterium	Toxin	Lokalisation	% KOF	Tag nach Trauma	Verband initial	
1 E.L.	Staph aureus +++	TSST neg	Schulter	15	2	Suprathel	stationär
2 P.Le.	Staph aureus +++	SEC	Hand links	1	4	Gazin trocken	ambulant
3 C.E.	Staph aureus ++	TSST, SEA	Vorfuß links	1,5	2	Omiderm	ambulant
4 E.T.	Staph aureus +++	TSST, SEA	Rücken	10	4	Suprathel	stationär
5 S.D.	Staph aureus ++	TSST	Schulter links	15	2	Suprathel	stationär

Wie aus Tab.10 ersichtlich wird, konnte in allen Wundabstrichen Staphylococcus aureus nachgewiesen werden. Mit Ausnahme von Patient 1 konnte bei allen Wundkulturen die Fähigkeit von Staph. aureus zur Toxinbildung bestätigt werden. Bei Patient 1 kam es nach einem negativen Ergebnis hinsichtlich des Vorliegens von TSST zu keiner weiteren Untersuchung auf andere mögliche Toxine. Neben

dem TSST wurde in einigen Fällen auch die Produktion von verschiedenen Staphylokokken-Enterotoxinen (SEA, SEC) nachgewiesen. Das Verbrennungsausmaß war zwischen 1 und 15% der Körperoberfläche (KOF) gegeben und lag im Mittel bei 8,5%. Zwei Patienten mit sehr kleinflächigen Verletzungen wurden ambulant versorgt. Die Patienten mit großflächigeren und tieferen Brandverletzungen wurden stationär aufgenommen und betreut. Initial wurde in drei Fällen die Brandwunde mit Suprathel® und in einem Fall mit Omiderm® versorgt. Im Fall der Kontaktverbrennung der Hand wurde die Wunde trocken belassen und mit sterilem Gazin® verbunden. Die Patienten präsentierten sich mit dem klinischen Vollbild eines TSS zwei bis vier Tage nach dem thermischen Trauma. Die Ausprägung der klinischen Symptomatik ist in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11 Gesicherte TSS-Fälle - Klinische Präsentation

	Temp. max [°C]	Exanthem	Irritabilität	GI Symptome	Lymphozyten/µl*	CRP max [mg/l]*	Schuppung
1 E.L.	>39	ja	ja	dünne Stühle, Inappetenz	2400	159	kA
2 P.Le.	39	ja	ja	Erbrechen	1287	82	kA
3 C.E.	39	ja	ja	dünne Stühle	1100	207	kA
4 E.T.	39,5	ja	ja	dünne Stühle	kA	51,3	kA
5 S.D.	40	ja	ja	dünne Stühle	487	168,1	ja

*Referenzwerte: Lympho 1000-4800/µl, CRP 0-5 mg/l; kA...keine Angaben

Alle fünf Patienten präsentierten sich mit Fieber $\geq 39^{\circ}\text{C}$, Irritabilität und zeigten ein Exanthem am Körper (siehe Abb.17). Die akute Schocksymptomatik war in unterschiedlicher Ausprägung vorliegend, wobei im Fall von Patient 1 laut Patientenakte sogar die Gabe von Katecholaminen notwendig war. Auch gastrointestinale Symptome wie Inappetenz, Erbrechen oder dünnflüssige Stühle waren in allen Fällen vorhanden. Die Zahl der Lymphozyten war charakteristischerweise deutlich reduziert und dem unteren Normbereich entsprechend. Patient 5 zeigte mit einer Lymphozytenzahl von unter 500/µl eine sehr ausgeprägte Lymphopenie. Die Leukozyten waren in den meisten Fällen leicht erhöht, jedoch größtenteils im für Kleinkinder definierten Normbereich zwischen

5 und 17000/ μ l vorzufinden. Die in allen Fällen vorliegende massive Erhöhung des C-reaktiven Proteins spiegelt die Schwere der systemischen Entzündungsreaktion wieder.



Abbildung 17 TSS-Exanthem

In einem Fall wurde die typischerweise erst verzögert ungefähr ein bis zwei Wochen nach Krankheitsbeginn auftretende Hautablösung an Fingern und Zehen beobachtet (Siehe Abb.18).



Abbildung 18 Desquamation an Fingerbeere nach TSS

Nach der klinischen Manifestation des TSS mit Fieber und anderen genannten Symptomen wurde bei allen Patienten unverzüglich der initiale Verband entfernt und durch Acticoat®, ein antiseptisches Verbandsmaterial mit Silberanteil, ersetzt. Eine systemische antibiotische Therapie mit Cefuroxim, einem Cephalosporin der

Gruppe 2, wurde ebenso eingeleitet. Bei Patient 5 wurde aufgrund der klinischen Situation zusammen mit einer Leukozytose und hohem CRP-Wert zusätzlich Clindamycin, ein Arzneistoff aus der Gruppe der Lincosamid-Antibiotika, verabreicht.

