



Hans-Joachim Lunk¹ & Joseph-Peter Guggenbichler²

Antimikrobielle Wirkung von Übergangsmetalloxiden und ihr Einsatz in Medizin, Industrie und Haushalt

Vortrag in der Klasse für Naturwissenschaften und Technikwissenschaften am 8. Mai 2014

Zusammenfassung

Es wird eine neue Technologie vorgestellt, die dem Modell des natürlichen Säureschutzmantels der menschlichen Haut nachempfunden ist. Durch Erniedrigung des pH-Wertes auf unterschiedlichen Oberflächen werden keimarme Bedingungen mit lang anhaltender Wirksamkeit erzeugt. Bis zu 2 Masseprozent der schwer löslichen Übergangsmetalloxide Molybdäntrioxid und Wolframtrioxid sowie deren feste Lösungen $\text{Mo}_x\text{W}_{1-x}\text{O}_3$ werden in Träger wie Kunststoffe, Farben und Lacke eingebracht. Durch Reaktion der Oxide mit der Luftfeuchtigkeit bilden sich an der Oberfläche saure Gruppen, die Keime rasch abtöten.

Das Oxonium-Ion, H_3O^+ , wirkt als neuartiges, Breitbandbiozid. Ein zusätzlicher Mechanismus mittels paramagnetischer Mo^{5+} -Ionen wird diskutiert. Die neue Technologie hat ein großes Anwendungspotential im Gesundheitswesen, der Industrie und im öffentlichen Sektor.

Einleitung

Infektionen mit Mikroben (Bakterien, Pilze, Schimmel, Algen) sind der Killer Nummer 1 in der Welt. Nahezu alle unbelebten Oberflächen sind von Keimen besiedelt. Dabei stellen Kunststoffe ein besonders günstiges Milieu für Keime dar, weil sie sich von den Polymeren und/oder den darin enthaltenen Additiven ernähren können und so rasch zu einem voll ausgebildeten *Biofilm* führen [1]. Ein Biofilm ist ein Bakterienrasen, bei dem die Keime dicht gepackt und mehrschichtig auf einer Oberfläche festsitzen. Er besteht aus einer Polysaccharid-Matrix mit eingebetteten Zellen. Ein derartiges Keimwachstum ist unerwünscht, da es im technisch-industriellen Umfeld zu verminderter Lebensdauer und erhöhten Betriebskosten führt. Vier Beispiele sollen das illustrieren.

- Sofern Schiffe nicht mit bioziden Stoffen ausgestattet sind, werden sie innerhalb kurzer Zeit durch Bewuchs mit Algen und Seepocken (*fouling*) befallen. Der Rasen an den Schiffsrümpfen führt zu einem erhöhten Widerstand im Fahrwasser und somit zu einem erhöhten Kraftstoffverbrauch.
- In kalorischen Kraftwerken wird ein deutlicher Anteil der Primärenergie, typischerweise ca. 7%, für den Betrieb von Kühltürmen benötigt, falls kein geeignetes Gewässer verfügbar ist, um die Abwärme aufzunehmen. Algenwachstum auf den Rieselskörpern der Kühltürme erhöht den Strömungswiderstand für die im Gegenstrom zum Wasser geführte Luft, wodurch der Energieverbrauch steigt. Ein weiteres Problem in Kühltürmen ist das Wachstum von Legionellen. Diese können sich mit den Kühlturmschwaden in der Umgebung der Kraftwerke verteilen.
- Im Lebensmittelbereich führt das Wachstum von Keimen zu Verderbniserscheinungen und reduzierter Haltbarkeit der Produkte. Zwei gängige Verfahren, um Keime in Lebensmitteln abzutöten, sind Pasteurisieren (Milch) und Bestrahlen (Gewürze), ebenso die Erhöhung des osmotischen

¹ 2858 Lake Road, Towanda, PA 18848, USA

² AMiSTec GmbH & Co. KG, Leitweg 23, 6345 Kössen, Österreich, www.amistec.at

Druckes durch Lagerung in konzentrierter Zuckerlösung (Marmeladen) oder Solen (Salzgurken, gepökelttes Fleisch).

- Ein weiteres Beispiel, bei dem Keimwachstum an Oberflächen unerwünscht ist, sind feuchte Wände, an denen Schimmelpilze gedeihen. Diese sind der Gesundheit des Menschen abträglich, sei es direkt bei verminderter körpereigener Abwehr oder durch Allergisierung.

Im Krankenhaus erworbene Infektionen werden als „nosokomial“ bezeichnet. Antibiotika-Resistenzen verschärfen das Problem der im Krankenhaus erworbenen Infektionen. 40% der in deutschen Krankenhäusern behandelten Patienten erhalten Antibiotika. Jährlich sind nach Angaben des *Robert-Koch-Instituts (RKI)* 15.000 Todesfälle von 600.000 Patienten zu beklagen; die *Deutsche Krankenhausgesellschaft e.V. (DKG)* nennt 40.000 von 800.000 Patienten. Infektionen mit multiresistenten Mikroorganismen sind mit den gegenwärtig verfügbaren Antibiotika nicht behandelbar. Und neue Antibiotika sind vorerst nicht in Sicht [2].

Weltweit zählen die durch einen Erreger hervorgerufenen Infektionskrankheiten zu den häufigsten Todesursachen. Im Jahre 1974 starben 47% der Tumorpatienten nicht am Tumor, sondern an einer Infektion. Krankenhausinfektionen betreffen aber nicht nur Patienten auf einer Intensivstation und solche mit einem geschwächten Immunsystem. Die *European Science Foundation (ESF)* geht davon aus, dass in Europa jährlich 1,75 Millionen Patienten im Krankenhaus infiziert werden. Laut *ESF* sterben jedes Jahr 180.000 Europäer an den Folgen einer Krankenhausinfektion [3]. Das *Center for Disease Control (CDC)* schätzt ein, dass in den USA jährlich 2 Millionen Patienten von einer nosokomialen Infektion mit einer Sterblichkeitsrate von 90.000 Menschen betroffen sind [4].

