

Aus der Abteilung Anaesthesiologie I

(Prof. Dr. med. M. Quintel)

Im Zentrum Anaesthesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin

der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Mikrobielle Kontamination intravenöser Anästhetika im Kreislaufmodell
unter Verwendung der Göttinger Konfiguration eines TIVA-Sets**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Katrin Werth

aus

Aurich

Göttingen 2010

Dekan: Prof. Dr. med. C. Frömmel

I. Berichterstatterin: Prof. Dr. med. P. Saur

II. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Reichard

Tag der mündlichen Prüfung: 04. Januar 2012

Meinen Eltern

Elfriede und Rolf-Dieter Werth

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	7
1.1. EINSARPOTENTIAL IN DER ANÄSTHESIE.....	7
1.2. INFEKTIÖSE POTENZ VON PROPOFOL.....	7
1.3. EINSATZ VON TIVA-NARKOSEN.....	8
1.4. UMGANG MIT EINWEGMATERIALIEN UND MEDIKAMENTENRESTEN.....	9
1.5. DAS TIVA-SET.....	10
1.6. FRAGESTELLUNG UND ZIEL DIESER ARBEIT.....	15
2. MATERIAL UND METHODEN	16
2.1. MIKROORGANISMEN.....	16
2.2. CHEMIKALIEN.....	16
2.3. MEDIKAMENTE.....	16
2.4. GERÄTE UND VERBRAUCHSMATERIALIEN.....	16
2.5. NÄHRMEDIUM ZUR BAKTERIENKULTUR.....	17
2.6. NÄHRBÖDEN ZUR BAKTERIENKULTUR.....	17
2.7. BESTIMMUNG DER BAKTERIENKONZENTRATION.....	19
2.8. PRINZIP DES VIRENNACHWEISES.....	21
2.8.1. <i>Bestimmung des Virengehalts</i>	21
2.9. VORKULTUREN.....	22
2.9.1. <i>Vorkultur der Bakterien</i>	22
2.9.2. <i>Vorkultur der Viren</i>	22
2.10. VORVERSUCH: EINFLUSS VON PROPOFOL AUF DAS WACHSTUM VON MIKROORGANISMEN.....	23
2.10.1. <i>Einfluss auf das Wachstum von B. subtilis und S. epidermidis</i>	23
2.10.2. <i>Einfluss auf das Viruswachstum</i>	23
2.11. ENTWICKLUNG EINES EXPERIMENTELLEN TIVA-MODELLS.....	23
2.11.1. <i>Das „Patientenmodell“</i>	24
2.11.2. <i>Vorbereitung der Flüssigkultur</i>	25
2.11.3. <i>Versuchsaufbau</i>	26
2.11.4. <i>Infusionsschema</i>	27
2.11.5. <i>Probenentnahme und Auswertung</i>	28
2.11.6. <i>Variationen beim Nachweis von Viren im System</i>	29