3.2.2.2 TSS-Verdachtsfälle mit unvollständiger Klinik

In diese Kategorie fallen ein männlicher Patient und eine weibliche Patientin im Alter von 12 und 18 Monaten. Es handelte sich um Verbrühungsverletzungen mit einem durchschnittlichen Verbrennungsausmaß von 6,5% der Körperoberfläche (siehe Tab.12). Ein Kind wurde bei Erstvorstellung sofort stationär aufgenommen. Das zweite Kind wurde erst ambulant versorgt und dann wegen Fieber wieder vorstellig. Man spricht von TSS-Verdachtsfällen, da die Toxinbildung zwar in beiden Fällen nachgewiesen werden konnte und es zum Auftreten von Fieber kam, jedoch blieben weitere spezifische klinische Symptome aus. Weder ein Exanthem, noch gastrointestinale Symptome waren gegenwärtig. In den Tabellen 12 und 13 sind die Charakteristika dieser TSS-Verdachtsfälle dargestellt.

Tabelle 12 TSS-Verdachtsfälle mit unvollständiger Klinik - Übersicht

	Bakterium	Toxin	Lokalisation	% KOF	Tag nach Trauma	Verband initial	
1 A.J.	Staph aureus +++	SEA	Thorax	8	2	Suprathel	stationär
2 P.E.	Staph aureus ++	SEC	Schulter links	5	3	Atrauman Ag	ambulant

Auch in dieser Gruppe waren im Wundabstrichmaterial Enterotoxin-bildende Staph.aureus-Keime präsent. Bei der Erstversorgung wurde in einem Fall Suprathel® verwendet. Die Brandwunde von Patient 2 wurde initial mit Atrauman Ag®, einer silberhaltigen Wundauflage, versorgt. Am Tag zwei beziehungsweise drei nach dem Trauma kam es zum Anstieg der Körpertemperatur über 39°C, jedoch traten keine weiteren Symptome auf (siehe Tab.13). Lediglich ein Anstieg des Entzündungsparameters CRP war bei beiden Patienten zu beobachten.

Tabelle 13 TSS-Verdachtsfälle mit unvollständiger Klinik - Klinische Präsentation

	Temp. max [°C]	Exanthem	Irritabilität	GI Symptome	Lymphozyten/μl*	CRP max [mg/l]*	Schuppung
1 A.J.	39	nein	kA	nein	kA	70	kA
2 P.E.	40	nein	kA	nein	kA	35	kA

*Referenzwerte: Lympho 1000-4800/μl, CRP 0-5 mg/l; kA...keine Angaben

In beiden Fällen wurde unverzüglich mit einer systemischen antibiotischen Therapie mit Cefuroxim begonnen, um ein Fortschreiten der Entzündungsreaktion zu unterbinden. Als Wundauflage wurde ab Erstmanifestation von Symptomen bei beiden Patienten Acticoat® verwendet.

3.2.2.3 TSS-Verdachtsfälle ohne Klinik

Bei diesen acht Kindern handelt es sich um sieben Jungen und ein Mädchen im Alter zwischen 12 und 72 Monaten. Das Durchschnittsalter dieser Gruppe liegt bei 28,5 Monaten, also entsprechend einem Alter von ungefähr 2,5 Jahren. Die Hälfte der Kinder wurde mit Verbrühungen ins Krankenhaus gebracht, drei wiesen Kontaktverbrennungen auf und ein Kind zeigte eine durch eine offene Flamme verursachte Verbrennungswunde. Bei der Routineanalyse der Wundabstriche wurde ein toxinbildender *Staphylococcus aureus* nachgewiesen, jedoch zeigte sich bis auf das Auftreten von Fieber bei drei der acht Patienten keinerlei klinische Symptomatik, die auf ein TSS hingedeutet hätte. Die klinisch relevanten Daten dieser acht Patienten wurden in einer Tabelle zusammengefasst. Tabelle 14 zeigt die im Labor bestimmten Toxine, das Verbrennungsausmaß, die Lokalisation der Verletzung, den initial verwendeten Verband und klinische Parameter, die in diesem Zusammenhang relevant bzw. auffällig waren. Weitere klinische Symptome waren bei keinem der Patienten vorhanden.

Tabelle 14 TSS-Verdachtsfälle ohne Klinik - Übersicht

	Bakterium	Toxin	Lokalisation	% KOF	Verband initial	Temp. max [°C]	CRP max [mg/l]*
1 P.L.	Staph aureus ++	SEC	Thorax	12	Acticoat	39,4	78
2 P.La.	Staph aureus +	TSST	Thorax	8	Acticoat	37,7	2
3 E.F.	Staph aureus +++	TSST	Abdomen	20	Acticoat Suprathel	39,5	126,9
4 G.S.	Staph aureus ++	TSST, SEA	Hand rechts	1	SSD	normal	kA
5 L.A.	Staph aureus +++	TSST, SEA	Entnahmestelle	8	AquacellAg Acticoat	37,5	4,3
6 S.J.	Staph aureus +++	SED	Hand rechts	1	SSD	normal	kA
7 I.L.	Staph aureus ++	TSST	Ohr links	15	Omiderm, Acticoat	39,3	56,7
8 K.L.	Staph aureus +	SEC	Kinn	1	Lebertran, Fettgaze	normal	1,6