Im Krankenhaus erworbene Infektionen sind somit ein großes Problem in den Industrienationen und in noch stärkerem Maße in den Entwicklungsländern. Die Wahrscheinlichkeit einer nosokomialen Infektion liegt für Patienten auf einer Allgemeinstation bei etwa 3,5% und steigt auf 30-40% für jene auf einer Intensivstation. In Entwicklungsländern ist das Risiko etwa um den Faktor 3 größer, ebenso für Kinder und immunsupprimierte Patienten, z.B. solche unter Chemotherapie. Die Gründe für nosokomiale Infektionen sind vielschichtig. Dazu gehören wirtschaftliche Randbedingungen, Verhaltensweisen des Personals, Prozessabläufe und Installationen.

Implantierbare Biomaterialien wie Zentralvenöse Katheter (ZVK), Transurethral Katheter, Ventrikel drainagen sowie medizinische Geräte wurden als Quelle von nosokomialen Infektionen erkannt [5]. Neben den offensichtlichen Übertragungsorten wie Türgriffe, Lichtschalter oder Hebel von Toilettenspülkästen sind auch Quellen relevant, die nicht sofort als Gefahr erkannt werden wie Fußböden, Telefone oder PC-Tastaturen. Selbst der Temperatursensor einer Lüftungsanlage kann eine Gefahr darstellen.

Außer Bakterien sind auch Schimmelpilze in zunehmendem Maße Auslöser nosokomialer Infektionen mit gesteigerter Morbidität und Mortalität, hervorgerufen vor allem durch *Candida* und *Aspergillus*.

Neben dem menschlichen Leid, das mit nosokomialen Infektionen verbunden ist, sind sie auch ein bedeutender wirtschaftlicher Faktor [6]. Schätzungen über die Kosten für die Behandlung einer im Krankenhaus erworbenen Infektion belaufen sich auf durchschnittlich 30.00 bis 40.000 Euro.

In einem Bericht des Amerikanischen Center for Disease Control (CDC) von 2013 über Antibiotika-Resistenzen [7] werden die 12 Mikroorganismen mit dem höchsten Gefährdungsgrad aufgelistet (siehe Abb. 1). Nach dieser Studie sind 50 % der verabreichten Antibiotika nicht optimal wirksam. Der Einsatz von Antibiotika bei der Tierfütterung (Krankheitsverhinderung sowie Stimulation des Wachstums) wird als äußerst fragwürdig bewertet.

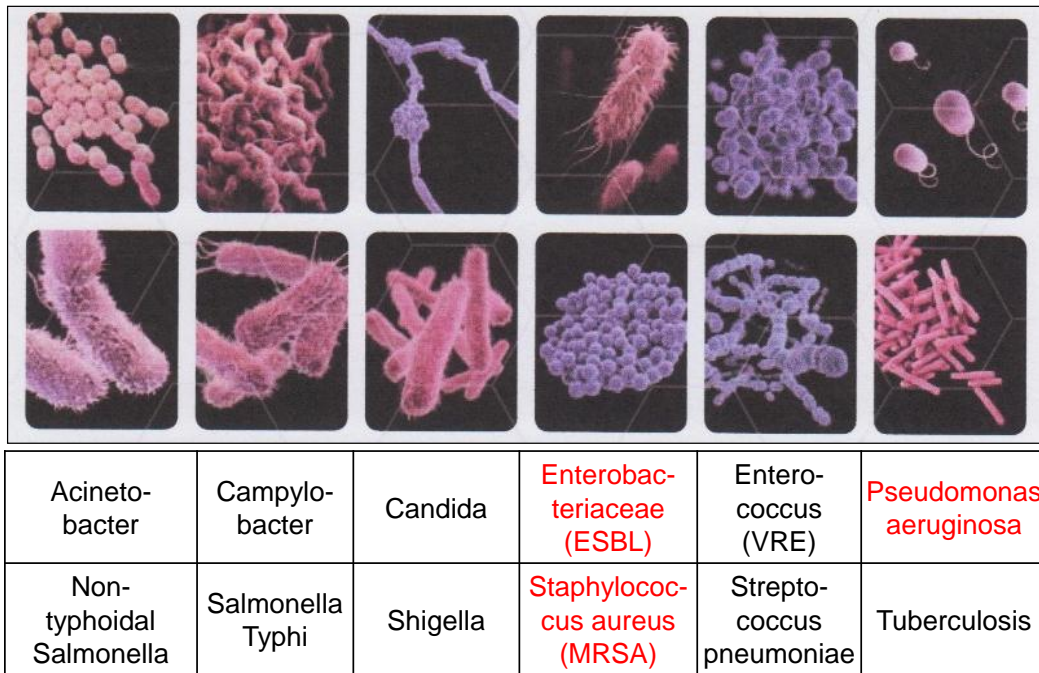


Abb. 1 Mikroorganismen mit dem höchsten Gefährdungsgrad [7]

1. Hemmung und Abtöten von Keimen

Bakterien können auf unterschiedliche Weise abgetötet werden. *Pasteurisierung* ist eine Teilentkeimung, bei der die pathogenen Keime durch kurzzeitiges Erhitzen inaktiviert werden. Durch *Sterilisation* (Entkeimung) werden die Keime derartig geschädigt, dass sie ihre Vermehrungsfähigkeit verlieren. Während die Sterilisation eine Keimreduktion um den Faktor 10^6 erfordert, ist für die *Desinfektion* eine Reduktion um den Faktor 10^5 ausreichend. Desinfektionsmittel werden zum Sterilisieren von unbelebten Oberflächen eingesetzt. Sie denaturieren Proteine und sind daher auch für höhere Organismen giftig. Zur Beseitigung von Viren können in der Regel die gleichen Sterilisierungsmaßnahmen wie für Bakterien ergriffen werden. Die Schwachstelle der traditionellen Desinfektionsmittel ist ihre fehlende Nachhaltigkeit, d.h. unmittelbar nach der Desinfektion beginnt erneut die Keimbesiedlung von Oberflächen.

Antimikrobielle Wirksamkeit kann definiert werden als die Summe aller Wirkprinzipien, die das Wachstum von Keimen hemmen, die Oberflächenbesiedlung verhindern oder die Mikroorganismen abtöten. Wenn ein Wirkprinzip Mikroorganismen in ihrer Vitalität negativ beeinflusst, bezeichnet man dies generell als antimikrobielle Aktivität. Gilt dies nur für Bakterien bzw. Schimmelpilze, spricht man von antibakterieller bzw. antimykotischer Aktivität. Dabei wird zwischen passiven und aktiven Materialien unterschieden. Die *passiven antimikrobiellen Materialien* verhindern die mikrobielle Besiedlung allein durch ihre Oberflächenstruktur. Durch mikrodomänenstrukturierte Oberflächen wird die Bakterienzelle nicht selbst angegriffen; es wird lediglich das Anhaften der Mikroorganismen an der Materialoberfläche verhindert. Gleiches gilt für Wasser- und Schmutzstoffe, wodurch die Lebensbedingungen von Mikroorganismen negativ beeinflusst (anti-adhäsive Wirkung) werden. Demgegenüber enthalten *aktive antimikrobielle Materialien* biozide Bestandteile, die Mikroorganismen an der Zellwand, im Stoffwechsel oder in der Erbsubstanz (Genom) angreifen.