2.12.	ALLGEMEINE HYGIENEMAßNAHMEN ZUR KONTAMINATIONSOPHYLAXE	30
2.13.	STATISTISCHE AUSWERTUNG	31
3.	ERGEBNISSE	32
3.1.	VORVERSUCH: EINFLUSS DES VERWENDETEN PROPOFOL-PRÄPARATES AUF DAS WACHSTUM VON MIKROORGANISMEN	32
3.1.1.	<i>Einfluss auf das Wachstum von B. subtilis und S. epidermidis ..</i>	32
3.1.2.	<i>Einfluss von Propofol auf das Viruswachstum</i>	33
3.2.	VERSUCH: ÜBERPRÜFUNG DER KONTAMINATIONSGEFAHR DES TIVA-SETS DURCH BAKTERIEN	34
3.2.1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	34
3.2.2.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	35
3.2.3.	<i>Escherichia coli.....</i>	37
3.2.4.	<i>Proteus mirabilis</i>	38
3.2.5.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39
3.3.	ÜBERPRÜFUNG DER KONTAMINATIONSGEFAHR DES TIVA-SETS DURCH VIREN	40
4.	DISKUSSION	43
4.1.	VALIDITÄT DES MODELLS	43
4.1.1.	<i>Auswahl der Mikroorganismen.....</i>	43
4.1.2.	<i>Keimzahlbestimmung nach McFarland.....</i>	49
4.1.3.	<i>Auswahl der Medikamente</i>	50
4.1.4.	<i>Das „Patientenmodell“.....</i>	52
4.2.	DER VERSUCHSABLAUF IM VERGLEICH ZUM KLINISCHEN EINSATZ.....	54
4.3.	INFEKTIONSRSIKEN IM ANÄSTHESIOLOGISCHEN ALLTAG	55
4.4.	FINANZIELLE KONSEQUENZEN NOSOKOMIALER INFEKTIONEN	58
4.5.	KONTAMINATIONSSICHERHEIT DER GÄNGIGEN VERFAHREN	59
5.	ZUSAMMENFASSUNG.....	63
6.	ANMERKUNGEN	65
7.	LITERATURVERZEICHNIS.....	66
8.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	80
9.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	81

10. TABELLENVERZEICHNIS..... 82

1. Einleitung

Der Kostendruck in der Medizin steigt kontinuierlich an. Dabei wird es zunehmend zum Bestandteil ärztlichen Arbeitens, die Kosteneffizienz der Patientenversorgung durch Optimierung von Arbeitsabläufen und bessere Ressourcennutzung zu steigern. Dies beinhaltet häufig eine Abwägung zwischen der Wirksamkeit und der Finanzierbarkeit verschiedener Therapiekonzepte (Smith 2003, Mason 2008).

1.1. Einsparpotential in der Anästhesie

In anästhesiologischen Abteilungen repräsentieren die Medikamentenkosten einen wesentlichen Anteil der Sachkosten, was eine kritische Betrachtung des Umgangs mit den oftmals kostspieligen Substanzen rechtfertigt. Eine effizientere Verwendung dieser Ressourcen könnte zu relevanten Kosteneinsparungen führen (Weinger 2001).

Gillerman und Browning veröffentlichten im Jahr 2000 eine Studie, nach der in der anästhesiologischen Abteilung des Rhode Island Hospital (Providence, Rhode Island) innerhalb eines Jahres Kosten in Höhe einer Gesamtsumme von 165.667 US-Dollar (entsprechend 26% der Gesamtausgaben der Abteilung für Medikamente) nur durch den Verwurf von Medikamentenresten entstanden waren. Meist hatte es sich hierbei um Medikamentenreste in noch ganz oder teilweise gefüllten Spritzen gehandelt, welche am Ende einer Prozedur dem Abfall zugeführt wurden. Ein Anteil von 48,8% der verlorenen Gelder (80.863 US-Dollar) und damit 12,6% der Gesamtausgaben für Medikamente entstand dabei ausschließlich durch die Entsorgung ungenutzter Reste des Hypnotikums Propofol.

1.2. Infektiöse Potenz von Propofol

Bei Propofol (z. B. Disoprivan®, AstraZeneca) handelt es sich um das Medikament der ersten Wahl zur Induktion und Aufrechterhaltung der Hypnose in der total-intravenösen Anästhesie. Als solches findet es eine breite Anwendung sowohl im stationären, als auch im ambulanten Bereich der Anästhesie. Aufgrund anaphylaktischer Reaktionen, welche in den ersten Jahren seines

Einsatzes beschrieben wurden (Briggs et al. 1982), wird es heute als besser verträgliche Emulsionslösung in Sojabohnenöl vertrieben.