* Referenzwert: CRP 0-5 mg/l; kA...keine Angaben; SSD...Silbersulfadiazin

Bei einem Verbrennungsausmaß von 1 bis 20 % der Körperoberfläche lag das Mittel dieser Gruppe bei 8,25% KOF. Neben dem TSST wurden auch in einigen Fällen verschiedene Staphylokokken-Enterotoxine (SEA, SEC, SED) im Labor nachgewiesen. Bei der Erstversorgung der Brandwunden wurden bis auf eine Ausnahme silberhaltige Verbandsmaterialien wie Acticoat® oder AquacellAg® beziehungsweise eine Silbersulfadiazin-Creme verwendet. In zwei Fällen wurden dazu andere Verbandsmaterialien (Omiderm®, Suprathel®) kombiniert. Bei Patient 8 wurde aufgrund der kleinen Verbrennungswunde Fettgaze zusammen mit Lebertran auf die Wunde aufgebracht. Bei den Patienten 4 und 6, bei denen initial mit Silbersulfadiazin-Creme verbunden wurde, wurde sekundär ein Acticoat®-Verband angelegt. Klinisch sind nur zwei Parameter zu nennen, die bei manchen Patienten Auffälligkeiten zeigten. Am Tag zwei bzw. drei nach dem Trauma präsentierten sich zwei der acht Patienten mit subfebriler Körpertemperatur. In den drei Fällen mit großflächigeren Verbrennungen mit einem Gesamtverbrennungsausmaß von mehr als 12% der Körperoberfläche kam es zum Auftreten von Fieber über 39°C. Diese zeigten auch einen Anstieg des C-reaktiven Proteins. Bei den restlichen Kindern war die Körpertemperatur im normothermen Bereich. Ein Auftreten weiterer klinischer Symptome blieb in allen

Fällen aus. Bei den Patienten 3 und 5, bei denen aufgrund des Verbrennungsausmaßes Spalthauttransplantationen notwendig waren, wurde perioperativ bis zwei Tage postoperativ eine antibiotische Prophylaxe mit Cefuroxim eingeleitet. Bei Patient 3 wurde zusätzlich perioperativ Teicoplanin®, eine Substanz aus der Gruppe der Glykopeptid-Antibiotika verabreicht. Aufgrund des Verbrennungsausmaßes und der klinischen Präsentation wurde auch Patient 7 mit Cefuroxim antibiotisch abgedeckt.

Bei weiteren sechs Patienten der Grazer BVE stand das TSS als Differentialdiagnose im Raum, jedoch konnte kein Toxin im Wundabstrich nachgewiesen werden.

3.2.3 Diskussion

Diese dokumentierten Fallberichte der BVE der Universitätskinderklinik Graz stimmen in vielen Aspekten mit international beobachteten TSS- und TSS-ähnlichen Fällen überein. White, Thornton und Young [13] veröffentlichten 2005 in der Zeitschrift *Burns* die Ergebnisse ihrer englischen Studie und beschrieben den typischen Patienten mit TSS. Dieser war im Durchschnitt zwei Jahre alt, hatte eine Verbrennung von weniger als 10% der Körperoberfläche und zeigte die klinischen Symptome typischerweise etwa zwei Tage nach dem Trauma. Auch bei den Grazer Fällen handelt es sich bis auf einen sechsjährigen Patienten nur um Kleinkinder zwischen dem 1. und 3. Lebensjahr. Noch nicht ausreichend vorhandene Antikörpertiter gegenüber den Staph. aureus – Stämmen dürften hier eine entscheidende Rolle spielen. Hierbei handelt es sich allerdings um eine Hypothese, da bei den Fällen der Grazer BVE die Anti-Toxin-Antikörper nicht bestimmt wurden. Der Mittelwert hinsichtlich des Verbrennungsausmaßes lag in allen Gruppen mit Durchschnittswerten zwischen 6,5% und 8,5% der Körperoberfläche deutlich unter der 10% Marke. Auch der Zeitpunkt der Erstmanifestation von klinischen Zeichen scheint allen gemeinsam zu sein. So traten bei den Fällen auf der Grazer Brandverletzteneinheit die ersten klinischen Symptome zwei bis vier Tage nach dem Trauma auf. Bei allen Patienten war ausgehend vom Wundabstrich die Kultivierung von einem toxinbildenden Staphylococcus aureus-Stamm möglich. Dieser grampositive Keim ist der mit der Entstehung eines TSS am häufigsten assoziierte Mikroorganismus. Neben dem TSST konnten in manchen Fällen auch die Enterotoxine A, C und D bestimmt

werden. Nur bei einem Patienten konnte kein Toxin nachgewiesen werden bzw. wurde nach negativem TSST-Befund keine weitere Untersuchung eingeleitet.

Interessant erscheint der Unterschied in der Geschlechterverteilung. Bei 80% der gesamt dokumentierten Fallberichte handelt es sich um männliche Patienten. Auch bei den gesicherten TSS-Fällen waren 80% (4 von 5) Jungen. Diese Dominanz des männlichen Geschlechts ist durch die geringe Fallzahl als statistisch nicht signifikant zu werten, jedoch wäre hier der Vergleich mit Daten anderer Brandverletzententren spannend.