Was Mikroorganismen nicht mögen, sind Chemotherapeutika (darunter Antibiotika), Desinfektionsmittel, Kationen wie Ag^+ , Cu^{2+} und Zn^{2+} , Anionen wie Cl^- , Br^- und I^- , Sauerstoffradikale, Elektrische Ströme, Magnetfelder und sowohl den sauren als auch den alkalischen pH-Bereich.

Im Folgenden werden zunächst fünf "traditionelle" Lösungen im Kampf gegen die Bakterien vorgestellt, um anschließend die Vorteile der neuen Technologie zu erläutern.

2. "Traditionelle" Lösungen

Lösung 1: „Holländisches Modell“

Jeder neue Krankenhaus-Patient wird sofort in eine Isolierstation „gesteckt“ und auf einen möglichen Befall mit resistenten Mikroorganismen getestet.

Die Isolation der gefährlichen ESBL (Extended spectrum beta-lactamase-producing organisms) ist nicht praktikabel. Zudem werden die Routine-Abläufe im Krankenhaus gestört. Häufig leiden diese Patienten unter Depressionen.

Lösung 2: Extrem hoher Betreuungsaufwand

Eine 1:1 - Betreuung reduziert die im Krankenhaus erworbenen Infektionen um ca. 70% [8]. Für diese Art der Betreuung ist allerdings ein hochqualifiziertes Personal erforderlich, das in den meisten Fällen nicht verfügbar ist [9]. Ein derartiger Betreuungsaufwand kann zudem nur von Wenigen bezahlt werden.

Lösung 3: Imprägnieren von Biomaterialien mit Desinfektionsmitteln

Nach dem Deutschen Arzneibuch (DAB) bedeutet Desinfektion "Totes oder lebendes Material in einen Zustand versetzen, dass es nicht mehr infizieren kann". Sobald jedoch eine desinfizierte Oberfläche berührt wird, können frische Keime eingetragen werden. Beim Desinfizieren ist ein hoher Personal- und Chemikalienaufwand erforderlich. Außerdem tragen die Desinfektionsmittel zur Umweltverschmutzung bei und begünstigen die Entstehung von resistenten Bakterienstämmen.

Das Angebot an unterschiedlichen Desinfektionsmitteln ist kaum zu überschauen. Eine Auswahl wird hier vorgestellt.

- *Alkohole*

Phenoxyethanol $C_6H_5O(CH_2)_2OH$

Ethanol C_2H_5OH

n-Propanol $n-C_3H_7OH$

Isopropanol $i-C_3H_7OH$

- *Aldehyde*

Glutaraldehyd $(CH_2)_3(CHO)_2$ hat

Formaldehyd $HCHO$ vielfach abgelöst.

- *Phenol-Derivate*

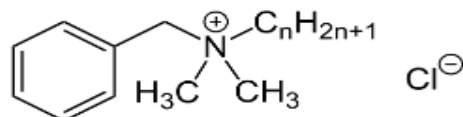
Kresol $CH_3C_6H_4OH$

Chlorxylenol $Cl(CH_3)_2C_6H_3OH$

Triclosan $C_6H_3Cl_2-O-C_6H_3ClOH$

- *Quartäre Ammoniumverbindungen („Quats“)*

Benzalkoniumchlorid



$n = 8, 10, 12, 14, 16, 18$

- *Oxidationsmittel*

Wasserstoffperoxid H_2O_2

Iod I_2

Natriumhypochlorit $NaClO$

- *Antimikrobielle Peptide (AMP)*

Cathelicidin, PDB 2FBS
Monomeres β -Defensin

- *Organische Biozide*
Chlorhexidin $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$
- *Phyto-Biozide*
Thymian (Carvacrol und Thymol)
Teebaumöl
Hyperforin ($C_{35}H_{52}O_4$)

Biozide (*bios* griech. *Leben*, *caedere* lat. *töten*) sind Wirkstoffe, Chemikalien und Mikroorganismen, die zur Schädlingsbekämpfung im nicht-agrarischen Bereich eingesetzt werden. Die antimikrobiell wirksamen Makromoleküle können in die Gruppen Polymere Biozide, Biozide Polymere und Biozid-ausscheidende Polymere unterteilt werden [10].

Im Kampf gegen Schadorganismen wie Ratten, Insekten, Pilze und Mikroben werden Desinfektions- und Holzschutzmittel verwendet. Man unterscheidet zwischen aktiven und inaktiven Biozidprodukten, die eine unterschiedliche Eignung für die antimikrobielle Ausstattung von Oberflächen aufweisen. *Aktive Biozide* müssen aus dem antimikrobiell ausgestatteten Material (Oberfläche) herausgelöst und in den Bakterien-Metabolismus eingebaut werden. Dadurch besteht eine hohe Tendenz zur Entwicklung von Resistenzen und Kreuzresistenzen gegenüber Antibiotika. Diese aktiven Biozide besitzen somit eine nur begrenzte Wirksamkeitsdauer.