Aufgrund verschiedener Berichte über eine hohe infektiöse Potenz dieser lipidhaltigen Darreichungsform (Thomas 1991, Tessler et al. 1992, Sosis und Braverman 1993, Berry et al. 1993) und damit verbundenen postoperativen Infektionen (Carr et al. 1990, Veber et al. 1994) wurden durch den Hersteller in der Gebrauchsinformation genaue Empfehlungen für den Umgang mit dem Medikament formuliert. Diese beinhalten einerseits Anweisungen zum aseptischen Umgang mit Propofol, andererseits verlangen sie die konsequente Vernichtung von Medikamentenresten. Es wird besonders betont, dass der Inhalt einer Infusionsflasche sowie das Infusionssystem zur einmaligen Anwendung an nur einem Patienten bestimmt sind (Disoprivan® 2% Gebrauchsinformation; AstraZeneca GmbH; Wedel 09/2001). Zum hygienisch einwandfreien Umgang mit Kathetermaterialien und lipidhaltigen Infusionslösungen finden sich zudem genaue Empfehlungen des Robert-Koch-Institutes (Bundesgesundheitsblatt 2002). Speziell zu den bei der Anwendung von Propofol zu beachtenden und arzneimittelrechtlich relevanten Vorgaben finden sich darüber hinaus Empfehlungen der kassenärztlichen Vereinigung Bayern (Bader 2005). Eine strikte Umsetzung dieser Empfehlungen bedeutet, dass in Situationen, in denen deutlich geringere Substanzmengen benötigt werden, als sich in einer Ampulle befinden (z.B. regelhaft in der Pädiatrie), der relativ große Rest, der dabei verbleibt, nicht für Folgepatienten genutzt werden darf, sondern verworfen werden muss (Strauss und Giest 2003).

1.3. Einsatz von TIVA-Narkosen

Die total-intravenöse Narkoseführung (TIVA) mit Propofol hat einige Vorteile gegenüber der konventionellen Anästhesie mit volatilen Anästhetika. So zeichnet sie sich durch kürzere Aufwachzeiten und eine höhere hämodynamische Stabilität aus, und auch unerwünschte Nebenwirkungen wie postoperative Übelkeit und Erbrechen traten seltener auf (Juckenhöfel et al. 1999, Phillips et al. 1996, Ozkose et al. 2001). Aus diesen Vorteilen resultierte neben einer großen Akzeptanz des Anästhesieverfahrens durch die Patienten auch ein finanzielles Einsparungspotential durch erzielbare

Ablaufoptimierungen, z.B. in Bezug auf Raumnutzung und kürzere Liegezeiten (Juckenhöfel et al. 1999, Kubitz et al. 2001). In der Versorgung pädiatrischer Patienten entwickelt sich die total-intravenöse Anästhesie mit Propofol zunehmend zum Standardverfahren (Strauss und Giest 2003).

Den zahlreichen Vorteilen der total-intravenösen Anästhesie stehen ihre im Vergleich zur konventionellen Gas-Narkose höheren Sachkosten gegenüber, welche neben den geringfügig höheren Anschaffungskosten insbesondere durch den ineffizienten Gebrauch der Medikamente verursacht werden (Gillerman und Browning 2000, Eberhart et al. 2002). Gerade im Rahmen kurzer chirurgischer Eingriffe im stationären wie auch im ambulanten Bereich hat der Anteil von TIVA-Narkosen dennoch weiter zugenommen (Smith et al. 1999).

1.4. Umgang mit Einwegmaterialien und Medikamentenresten

Umfragen unter Anästhesisten in Großbritannien und den USA zeigten, dass es zur gängigen Praxis in der anästhesiologischen Arbeit gehört, Materialien und Medikamentenreste, welche nur für die Benutzung an einem Patienten zugelassen sind, weiterzuverwenden, um so Kosten einzusparen (El Mikatti et al. 1999, Kempen 1989 b, Halkes und Snow 2003)

Dass ein solches Vorgehen mit dem Risiko einer Material- und Medikamentenkontamination und damit einer nicht unwesentlichen Gefahr von Kreuzinfektionen (Infektionsübertragung) zwischen aufeinanderfolgenden Patienten verbunden sein könnte, wurde durch zahlreiche Untersuchungen belegt (Hughes 1946, Olivier et al. 2003, Germain et al. 2005)

Die Gefahr solcher Kreuzinfektionen sollte nicht unterschätzt werden, da die resultierenden finanziellen und rechtlichen Konsequenzen kaum durch Kosteneinsparungen zu rechtfertigen sind.