Das TSS stellt eine ernste, jedoch selten auftretende Komplikation bei Kindern mit Verbrennungen dar. Im Zeitraum von vier Jahren präsentierten sich auf der Brandverletzteneinheit der Universitätskinderklinik Graz lediglich fünf brandverletzte Kinder mit der kompletten klinischen Symptomatik eines TSS. Diese Fallzahl spiegelt die geringe Inzidenz des TSS bei brandverletzten Kindern weltweit wieder, wobei regionale Schwankungen zu beobachten sind. Aber so selten diese Komplikation ist, umso schwerwiegender manifestiert sich das klinische Vollbild dieser Erkrankung. Diese fünf Patienten wiesen neben gastrointestinalen, dermatologischen und unspezifischen Allgemeinsymptomen ausgeprägte Laborveränderungen auf. So zeigten sich im Labor eine Lymphopenie und ein massiver Anstieg der Entzündungsparameter. Die maximalen Laborwerte für das C-reaktive Protein waren tendenziell bei den gesicherten TSS-Fällen im Vergleich zu den beiden anderen Patientengruppen deutlich höher und lagen im Durchschnitt bei 133,5 mg/l (Referenzwert: 0-5mg/l). Im Gegensatz dazu lagen die CRP-Mittelwerte bei den TSS-Verdachtsfällen mit unvollständiger Klinik bei 52,5 mg/l und bei den TSS-Verdachtsfällen ohne Klinik bei 44,9 mg/l. Auch erhöhte Werte anderer Entzündungsparameter wie Procalcitonin und Interleukin-6 ließen auf die Schwere der systemischen Reaktion rückschließen. Im Gegensatz dazu kam es zu keiner signifikanten Erhöhung von Leber- und Nierenenzymen, der Kreatinkinase oder von Gerinnungsparametern. Die spezifische, jedoch verzögert auftretende Desquamation der oberen Hautschichten an Fingern und Zehen konnte nur bei einem einzigen Patienten der Grazer Kinderklinik beobachtet werden. Da diese erst spät in der Rekonvaleszenzphase auftritt und meist nur gering ausgeprägt ist, wird sie auch leicht übersehen oder die Eltern kommen nach der überstandenen Erkrankung

nicht mehr zur vereinbarten Nachkontrolle. Es ist daher ungewiss, ob es auch bei weiteren Patienten zur Hautablösung kam, es jedoch nicht als solche erkannt wurde. Leider gibt es bei einigen wenigen Patienten keine Angaben bezüglich mancher klinischer Parameter und Laborwerte, was die Aussagekraft der Resultate dieser 15 dokumentierten Fälle deutlich einschränkt.

Den fünf Patienten, auf die alle Diagnosekriterien nach Cole und Shakespeare zutrafen, ist gemeinsam, dass bei der Erstversorgung der Brandwunden keinerlei silberhaltige oder antibiotische Wundverbände verwendet wurden. Stattdessen kamen okklusive Wundverbände (Omiderm®, Suprathel®) und in einem Fall ein trockener Wundverband mit Gazin® zum Einsatz. Durch den Wechsel auf eine silberhaltige Wundauflage und Einleitung einer systemischen antibiotischen Therapie wurde ein Fortschreiten der Erkrankung verhindert und es kam zu einer deutlichen Besserung der klinischen Symptomatik. Dies trifft auch auf die Patienten mit unvollständiger TSS-Symptomatik zu. Daher sind diese auch als Verdachtsfälle einzustufen, da es durch die rasche therapeutische Intervention zu keiner Vollaussprägung der klinischen TSS-Symptomatik kam. Eine gesicherte, retrospektive Diagnose nach den Kriterien von Cole und Shakespeare war daher in diesen Fällen nicht möglich. Bei den Fallberichten, wo ein Toxinnachweis ohne klinische Symptomatik vorliegend war, wurde in sieben von acht Fällen bereits initial ein silberhaltiger Verband verwendet. Dies macht es sehr wahrscheinlich, dass dadurch der klinische Verlauf günstig beeinflusst und die Entstehung eines symptomatischen TSS verhindert werden konnte. Bei drei der acht Fälle wurde prophylaktisch ein Antibiotikum verabreicht. Es ist anzunehmen, dass ebenso durch diese therapeutische Maßnahme die Keimbesiedelung und –vermehrung eingeschränkt und so eine Toxinanflutung vermieden wurde. In diesem Zusammenhang gilt es auch zu beachten, dass es sich beim positiven Toxinnachweis auch um einen Zufallsbefund handeln könnte. Die frühen antiseptischen therapeutischen Interventionen lassen jedenfalls keinen Rückschluss darauf zu, ob es zur Entwicklung eines TSS gekommen wäre oder nicht. Erfreulicherweise gab es keine Todesfälle und alle an der BVE der Universitätskinderklinik Graz behandelten Kinder zeigten durch unverzügliches therapeutisches Eingreifen einen günstigen klinischen Verlauf bis hin zur Rekonvaleszenz.

Abschließend soll festgehalten werden, dass die statistische Relevanz dieser retrospektiven Studie in Frage zu stellen ist, da die Fallzahl mit 15 untersuchten Fallberichten und nur fünf bestätigten TSS-Fällen zu gering ist. Ein Vergleich mit Daten anderer Brandverletzententren wäre wünschenswert und würde sicherlich spannende Resultate liefern.