Inaktive Biozidprodukte beeinträchtigen die Mikroorganismen von außen, d.h. es wird die delikate Phospholipidmembran der Mikroorganismen angegriffen, ohne dass der Bakterienstoffwechsel involviert ist. Dies ist eine der Voraussetzungen für die weitgehend fehlende Resistenzentwicklung/Resistenzinduktion und die Langzeitwirksamkeit. Es besteht ein Synergismus der antimikrobiellen Wirksamkeit und der Pathogenität von Mikroorganismen auf mehreren Ebenen des Bakterienwachstums:

- Verminderung der Adhärenz an Oberflächen
- Verminderung der Festigkeit der Adhärenz und Entfernbarekeit durch mechanische Maßnahmen
- Hemmung der Proliferation von Mikroorganismen sowie Hemmung der Biofilmbildung an entsprechend ausgestatteten Oberflächen
- Rasche bakterizide Wirksamkeit
- Antimikrobielle Wirksamkeit auch gegen Mikroorganismen im Biofilm

Gegenwärtig sind folgende Biozide verfügbar:

Polymere mit quartären Ammoniumsalzen
(Wasserlöslich, begrenzte Aktivitätsdauer, thermolabil);
Guanidinhaltige Polymere
(Wasserlöslich, begrenzte Aktivitätsdauer);
Polymere, die natürliche antimikrobielle Peptide simulieren
(Thermolabil, kostspielig, Resistenzen gegenüber natürlichen antimikrobiellen Peptiden);
Formaldehyde
(Kanzerogen);
Polymere mit Phospho- oder Sulfogruppen
(Giftig, thermolabil);
Photokatalytische Aktivität (TiO_2)
(Erfordert zur Aktivierung UV-Licht);
Halogenhaltige Polymere
(Wasserlöslich).

In der EU gibt es ca. 50.000 Produkte, die Biozide enthalten. Insgesamt kommen etwa 350 unterschiedliche biozide Wirkstoffe zum Einsatz. Das geschätzte Gesamtvolumen beläuft sich auf 400.000

Tonnen pro Jahr, wovon 70% auf den Privatbereich entfallen. Mengenmäßig am stärksten vertreten sind Natriumhypochlorit, Chlor und Wasserstoffperoxid [11].

In den letzten Jahren konnte eine regelrechte Flut an Produkten mit antimikrobieller Ausstattung beobachtet werden. Das reicht von Reinigungs- und Holzschutzmitteln über Kühlschränke, Windeln, Hausschuhe, Küchenutensilien, WC-Sitze, Tastaturen und Toilettenpapier bis hin zu Sport- und Unterwäsche. Besonders häufig wird dabei Nanosilber eingesetzt.

Experten sind der einhelligen Meinung, dass Biozide im Haushalt normalerweise nicht erforderlich sind. Gesunde Menschen benötigen z.B. auch keine antimikrobielle Seife. Im Gegenteil: Desinfektionsmittel töten krankmachende Keime nicht selektiv ab, sondern zerstören die gesamte Flora, wodurch die Haut destabilisiert werden kann. Im Privatbereich sind derartige Maßnahmen nur bei immungeschwächten oder ansteckenden Personen sinnvoll.

Viele der als antimikrobiell ausgelobten Produkte für Konsumenten enthalten zu geringe Wirkstoffkonzentrationen und sind daher nicht ausreichend wirksam. Die große Mehrzahl der auf dem Markt befindlichen Technologien ist nur in Kombination mit Wasser wirksam. Daher kommt es für die antimikrobielle Ausstattung von Oberflächen nicht nur auf das ein- oder aufgebrauchte Biozid an, sondern ganz wesentlich auch auf die Anpassung des Trägerstoffes, d.h. die Benetzbarkeit (Hydrophilie) der Oberfläche und ein gewisses Maß an Hygroskopizität.

In vielen Fällen bleibt unklar, welcher Wirkstoff in den als „keimtötend“ beschilderten Produkten enthalten ist. Bisweilen werden auch Naturprodukte wie Zedernholz, Bambus oder Merinowolle als antimikrobiell wirksam ausgelobt. Manche Produkte sind missverständlich als „bioaktiv“, „laboratory tested“, „no stink“, „harmlos“ etc. gekennzeichnet. Dabei legt die Biozid-Richtlinie fest, dass suggestive Werbebotschaften wie „ungiftig“ oder „ungefährlich“ unzulässig sind. Diese Unklarheiten tragen zur Verwirrung der Konsumenten bei und nähren ein Gefühl der Unsicherheit in Bezug auf die häusliche Hygiene.

Lösung 4: Extensives Händewaschen

Die Hände der Mitarbeiter im Gesundheitswesen sind die häufigsten Überträger von Pathogenen von Patient zu Patient und in der Einrichtung [12]. Die Aufforderung zum Händewaschen wird nur von 29% bis 87% der Mitarbeiter befolgt [13].

Abb. 2 demonstriert, zu welchem Ergebnis ein exzessives (60x in 8 Stunden) Händewaschen führen kann. Ein dringender Handlungsbedarf im Gesundheitswesen ist erforderlich [14].



Abb. 2 Ergebnis von exzessivem Händewaschen

Lösung 5: Kupfer / Silber – Technologien

Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass antimikrobielle Kupferwerkstoffe (metallisches Kupfer oder Kupfer-Legierungen) nosokomiale Infektionen reduzieren [15]. Eine geeignete Technologie ist bei implantierbaren Biomaterialien effektiv. Allerdings ist die Aktivitätsdauer auf 7-90 Tage beschränkt.

Die antimikrobielle Wirkung des Silbers beruht auf seiner Aktivität gegenüber einem breiten Spektrum von - auch multiresistenten - Bakterien, Hefen, Pilzen und Viren. Der Effekt beruht auf der

Bildung von Silberionen (Ag^+) auf der Oberfläche von Silbernanopartikeln. Nach bisherigem Kenntnisstand wirken die Silberionen in verschiedener Weise auf Einzeller wie Bakterien, Hefen, Pilze und Viren.

Mit der zunehmenden Verbreitung von *shared touch-enabled surfaces* steigt die Sorge der Nutzer, was die Existenz von Bakterien auf diesen Oberflächen anbetrifft. Corning Incorporated meldete in diesem Zusammenhang kürzlich die Herstellung des weltweit ersten *Antimicrobial Corning[®] Gorilla[®] Glass* [16]. In die Glasoberfläche sind Ag^+ -Ionen inkorporiert, die dauerhaft antibakteriell wirken sollen. Die erforderlichen mechanischen, optischen und dielektrischen Eigenschaften des Glasses sollen durch eine exakte Kontrolle der Silber-Konzentration gewährleistet sein.

Die antimikrobielle Ausstattung auf der Basis von Kupfer und Silber ist in vielen Fällen kritisch einzuschätzen, da deren Wirkung durch Eiweißverbindungen, aber auch durch schwefelhaltige Verbindungen (z.B. im Harn) aufgehoben wird. Die Ausstattung mit Kupfer in unterschiedlichen Technologien zeigt zudem eine hohe Zytotoxizität. Vereinzelt sind Medizinprodukte und kritische Oberflächen anzutreffen, die antimikrobiell ausgestattet sind. Leider fehlen verbindliche Standards.