Um solchen Vorkommnissen vorzubeugen, werden neue Materialien und Verfahren entwickelt, welche das Risiko für derartige Infektionen senken sollen, ohne die Kosteneffizienz der Arbeit zu beeinträchtigen (Olivier et al. 2003, Pascual 2002, Danese 2002, Frank et al. 2003, Leon et al. 2003).

In der anästhesiologischen Abteilung des Göttinger Universitätsklinikums wurde ein Infusionsbesteck entwickelt, welches durch seine Konfiguration ein hohes Maß an Kontaminationssicherheit bieten soll. Es wurden Rückschlagventile an verschiedenen Stellen eines den speziellen Anforderungen von TIVA-Narkosen angepassten Systems von Infusionsleitungen eingebracht (Radke 2003). Die gewählte Konfiguration soll das Risiko von Kreuzinfektionen bei gängiger Praxis vermeiden, um so eventuell die Weiterverwendung von Medikamentenresten für weitere Patienten zu ermöglichen.

1.5. Das TIVA-Set

Bei der Narkoseführung mittels TIVA werden neben einer Basisinfusion (üblicherweise kristalloide Elektrolytlösungen) das Medikament Propofol sowie ein Opiat verabreicht. Wegen seiner relativ kurzen Halbwertszeit wird Propofol dabei, außer bei sehr kurzen Eingriffen, kontinuierlich mittels einer Spritzenpumpe appliziert, um einen gleichmäßigen Plasmaspiegel des Hypnotikums zu gewährleisten. Auch das Analgetikum, in der Praxis meist ein Opiat, wird häufig kontinuierlich appliziert. Dies ist besonders wichtig beim Einsatz von Remifentanyl, das eine extrem kurze Halbwertszeit von nur 3-4 Minuten hat und daher für wiederholte Bolusapplikationen kaum geeignet ist.

Da die TIVA besonders häufig bei kleineren und ambulanten Eingriffen eingesetzt wird, bei denen oft keine großen Flüssigkeitsumsätze zu erwarten sind (z.B. Augenoperationen, diagnostische Laparatomien in der Gynäkologie, Handchirurgie), müssen die drei Flüssigkeiten Basisinfusion, Propofol und Opiat gemeinsam über einen einzigen venösen Zugang verabreicht werden. Um dies zu vereinfachen, wurde in der Anästhesieabteilung des Göttinger Uniklinikums ein spezielles TIVA-Infusionssystem („TIVA-Set“) entwickelt.

Das im Göttinger Universitätsklinikum entwickelte TIVA-Set ist ein vorkonfiguriertes Einmalprodukt, welches aus einem Doppel-T-Stück und zwei seitlich damit fest verbundenen, je 2 m langen Perfusorschläuchen besteht. Das Doppel-T-Stück verbindet die Infusionsleitung der Basisinfusion mit dem venösen Zugang des Patienten (s. Abbildung 1).