4 DISKUSSION, CONCLUSIO

Das Toxische Schocksyndrom stellt eine sehr seltene, aber lebensbedrohliche Komplikation bei brandverletzten Kleinkindern dar. Das Auftreten dieses Krankheitsbildes steht jedoch mit der Ausdehnung und Tiefe der Verbrennung nicht unmittelbar in Zusammenhang. Daher ist es von großem wissenschaftlichem Interesse, ob die Wahl der lokalen Therapiemaßnahmen bei der Primärversorgung von Brandverletzungen einen Einfluss auf die Inzidenz des TSS hat. Diese Fragestellung ist medizinisch hoch relevant, da eine Korrelation zwischen dem Verbandsmaterial und der Entstehung eines TSS Auswirkungen auf die klinischen Akutmaßnahmen bei Kleinkindern mit Brandverletzungen bedeuten würde.

Die Auswahl des optimalen Wundverbandes beruht üblicherweise auf Erfahrungswerten der behandelnden Mediziner und individuellen Kriterien, die auf den jeweiligen Patienten zutreffen. Neben dem Patientenalter spielen auch die Verbrennungstiefe, die Lokalisation und die praktische Handhabung der Verbandsmaterialien eine große Rolle. Ob ein Patient ambulant oder stationär behandelt wird macht hier einen großen Unterschied. So können zum Beispiel neuere silberhaltige Wundauflagen über mehrere Tage bis zu einer Woche auf der Wunde verbleiben. Hingegen muss ein Verband mit Flammazine®, eine Silbersulfadiazin-Creme, ein- bis zweimal täglich neu angelegt werden, was bei Kindern belastend und im ambulanten Bereich unmöglich zu handhaben ist. Daher wird Silbersulfadiazin auf der Grazer Brandverletzteneinheit kaum mehr verwendet. Stattdessen werden bei potentiell infizierten Wunden vorzugsweise silberhaltige Verbände verwendet. Diese Wundverbände bieten aufgrund der auf ihrem Silberanteil beruhenden antimikrobiellen Eigenschaften eine gewisse Sicherheit und können auch prophylaktisch eingesetzt werden. Ob das enthaltene Silber Auswirkungen auf andere Körperregionen haben kann, wird aktuell im Rahmen einer anderen labormedizinischen Studie der Medizinischen Universität Graz untersucht. Da eine Verbrennungsverletzung ein anfangs steriles Wundbett aufweist, wurden bei der Primärversorgung von kleinflächigen und oberflächlichen Verbrennungen initial häufig sterile, nicht-silberhaltige Wundauflagen verwendet.

Auch die fünf gesicherten TSS-Fälle am LKH Graz wurden im Gegensatz zu den erläuterten Verdachtsfällen alle primär mit nicht-silberhaltigen Verbänden versorgt.

Eine Korrelation zwischen der Wahl des Verbandsmaterials und der Entstehung eines TSS gilt hierfür in Anbetracht der Ergebnisse der Laborstudie als sehr wahrscheinlich. Wie Experiment 1 aufzeigt, wurde Wachstum und Vermehrung der *Staphylococcus aureus* – Kulturen in-vitro weder durch Gazin®, noch durch Omiderm® oder Suprathel® beeinträchtigt. Eine sekundäre Wundbesiedelung mit Keimvermehrung und Toxinbildung mit systemischer Streuung war dadurch in den fünf Fällen ohne Einschränkung möglich. Im Gegensatz zu diesen Materialien ohne Silberkomponente stellten die silberhaltigen Wundauflagen in allen Laborversuchen ihre antimikrobielle Wirkung unter Beweis. Dies war ohnehin zu erwarten, jedoch lag die Intention unseres Laborversuchs im Vergleich der unterschiedlich konstituierten Materialien untereinander. Der nanokristalline Wundverband Acticoat® zeigte in den Laborexperimenten die überzeugendste antimikrobielle Wirkung. Besonders positiv dürfte sich hier die rasche Silberdiffusion in die Wunde auswirken. Bereits nach 30 Minuten Applikationszeit konnte im Labor die hemmende Wirkung von Acticoat® durch Silberdiffusion in das Nährmedium nachgewiesen werden (siehe Experiment 2). Der Schaumverband Mepilex Ag® zeigte in den Laborversuchen hingegen weniger überzeugende Resultate. Lediglich die in Experiment 3 untersuchte Silberlösung präsentierte die auf der Silberkomponente beruhende potente antibakterielle Wirkung von Mepilex Ag®. Dieses Resultat ist jedoch nur labortechnisch von Bedeutung und hat klinisch kaum eine Relevanz. Auf der Brandverletzteneinheit Graz fand Mepilex Ag® bisher noch kaum Verwendung. Daher fehlen Erfahrungswerte bezüglich der antimikrobiellen Wirksamkeit von Mepilex Ag® im Vergleich zu Acticoat®. Da auch bei keinem der erläuterten Falldokumentationen Mepilex Ag® bei der Wundbehandlung zum Einsatz kam, können auch im Hinblick auf TSS demnach keine Aussagen gemacht werden. Der Atrauman Ag®-Verband hemmte in Experiment 1 das Wachstum von *Staph.aureus* ebenfalls beachtlich, jedoch beschränkte man sich in den weiteren Laborversuchen auf Acticoat® und Mepilex Ag®. An der BVE Graz wurden unmittelbar nach symptomatischer Präsentation der Patienten die Wunden der Brandopfer mit der klinischen Symptomatik eines TSS ausnahmslos mit Acticoat® versorgt. Dadurch konnte neben der systemischen Therapie durch lokale Maßnahmen die Infektion beherrscht und ein Fortschreiten der Erkrankung verhindert werden. Als Akutintervention bei klinischer Symptomatik, aber auch als Prophylaxe bei

potentiell infizierten Wunden scheint ein silberhaltiger Verband wohl eine gute Wahl zu sein.