3. Saure Oberflächen als neuartige Kontakbiozide

Folende generelle Anforderungen müssen an antimikrobielle Oberflächen gestellt werden: Intensive und breite antimikrobielle Aktivität gegenüber Gram-positiven und Gram-negativen Mikroorganismen, Pilzen und Legionellen (unabhängig von ihrer antibiotischen Anfälligkeit); Ungiftig; Keine Erzeugung von Resistenzen; Lang anhaltende antimikrobielle Wirksamkeit; Unlöslich in Wasser, Säuren, Laugen und Alkoholen; Stabil bei UV-Bestrahlung; Nicht korrosiv; Einfache technische Verarbeitbarkeit (bevorzugt mittels Extrusion); Günstige Aufwand-Nutzen-Analyse.

Ziel ist die Bildung von nachhaltigen keimfreien Oberflächen in jedem sensiblen Bereich, um der Ausbreitung von multiresistenten pathogenen Mikroorganismen und viralen Infektionen vorzubeugen. Das betrifft sowohl Intensivstationen in Krankenhäusern als auch Pflegeheime sowie öffentliche Plätze, an denen viele Menschen zusammenkommen.

Die antimikrobielle Wirkung von Säuren ist seit langem bekannt. Hier seien einige Beispiele aufgeführt.

- Die menschliche Haut verfügt über einen natürlichen Säureschutzmantel, der einen pH-Wert von etwa 5,2 erzeugt.
- Die Salzsäure im menschlichen Magen schützt den Dünndarm vor pathogenen Bakterien, die mit der Nahrung aufgenommen werden. Der pH-Wert der Magensäure liegt bei 1-1,5 (nüchternen Magen) bis 2-4 (voller Magen).
- Der pH-Wert der Vagina beträgt 3,5-4,5.
- Urin ist normalerweise keimfrei. Personen mit chronischen Harnwegsinfekten erhalten Extrakte der Großfrüchtigen Moosbeere (*Vaccinium macrocarpon*) oder Aminosäuren wie Methioninchlorid, um den Harn auf einen pH-Wert von 5 zu bringen, wodurch die Keimzahl reduziert wird.
- Säuren werden zur Obstkonservierung und in Tierfuttern eingesetzt.
- Die Stabilisierung von Wein mit Schwefliger Säure ist übliche Praxis.
- Saure Reinigungsmittel (z.B. auf Basis von Essigsäure CH_3COOH) und Desinfektionsmittel (z.B. Peressigsäure $\text{CH}_3\text{COO}_2\text{H}$ und Ameisensäure HCOOH) sind seit langem im Einsatz.

Es besteht ein breites antimikrobielles Wirkspektrum auf Gram-positive und Gram-negative Mikroorganismen, Pilze (*Candida albicans*), Viren (*H1N1*, *H1N5*, *Hepatitis B*), unabhängig von deren Resistenz gegen Antibiotika.

Der Effekt von Säuren auf Bakterien ist in der Literatur ausführlich beschrieben [17]. Der Bakterientod aufgrund eines niedrigen pH-Wertes stellt ein Zusammenspiel unterschiedlicher Faktoren dar:

- Ein niedriger intrazellulärer pH-Wert bringt die zellularen Prozesse zum Stillstand bis hin zur Denaturierung von Proteinen.

- Die Möglichkeiten der Zelle, Protonen auszuschleusen, sind entweder von der Kapazität oder der Energie her begrenzt. Die Zelle stirbt an Protein-Denaturierung oder an Adenosintriphosphat (ATP)-Mangel.
- Das Membranpotential sinkt soweit, dass eine effektive Energiegewinnung nicht mehr möglich ist.
- Bei sehr niedrigen pH-Werten treten Membranschäden auf, wodurch der Zustrom von Protonen steigt, der nicht kompensiert werden kann.

4. Übergangsmetalloxide zur Erzeugung saurer Oberflächen

Ein innovativer Ansatz zur Erzeugung saurer Oberflächen ist der Einsatz von *Brønsted-Lowry*-Säuren. Dazu werden Übergangsmetalloxide mit sehr geringer Wasserlöslichkeit eingesetzt, die mit Wasser eine saure Reaktion hervorrufen [18-21]. Geeignete Oxide (Korngröße ca. 1µm) werden mit 0,5-2% in das antimikrobiell auszustattende Material eingemischt und homogen verteilt. Für Kunststoffe kann das in einem Extruder erfolgen, für Farben und Lacke in einem Dispergator. Die Übergangsmetalloxide Molybdäntrioxid, MoO_3 , und Wolframtrioxid, WO_3 , sowie deren feste Lösungen, $\text{Mo}_x\text{W}_{1-x}\text{O}_3$, wurden in unterschiedlichen Polymeren (Thermoplastisches Urethan, Silikon, Pulverlack, Epoxidharz) erfolgreich auf antimikrobielle Wirksamkeit getestet [19]. Apolare Werkstoffe wie die Thermoplaste PP (Polypropylen), PC (Polycarbonat), ABS (Acrylnitril-Butadien-Styrol) und PS (Polystyrol) müssen zusätzlich an der Oberfläche hydrophiliert werden, um die Oxide entsprechend zu aktivieren.

4.1. Herstellung der Übergangsmetalloxide

Im Unterschied zur gasförmigen und flüssigen Phase wird das Reaktionsverhalten von Feststoffen ganz wesentlich durch deren Herstellungsprozess bestimmt.

Ausgangsverbindungen zur Erzeugung von MoO_3 sind neben Ammoniumdimolybdat (ADM), $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7$, und Ammoniumparamolybdat (APM), $(\text{NH}_4)_6[\text{Mo}_7\text{O}_{24}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, die sogenannte Molybdänsäure (MS) $\text{MoO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($n=1,2$) und „Hexagonales Molybdäntrioxid“ (HMTO), $\text{MoO}_3 \cdot m\text{NH}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ [22].

Im Falle von WO_3 werden Ammoniumparawolframat-tetrahydrat (APW), $(\text{NH}_4)_{10}[\text{H}_2\text{W}_{12}\text{O}_{42}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Ammoniummetawolframat (AMW), $(\text{NH}_4)_6[\text{H}_2\text{W}_{12}\text{O}_{40}] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, oder auch die sogenannte Wolframsäure (WS), $\text{WO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($n=1,2$) eingesetzt.