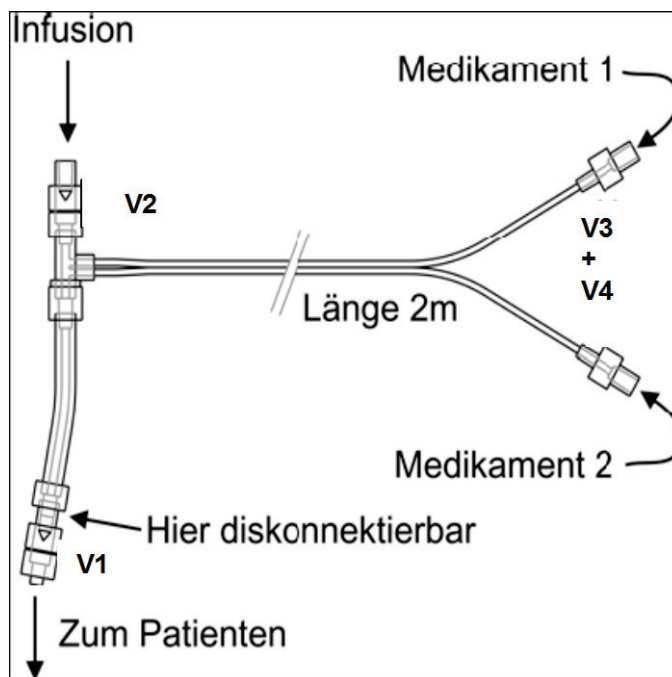


Abbildung 1: Schematische Darstellung des TIVA-Sets (Abbildung aus Radke 2003, S. 788), Erläuterung s. Text

Das TIVA-Set ist sofort einsatzbereit und bedarf in der Anwendung keiner weiteren Vorbereitung, wie bei anderen Infusionssystemen notwendig. Es werden bis auf das Infusionssystem der Basisinfusion auch keine zusätzlichen Materialien benötigt, wodurch sowohl Kosten als auch Abfall reduziert werden. Darüberhinaus soll durch möglichst wenig Manipulation an Konnektionsstellen einer exogenen Kontamination des Lumeninhalts, z.B. durch Hautkeime des Benutzers, entgegengewirkt werden. In das Set sind insgesamt vier Rückschlagventile fest integriert (markiert mit V1-V4, s. Abbildung 1). Die Kombination von langen Perfusorschläuchen, kalkuliert eingebrachten Rückschlagventilen und der damit verbundenen Flüssigkeitssäule im System, selbst beim Stillstand der Perfusoren, soll die Wahrscheinlichkeit retrograder Flüsse minimieren und so eine hohe Kontaminationssicherheit ermöglichen.

In der Konfiguration des Göttinger TIVA-Sets wurden zwei unterschiedliche Arten von Rückschlagventilen eingesetzt: hämodynamische und hämostatische Rückschlagventile (s. Abbildung 2).



Abbildung 2: Darstellung der verwendeten Rückschlagventile (links hämodynamisches, rechts hämostatisches Ventil)

Für die Konnektionsstellen im Hauptinfusionsweg zum venösen Patientenzugang (V_1) und zur Basis-Infusion (V_2) werden im TIVA-Set hämodynamische Rückschlagventile verwendet. Hämodynamische Ventile sind offen, solange ein antegrader Fluss stattfindet; sie schließen erst, wenn durch Flussumkehr ein retrograder Druck aufgebaut wird. Dafür erlauben diese Ventile hohe antegrade Flussraten, da sie keine relevante Widerstandserhöhung im System verursachen. Dies ist z.B. dann wichtig, wenn während einer Allgemeinanästhesie bei Hypotonie aufgrund von Hypovolämie die rasche intravenöse Gabe von Flüssigkeit notwendig ist. Deshalb sind diese Ventile im Hauptinfusionsweg eingebracht.

Das patientennahe Ventil (V_1) soll nicht nur als erster Schutz gegen eine retrograde Kontamination mit Keimen dienen, sondern es erlaubt auch eine Diskonnektion des übrigen Systems vom venösen Zugang des Patienten, z.B. zum Umlagern des Patienten.

Das zweite Ventil (V_2), an dem die Basisinfusion angeschlossen wird, soll zunächst einmal einen Rückstau der über die Spritzenpumpen applizierten Me-

dikamente in die Basisinfusion verhindern. Dieser Rückstau kann auftreten, wenn die Basisinfusion leergelaufen ist und die Kristalloidlösung die Medikamente nicht mehr zum Patienten transportieren kann, oder wenn der venöse Druck im Infusionsarm über den von der Wassersäule aufgebauten hydrostatischen Druck steigt. Dies passiert regelmäßig dann, wenn Blutdruckmessung und Infusion am selben Arm stattfinden müssen, z.B. bei Eingriffen am kontralateralen Arm.