Auch verschiedene Honigproben wurden hinsichtlich ihrer antimikrobiellen Wirksamkeit untersucht. Auf der BVE Graz wird Medihoney® in erster Linie bei brandverletzten Kindern mit Wundheilungsstörungen verwendet. Bei den 15 dokumentierten Fällen kam kein Medihoney® zum Einsatz, jedoch wurde dieses Produkt aus persönlichem und wissenschaftlichem Interesse in diese Studie mit eingeschlossen. Im Rahmen des Laborteils wurden nicht-sterilisierte österreichische Honigsorten mit einer Probe des sterilen Medihoney® in ihrer Wirksamkeit verglichen. Die hemmende Wirkung auf das Wachstum von Staph.aureus war in allen Testdurchläufen bei den drei Honigproben deutlich erkennbar. Es zeigten sich kleine Unterschiede in der Ausprägung der antibakteriellen Wirkung, die jedoch als nicht signifikant zu werten sind. Die klinische Relevanz der Laborergebnisse dieser Studie ist genau abzuwägen. Mit diesen Resultaten steht zwar fest, dass die Wirkung von österreichischem, naturbelassenem Honig der von medizinischem Honig entspricht. Für die Anwendung im klinischen Alltag wäre jedoch eine Sterilisation unumgänglich, da man eine Verunreinigung nie ausschließen kann und eine Superinfektion durch das Wundmanagement gravierende Folgen haben könnte. Meiner Ansicht nach wäre es jedoch erstrebenswert, dem regionalen, naturbelassenen Honig wieder mehr Bedeutung hinsichtlich der Verwendung als natürliches Heilmittel zu verleihen und bei speziellen Krankheitsbildern in Zukunft vermehrt einzusetzen. Weiterführende Untersuchungen in Hinblick auf Unterschiede in der inhaltlichen Zusammensetzung der verschiedenen österreichischen Honigsorten wären wünschenswert.

Limitationen

Diese Studie weist einige Limitationen und Schwachstellen auf, die hier zusammenfassend genannt werden sollen. Zunächst soll das Studiendesign der labortechnischen Aufarbeitung kritisch reflektiert werden. Da es sich um eine Studie mit reinem in-vitro Charakter handelt, sind die Resultate nur bedingt klinisch relevant und aussagekräftig. Die bei allen Laborversuchen verwendeten Keime sind zwar Isolate aus hauseigenen Wundabstrichen, stellen jedoch keine

toxinbildenden Mikroorganismen dar. Die damit gewonnenen Ergebnisse sind daher in Verhalten und Reaktion nur annäherungsweise mit den üblichen beim TSS nachgewiesenen Stämmen zu vergleichen. Ebenso ergibt sich bei Betrachtung des Studiendesigns bzw. der Varianten der Versuchsdurchführung eine Vielzahl an Fehlerquellen. Diese Fehler können das Studienergebnis beeinflussen und verzerren. Systematische Fehler in der Datenerfassung, also Messfehler, Fehler bei der Datenanalyse, als auch Fehler bei Interpretation der Auswertungsergebnisse spielen hier eine Rolle. Die retrospektive Evaluierung der TSS-Fälle an der BVE Graz lieferte spannende Ergebnisse. Durch die geringe Fallzahl ist die Kernaussage durch Vergleich mit den Laborresultaten statistisch jedoch nicht signifikant und stellt daher nur eine Annahme dar. Die Verdachtsfälle sind als mögliche Zufallsbefunde zu werten bzw. können aufgrund der fehlenden Kriterien zwar als Vergleichsgruppe dienen, jedoch streng gesehen nicht in die statistische Analyse mit einbezogen werden. Natürlich könnte es sich um wahre TSS-Fälle handeln, jedoch kam es durch vorzeitiges therapeutisches Eingreifen zum Ausbleiben weiterer klinischer Zeichen und eine Antikörperbestimmung nach der Erkrankung wurde nicht durchgeführt. Die wenigen Testläufe der Laborversuche und das Fehlen kongruenter Wiederholungsexperimente haben ebenso einen reduzierenden Effekt auf die Aussagekraft der Ergebnisse. Die Präferenz der Grazer Kinderklinik für bestimmte Materialien und die geringe Diversität an getesteten Verbandmaterialien schränkt die Signifikanz der Ergebnisse zusätzlich ein. Um präzisere Aussagen bezüglich der antiseptischen Effektivität der unterschiedlichen Verbandmaterialien machen zu können, wäre der Einbezug von weiteren Materialien sowohl in die Laborstudie als auch zum Vergleich der klinischen Daten wünschenswert. Eine Gegenüberstellung der Daten mehrerer Brandverletzungszentren wäre für zukünftige Untersuchungen in einem größeren Ausmaß empfehlenswert.