Die oxidischen Phasen MoO_{3-x} ($0 < x < 0,1$) und WO_{3-x} ($0 < x < 0,1$) lassen sich durch thermische Zersetzung der Mo- bzw. W-haltigen Precursoren herstellen. Nicht nur die Atmosphäre (Luft, Vakuum, Inertgas, Wasserstoff) sowie die Endtemperatur der thermischen Zersetzung, sondern auch Aufheizrate und Schichtdicke des Pulverbettes haben entscheidenden Einfluss auf die antimikrobielle Wirksamkeit der erzeugten Pulver.

Die festen Lösungen $\text{Mo}_x\text{W}_{1-x}\text{O}_3$ wurden nach einem von uns entwickelten Verfahren hergestellt [23]. Die durch Sprühtrocknung einer wässrigen Lösung von ADM und AMW synthetisierten Precursoren wurden im Luftstrom bei 300 bis 600°C kalziniert. Lag die Kalzinierungstemperatur bei 400°C, konnten in den Pulvern nur noch Spuren von H_2O und NH_3 nachgewiesen werden. Die festen Lösungen wurden mittels chemischer Analyse und XRD als $\text{Mo}_x\text{W}_{1-x}\text{O}_3$ ($0,1 < x < 0,9$) charakterisiert.

Die Kalzinierungsprodukte wurden zu Pulvern mit einer durchschnittlichen Korngröße von 1µm (gemessen mittels Laser-Methode) aufgemahlen. Die beiden Oxide sowie deren feste Lösungen mit den molaren Verhältnissen Mo:W = 1:1, 1:3 und 3:1 wurden auf ihre antimikrobielle Wirksamkeit getestet.

4.2. Antimikrobielle Tests

Das antimikrobielle Testen erfolgt mittels Auftropfmethode [24], parallel mit den drei Referenz-Bakterien *Staphylococcus aureus* (S.a.), *Escherichia coli* (E.c.) und *Pseudomonas aeruginosa* (P.a.). Entsprechend den Wahrscheinlichkeiten der Übertragung von Infektionserregern wurden diese drei relevanten Mikroorganismen ausgewählt. Gleichzeitig wurden mehr als 150 frische klinische Isolate untersucht.

Der Wirksamkeitsmechanismus des aktiven Biozids ist unabhängig von der Resistenz gegen Antibiotika und umfasst ein sehr breites Spektrum von Mikroorganismen. Bisher wurde kein Keim, der auf diese Technologie unempfindlich ist, gefunden. Außerdem unterliegt es als aktives Biozid auch nicht einer Resistenzinduktion.

S. aureus (MRSA, ATCC 23752) wird von allen relevanten Laboratorien als Referenzkeim verwendet. Die Wirksamkeit der Technologie auf *S. aureus* beinhaltet auch die Wirksamkeit gegen *S. epidermidis*. *S. aureus* wurde jedoch primär als Referenzkeim für Gram-positive Mikroorganismen verwendet. Untersuchungen zahlreicher frischer klinischer Isolate zeigten bei guter Wirksamkeit gegen *S. aureus* eine ebenso gute Wirksamkeit gegen *S. faecalis* (VRE), *S. pneumoniae* und *S. pyogenes*.

E. coli wurde als Referenzkeim für Gram-negative Mikroorganismen getestet. Gleichzeitig war auch die Wirksamkeit gegen *Klebsiella spp*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Aeromonas Serratia* etc. gegeben. Zusätzlich wurde *Pseudomonae aeruginosa* in das Testportfolio inkludiert. Separat konnte die Wirksamkeit gegen *Legionellen*, *Listerien*, sogar gegen *Lactobacillus acidophilus* nachgewiesen werden.

Die unveränderte Wirksamkeit ist bei kontinuierlichem Wasserkontakt bisher bis zu 24 Monaten bestätigt. Die Wirksamkeit gegen Influenzaviren (H1N1, H1 N5) ist gut; die Hepatitis B Wirksamkeit wird in der Literatur dokumentiert.

Anaerobier wurden ausgenommen, da sie als Kontamination von Oberflächen im Krankenhaus und in öffentlichen Einrichtungen keinerlei Relevanz haben.

Je 100µL der zertifizierten Bakterienlösung {Konzentration 10^7 CFU/ml (colony-forming units per milliliter)} werden auf die mit dem Übergangsmetalloxid ausgestatteten Polymerfolie aufgetragen. Nach 3, 6, 9 und 12 Stunden werden je 10µl-Proben abgenommen und auf *Columbia-Blut-Agarplatten* (CBA) in drei Sektoren ausgestrichen. Als Kontrollversuche werden zusätzlich beim Start des Tests sowie zeitgleich zur 12 h-Marke je 10µl der Bakterienansätze auf CBA ausgestrichen. Die Agarplatten werden im Inkubator bei 37°C über einen Zeitraum von 24 Stunden gehalten. Die antimikrobielle Wirksamkeit wird mittels Fotos dokumentiert.

In Abb. 3 wird die Wirksamkeit der drei in TPU eingebetteten Mischoxide $\text{Mo}_{0,5}\text{W}_{0,5}\text{O}_3$, $\text{Mo}_{0,25}\text{W}_{0,75}\text{O}_3$ und $\text{Mo}_{0,75}\text{W}_{0,25}\text{O}_3$ mit den MoO_3 - bzw. WO_3 -enthaltenen TPU-Proben verglichen. Die Kontrollen beweisen, dass während der gesamten Testdauer die Bakterien nicht auf natürliche Weise abgestorben waren. Nach 6 Stunden zeigen alle drei Mischoxide eine komplette Eliminierung der drei Bakterien, während in den Proben mit MoO_3 und WO_3 noch eine gewisse Bakterien-Konzentration nachzuweisen ist. Nach 12 Stunden weisen schließlich alle Proben eine mehr als 10^5 -fache Bakterien-Eliminierung auf, in Übereinstimmung mit den üblichen Anforderungen an standardisierte Tests für antimikrobielle Wirksamkeit.