Implikation für Theorie und Praxis

Die möglichen Komplikationen bei kleinflächigen Brandverletzungen bei Kleinkindern werden häufig unterschätzt. Da das TSS ein sehr rares Krankheitsbild darstellt, fehlt es maßgeblich an Bewusstsein für dieses schwerwiegende, toxinmedierte Schocksyndrom seitens der medizinischen Erstversorger. Aus diesem Grund sollte die klinische Relevanz dieser Studie

nochmals hervorgehoben werden. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass durch ein professionelles primäres Wundmanagement zusammen mit einer sorgfältigen Aufklärung der Betreuungspersonen das Auftreten eines TSS und dadurch ein möglicher letaler Krankheitsverlauf bei einem brandverletzten Kleinkind verhindert werden kann.

Conclusio

Durch die retrospektive Auswertung der Patientendaten in Verbindung mit der experimentellen Aufarbeitung der Fragestellung konnten neue Erkenntnisse über das Toxische Schocksyndrom in Zusammenhang mit den verwendeten Verbandmaterialien gewonnen werden. Diese Studie bestärkte die Hypothese einer Korrelation zwischen der Wahl der lokalen Therapiemaßnahmen und dem Auftreten des Toxischen Schocksyndroms. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass die brandverletzten Patienten von einer frühzeitigen antiseptischen Wundbehandlung profitieren. So kann auch die Notwendigkeit einer systemischen antibiotischen Therapie abgewehrt werden. Damit können sowohl eine zusätzliche Belastung und Gefährdung des Körpers, als auch vermehrte Kosten durch längere Krankenhausaufenthalte vermieden werden.

Ausblick

Hier sollen einige Anregungen für weiterführende wissenschaftliche Arbeiten nochmals zusammengefasst erläutert werden. Um genauere Aussagen bezüglich dem Zusammenhang zwischen Verbandsmaterial und Inzidenz des TSS treffen zu können, wäre eine kongruente Wiederholung der im Rahmen dieser Studie durchgeführten Laborversuche unumgänglich. Hierfür wäre die Verwendung von toxinbildenden Bakterienstämmen sinnvoll. Zudem sollen weitere Verbandsmaterialien labormedizinisch getestet und mit klinischen Daten verglichen werden. Der Einbezug anderer Brandverletzentren wäre hier wünschenswert. Eine höhere Anzahl an gesicherten TSS-Fällen und Erfahrungsberichte auch mit anderen Verbandsmaterialien könnte die statistische Signifikanz einer Studie maßgeblich erhöhen. So sollen neue Erkenntnisse über das Auftreten und einer möglichen Prophylaxe eines Toxischen Schocksyndroms gewonnen werden.

5 LITERATURVERZEICHNIS

1. **Bärnthaler M, Hansak P, Petutschnigg B.** *Lehrbuch für Notfallsanitäter, Kap.37.* Graz : Pacherneegg, 2005. 3-902156-05-8.
2. **McAllister RM, Mercer NS, Morgan BD et al.** Early diagnosis of staphylococcal toxemia in burned children. *Burns.* 1993, 19(1): S.22-25.
3. **Edwards-Jones V, Childs C, Foster HA.** A comparison of phenotypic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from burned children and other patient groups. *Burns.* 1996, 22(5): S.384-389.
4. **Todd J, Fishaut M.** TSS in burns/Toxic Shock Syndrome associated with phage group-1 staphylococci. *Lancet.* 1978, 2: S.1116-1118.
5. **CG, Schrock.** Disease alert. *JAMA.* 1980, 243: S.1231.
6. **Trop M, Zobel G, Roedi S.** Toxic shock syndrome in a scald burn child treated with an occlusive wound dressing. *Burns.* 2004, 30: S.176-180.
7. **Bergdoll MS, Schlievert PM.** Toxic shock syndrome toxin. *Lancet.* 1984, ii: S.691.
8. **Edward-Jones V, Greenwood JE.** What's new in burns microbiology? James Laing Memorial Prize Essay. *Burns.* 2003, 29: S.15-24.
9. **Frame JD, Eve MD, Hackett ME et al.** Toxic shock syndrome in burned children. *Burns Incl Therm Inj.* 1985, 11: S.234-241.
10. **E, Feer.** *Lehrbuch der Kinderheilkunde.* 14. Auflage, 1942, S.532.
11. **Lappin E, Ferguson AJ.** Gram-positive toxic shock syndromes. *Lancet Infectious Diseases.* 2009, 9: S.281-90.
12. **Edwards-Jones V, Shawcross SG.** Toxic shock syndrome in the burned patient. *British Journal of Biomedical Science.* 1997, 54: S.110-117.
13. **White MC, Thornton K, Young AER.** Early diagnosis and treatment of toxic shock syndrome in paediatric burns. *Burns.* 2005, 31: S.193-197.
14. **Young AE, Thornton KL.** Toxic Shock Syndrome in burns: diagnosis and management. *Arch dis child Educ Pract.* 2007, 92: ep97-ep100.