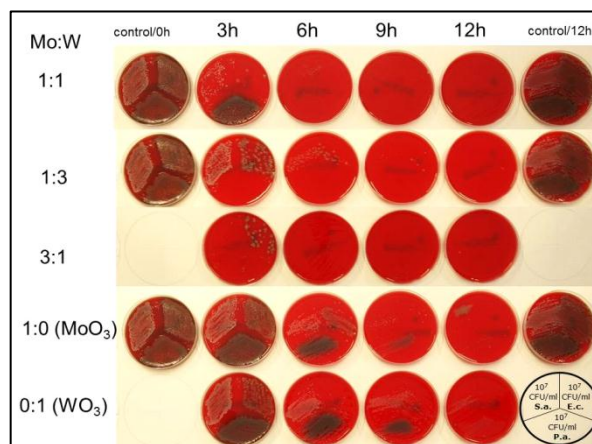
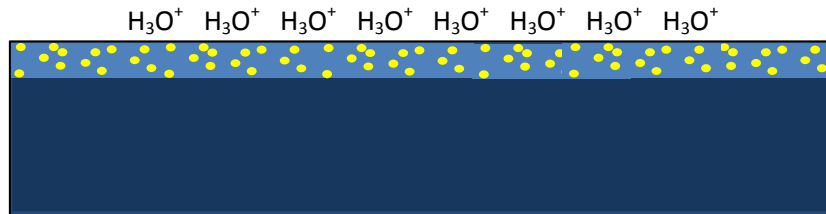


Abb. 3 Antimikrobieller Test von oxidischen Proben (2% Oxid in TPU) Auftropfmethode mit 3 Referenz-Bakterien (10^7 CFU/ml)

4.3. Mechanismus der antimikrobiell wirkenden Oberflächen

Die Oxonium-Ionen (H_3O^+) werden von $\text{MO}_2(\text{OH})$ ($\text{M} = \text{Mo}^{5+}, \text{W}^{5+}$), das sich in geringer Menge auf der Oberfläche des in Polymere, Epoxidharze, Silicone, Farben, Lacke oder Emailien eingebetteten Oxids befindet, gemäß folgender Reaktion gebildet.



Der Kontakt mit Wasser ist demnach unverzichtbar. Es stellt sich ein Oberflächen-pH-Wert von ca. 4,5 ein. Er liegt damit zwischen den pH-Werten für z.B. wässrige 0,01 M Essigsäure (3,39) und der menschlichen Haut (5,2). Dies erfordert eine mehr oder weniger starke Hydrophilierung bzw. Hygroskopie der Oberfläche, wobei in den meisten Fällen bereits eine relative Luftfeuchtigkeit von 25% genügt.

Der Mechanismus der sauren Oberflächen bei der Keimabwehr erfolgt nach zwei Strategien:

- a) Verminderung der Adhärenz (Zellanhänge wie Fimbrien und Flagellen verklumpen) [25], wodurch die Biofilmbildung verhindert wird.
- b) Aktive Abtötung der Keime [26].

Die grundlegende Annahme zum Wirkmechanismus b) besteht darin, dass die hydratisierten Oxonium-Ionen, $(\text{H}_3\text{O}^+)(\text{OH}_2)_n$ ($n=1,3$) im Kontakt mit Mikroorganismen zunächst das Hydratwasser abstreifen, schließlich auch das verbleibende Wassermolekül. Die nun nackten Protonen sind in der Lage, die Zellwand von Bakterien in unspezifischer Weise anzugreifen, indem sie deren Proteinhülle sowie die Fimbrien dauerhaft denaturieren. Die Protonen können zusätzlich im Inneren der Zelle die Wirkung essentieller Enzymsysteme blockieren. Der Gesamtvorgang wird Proteolyse (Koagulationsnekrose) genannt. Das Oxonium-Ion, H_3O^+ , wirkt als neuartiges Breitbandbiozid. Durch den unspezifischen Mechanismus ist nicht mit der Erzeugung von Resistenzen zu rechnen. Zytotoxizität konnte ebenfalls nicht festgestellt werden [27].

Die Ergebnisse der Elektronenparamagnetischen Resonanz (EPR) - Spektroskopie (Tabelle 1) unterstützen die Annahmen zum Wirkmechanismus. Aus den bei 77 K registrierten Spins per Gramm wurde die molare Konzentration an paramagnetischen Mo^{5+} - Ionen berechnet.

Tabelle 1 Ergebnisse der Elektronenparamagnetischen Resonanz - Spektroskopie

x in $\text{Mo}_x\text{W}_{1-x}\text{O}_3$	Präparation	Spins / g	Mol-% Mo^{5+}
0.75 (3Mo : 1W)	Kalzinierung bei 300°C	$6,0 \cdot 10^{18}$	0,22
	Strahlvermahlung	$5,1 \cdot 10^{18}$	0,18
0.50 (1Mo : 1W)	Kalzinierung bei 300°C	$3,3 \cdot 10^{18}$	0,21
	Strahlvermahlung	$2,8 \cdot 10^{18}$	0,18
0.25 (1Mo : 3W)	Kalzinierung bei 300°C	$4,8 \cdot 10^{17}$	0,08
	Strahlvermahlung	$2,4 \cdot 10^{17}$	0,04

Die drei untersuchten gelb-gefärbten Mischoxide $\text{Mo}_x\text{W}_{1-x}\text{O}_3$ enthalten deutliche Mengen an Mo^{5+} -Ionen. Die molare Mo^{5+} -Konzentration der bei 300°C kalzinierten 3Mo:1W- und 1Mo:1W-Proben ist nahezu identisch. Deren Strahlvermahlung (*jet milling*) führt zu einer ca. 15prozentigen Reduktion der Mo^{5+} -Konzentration. Im Falle des 1Mo:3W-Mischoxids wird eine deutlich geringere Mo^{5+} -Ausgangs-Konzentration gemessen, die nach der Strahlvermahlung sogar auf die Hälfte sinkt. Die an Luft durchgeführte Strahlvermahlung führt zu einer anteiligen Oxidation von Mo^{5+} zu Mo^{6+} . Die Abstufung der Mo^{5+} -Konzentration in den drei Mischoxiden läuft parallel zu ihrer antimikrobiellen Aktivität (vgl. Abb. 3).

Damit sollte ein zusätzlicher Mechanismus, neben der Wirkung des Oxonium-Ions, von Bedeutung sein. Mikroorganismen bestehen zum größten Teil aus Wasser, etwas Eiweiß (Enzyme) und Elektrolyten. Die Elektrolyt-Zusammensetzung in der Phospholipid-Membran der Mikroorganismen kann nicht nur durch Protonen oder Sauerstoffradikale (Wirkungsweise von TiO_2 und UV-Licht), sondern auch durch die Wechselwirkung mit den paramagnetischen Zentren in Unordnung gebracht werden. Die unterschiedlichen Mechanismen führen schließlich zum Zelltod.