15. **Sarafian SK, Morse SA.** Environmental factors affecting toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) synthesis. *J. Med. Microbiol.* 1987, 24: S.75-81.
16. **Wong ACL, Bergdoll MS.** Effect of environmental conditions on production of toxic shock syndrome toxin 1 by *Staphylococcus aureus*. *Infection and Immunity.* 1990, 58(4): S.1026-1029.
17. **Childs C, Edwards Jones V, Dawson M, Davenport PJ.** Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) antibody levels in burned children. *Burns.* 1999, 25: S.473-476.
18. **Vegeront JM, Stolz SJ, Crass B, Nelson DB, Davis JP, Bergdoll MS.** Prevalence of serum antibody to staphylococcal enterotoxin F among Wisconsin residents: implications for toxic shock syndrome. *Journal of Infectious Diseases.* 1983, 148: S.692-698.
19. **Jarman A, Duggal A, Korus L, Tredget EE.** Toxic shock syndrome in an adult burn patient. *Burns.* 2007, 33: S.1051-1053.
20. **JK, Todd.** Toxic Shock Syndrome. *Clinical Microbiology Reviews.* 1988, 1(4): S.432-446.
21. **Cole RP, Shakespeare PG.** Toxic shock syndrome in scalded children. *Burns.* 1990, 16(3): S.221-224.
22. **RJ, Murray.** Recognition and management of *Staphylococcus aureus* toxin-mediated disease. *Internal Medicine Journal.* 2005, 35: S.106-119.
23. **Edwards-Jones V, Dawson MM, Childs C.** A survey into toxic shock syndrome (TSS) in UK burns units. *Burns.* 2000, 26: S.323-333.
24. **Johnson D, Pathirana PDR.** Toxic shock syndrome following cessation of prophylactic antibiotics in a child with a 2% scald. *Burns.* 2002, 28: S.181-184.
25. **Wikipedia.** Mueller-Hinton-Agar. <http://de.wikipedia.org/wiki/M%C3%BCller-Hinton-Agar>. [Online] 2011. [Zitat vom: 12. Dezember 2011.]
26. **Smith and Nephew.** wound.smith-nephew.com. [Online] [Zitat vom: 15. April 2012.] <http://wound.smith-nephew.com/at/popup.asp?NodeId=2627&Hide=True&Tab=1>.
27. **Hartmann.** produktkatalog.hartmann.info. [Online] [Zitat vom: 16. Oktober 2012.] http://produktkatalog.hartmann.info/PHb2c/b2c/Z_init.do?Z_areaID=4132F315E55F0004E1000000A808F21&language=de&shop=DE_KATALOG.

28. **Mönlycke Health Care.** <http://www.molnlycke.com>. [Online] [Zitat vom: 15. April 2012.] <http://www.molnlycke.com/at/Wound-Care-Products/Product-selector---Wound-division/Tabs/Products/Mepilex-Ag/?activeTab=3>.
29. **Polymedics.** www.polymedics.de. [Online] [Zitat vom: 16. Oktober 2012.] <http://www.polymedics.de/Eigenschaften.106.0.html>.
30. **Taureon.** www.taureon.de. [Online] [Zitat vom: 16. Oktober 2012.] <http://www.taureon.de/products/omiderm>.
31. **Lohmann&Rauscher.** www.lohmann-rauscher.de. [Online] [Zitat vom: 16. Oktober 2012.] <http://www.lohmann-rauscher.de/produkte/wundversorgung/kompressen-tupfer-und-tamponaden/gazin/gazin-mullkompressen.html>.
32. **Medihoney TM.** [Online] [Zitat vom: 15. April 2012.] <http://www.medihoney.de/sites/mhonig.html>.
33. **Ryssel H, Radu CA, Germann G, Kloeters O, Riedel K, Otte M, Kremer T.** Suprathel-Antiseptic Matrix: In Vitro Model for Local Antiseptic Treatment. *Advances in skin&wound care*. 2011, 24(2): S.64-67.
34. **Percival SL, Slone W, Linton S, Okel T, Corum L, Thomas JG.** The antimicrobial efficacy of a silver alginate dressing against a broad spectrum of clinically relevant wound isolates. *International Wound Journal*. 2011, 8(3): S.237-243.
35. **Percival SL, Bowler PG, Dolman J.** Antimicrobial activity of silver-containing dressings on wound microorganisms using an in vitro biofilm model. *International Wound Journal*. 2007, 4(2): S.186-191.
36. **Heuer D, Heuer L, Saalfrank V.** Deutsche Apotheker Zeitung . http://www.deutsche-apotheker-zeitung.de/ejournal/DAZ_2011_25/index.html#/72/. [Online] Juni 2011. [Zitat vom: 26. Januar 2012.]
37. **Al-Waili NS, Salom K, Al-Ghamdi AA.** Honey for Wound Healing, Ulcers, and Burns; Data Supporting Its Use in Clinical Practice. *The Scientific World Journal*. 2011, 11: S.766-787.
38. **Malik KI, Malik MAN, Aslam A.** Honey compared with silver suphadiazine in the treatment of superficial partial-thickness burns. *International Wound Journal*. 2010, 7: S.413-417.

39. **Nasir NAM, et al.** Antibacterial properties of tualang honey and its effect in burn wound management: a comparative study. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2010, 10: 31.
40. **Rigo C, et al.** Characterization and evaluation of silver release from four different dressings used in burns care. *Burns*. 2012.
41. **Mueller E, et al.** An innovative local treatment for staphylococcal scalded skin syndrome. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. 2010, 29(7): S.893-897.
42. **Pfurtscheller K, et al.** Use of Suprathel dressing in a young infant with TEN. *Pediatric Dermatology*. 2008, 25(5): S.541-543.