Wolframtrioxid ist zwar antimikrobiell wirksam, im Vergleich zu MoO_3 und zu $\text{Mo}_x\text{W}_{1-x}\text{O}_3$ allerdings mit deutlich abgeschwächter Aktivität (vgl. Abb. 3). Das bestärkt uns in der Überzeugung, dass neben H_3O^+ als antimikrobiell wirksames Basis-Agens die paramagnetischen Mo^{5+} -Ionen eine entscheidende Rolle spielen.

Die Ausstattung von Kunststoffen, Farben und Lacken mit Übergangsmetalloxiden, die paramagnetische Mo^{5+} -Ionen enthalten, ist sehr viel eleganter als das Abtöten der Keime durch den Einbau von Antibiotika in den Stoffwechsel der Mikroorganismen oder durch Desinfektionsmittel. Die Übergangsmetalloxide müssen nicht in den Stoffwechsel der Keime eingebracht werden, wodurch die Resistenzproblematik sehr viel geringer ist.

4.4. Anwendungsbeispiele

Im Folgenden werden einige auf Basis der neuen Technologie schon entwickelte bzw. zu entwickelnde Produkte aufgelistet.

- Endoskope, Urologische Katheter, EKG-Ableitungskabel
- Rieselkörbe in Kühltürmen
- Halteschlaufen, Handläufe, Türgriffe und Sitze in Flughäfen, Straßenbahnen, Bussen, U- und S-Bahnen
- Mobiliar in Krankenhäusern
- Tierohrmarken
- Öl- und Erdgasindustrie

Literaturverzeichnis

- [1] A. Kermanshahi, D.G. Cooper, O.A. Mamer, M. Maric, J.A. Nicell, *Chemosphere* **2009**, 77(2), 258-263.
- [2] F. Siedenbiedel, J.C. Tiller, *Polymers* **2012**, 4(1), 46-71.
- [3] DART, Deutsche Antibiotika-Resistenzstrategie, Bundesministerium für Gesundheit, Berlin, **2011** (<http://www.gesundheitsministerium.de>).
- [4] National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) Report, *Am. J. Infect. Contr.* **2002**, 30(8), 458-475.
- [5] S. Schabrun, L. Chipchase, *Journal of Hospital Infection* **2006**, 63(3), 239-245.
- [6] S.K. Pada, Y. Ding, M.L. Ling, L.-Y. Hsu, A. Earnest, T.-E. Lee, H.-C. Yong, R. Jureen, D. Fisher, *Journal of Hospital Infection* **2011**, 78(1), 36-40.
- [7] <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/pdf/ar-threats-2013-508.pdf#page=5>

- [8] C.A. O'Boyle, S.J. Henly, E. Larson, *Am. J. Infect. Contr.* **2001**, 29(6), 352-360.
- [9] L.H. Aiken, S.P. Clarke, J.H. Silber, *Am. Medical Association* **2003**, 290(12), 1617-1623.
- [10] A. Muñoz-Bonilla, M. Fernández-García, *Progress in Polymer Science* **2012**, 37, 281-339.
- [11] Desinfektionsmittel im täglichen Gebrauch, PAN Germany (Pestizid Aktions-Netzwerk e.V.), **2013** (<http://www.pan-germany.org/>)
- [12] B. Allegranzi, P. Pittet, *J. Hosp. Infect.* **2009**, 73(4), 305-315.
- [13] W. Picheansathian, A. Pearson, P. Suchaxaya, *Int. J. Nurs. Pract.* **2008**, 14(4), 315-321.
- [14] S.A. Creedon, *J. Adv. Nurs.* **2005**, 51(3), 208-216.
- [15] J.H. Michel, W.R. Moran, A.A. Estelle, K.E. Sexton, H.T. Michels, *Int. J. Powder Metallurgy* **2013**, 49(1), 33-36.
- [16] <http://www.corninggorillaglass.com/Antimicrobial>
- [17] T.A. Krulwich, G. Sachs, E. Padan, *Nat. Rev. Microbiol.* **2011**, 9(5), 330-343.
- [18] J.-P. Guggenbichler, N. Eberhardt, H.P. Martinez, H. Wildner, *Stoff mit antimikrobieller Wirkung*, **2008**, WO 2008/058707.
- [19] M. Lackner, S. Maninger, J.-P. Guggenbichler, *Nachr. Chem.* **2013**, 61(2), 112-115.
- [20] J.P. Guggenbichler M. Lackner, **2013**, 18th Plansee-Seminar, RM 11.
- [21] M. Lackner, H.-J. Lunk, J.P. Guggenbichler, **2013**, 18th Plansee-Seminar, RM 53.
- [22] H.-J. Lunk, H. Hartl, M.A. Hartl, M.J.G. Fait, I.G. Shenderovich, M. Feist, T.A. Frisk, L.L. Daemen, D. Mauder, R. Eckelt, A.A. Gurinov, *Inorg. Chem.* **2010**, 49, 9400-9408.
- [23] J.-P. Guggenbichler, H.-J. Lunk, *Verfahren zur Herstellung eines dotierten oder undotierten Mischoxids für einen Verbundwerkstoff und Verbundwerkstoff mit einem solchen Mischoxid*, Aktenzeichen 10 2013 104 284.8, IPC-Hauptklasse C01G 41/02, Anmeldetag 26.04.2013.
- [24] T. Bechert, P. Steinrücke, J.-P. Guggenbichler, *Nature Medicine* **2000**, 6, 1053-1056.
- [25] A.M. Raichur, S.P. Vijayalakshmi, *Fuel* **2003**, 82(2), 225-231.
- [26] H. Babich, G. Stotzky, *Environmental Research* **1978**, 15(3), 405-417.
- [27] C. Zollfrank, K. Gutbrod, P. Wechsler, J.P. Guggenbichler, *Mat. Sci. Eng. C* **2012**, 32(1), 47-54.

Danksagung

Die Autoren sind Herrn Prof. Dr. Reinhard Stößer, Humboldt-Universität zu Berlin, für die Aufnahme und Interpretation der EPR-Spektren zu großem Dank verpflichtet.