Neben der Vermeidung von retrogradem Medikamentenfluss wurde bei der Entwicklung des TIVA-Sets angenommen, dass die Kombination der beiden in Reihe geschalteten Ventile V_1 und V_2 auch den Schutz vor retrograder Kontamination durch Patientenblut vermindert, da durch die nicht komprimierbare Flüssigkeitssäule zwischen den beiden Ventilen auch bei einer Fehlfunktion von Ventil V_1 ein rückwärtsgerichteter Fluss in das TIVA-Set durch Ventil V_2 verhindert werden kann.

An den patientenfernen Enden der Perfusorschläuche befindet sich je ein hämostatisches, sogenanntes „Entenschnabelventil“ (V_3 und V_4). Das Ventilgehäuse besteht aus fettresistentem Co-Polyester, das Ventil selbst aus Silikon. Das Co-Polyester erhält dem Ventil durch seine Fettresistenz seine Reißfestigkeit und Dichtigkeit, was Leckagen und Haarrisse selbst unter Langzeiteinwirkung lipidhaltiger Medikamente verhindert. Solche Haarrisse, die nach einiger Zeit zu Leckagen von Infusionssystemen führen, wurden am Universitätsklinikum Göttingen wiederholt beobachtet, wenn herkömmliche Drei-Wege-Hähne benutzt wurden, um dem Hauptinfusionsweg das fetthaltige Propofol beizumischen.

Der wesentliche Unterschied zu den im Hauptinfusionsweg eingesetzten hämodynamischen Ventilen ist, dass die hämostatischen Ventile bei zu geringem *anterograden* Druck selbsttätig schließen und nicht wie die hämodynamischen Ventile einen *retrograden* Gegendruck zum Schließen brauchen. Öffnungs- und Schlussdruck der hämostatischen Ventile liegen unter 30 cm H₂O (entsprechend 22 mmHg). Die Ventile schließen damit sicherer, lassen aber bauartbedingt nur eine geringere Flussrate von ca. 100 ml/min zu. Aufgrund der im Vergleich mit der Basisinfusion langsamen Flussge-

schwindigkeiten der Medikamente bereitet dies selbst bei der Verabreichung von Medikamentenboli keine Probleme.

1.6. Fragestellung und Ziel dieser Arbeit

Die vorliegende Untersuchung soll zeigen, ob die Konfiguration des Göttinger TIVA-Sets die Kontamination der Medikamente in den Perfusorspritzen mit aufsteigenden Mikroorganismen aus dem Patientenblut verhindern kann.

Da es im klinischen Alltag nicht möglich ist, für Routine-Narkosen eine große Zahl infizierter Patienten mit standardisierter, hoher Keimzahl im Blut zu untersuchen, sollte zunächst ein Labormodell eines infizierten Patienten entwickelt und evaluiert werden. Mit diesem kontaminierten „Patientenmodell“ sollte dann unter möglichst praxisnahen Bedingungen eine TIVA-Narkose simuliert werden. Nach fünfstündiger Infusionsdauer mit kliniküblichen Medikamenten sollte dann mittels mikrobiologischer Kulturmethoden überprüft werden, ob unter Verwendung des TIVA-Sets die Sterilität der im Infusionssystem und den Perfusorspritzen verbleibenden Medikamentenreste erhalten bleibt.

2. Material und Methoden

2.1. Mikroorganismen

Bei den eingesetzten Bakterien und dem Bakteriophagen handelt es sich um klinische Isolate des Instituts für Medizinische Mikrobiologie der Universitätsmedizin Göttingen:

- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Proteus mirabilis*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Escherichia coli*
- *Bacillus subtilis*
- *Escherichia coli* Stamm B14
- DNA-Phage T3 (*Escherichia-coli*-Bakteriophage).

Die Lagerung der Bakterien erfolgte auf Blutagarplatten, mit wöchentlicher Übertragung auf frische Nährböden. Die Lagerung des Bakteriophagen erfolgte nach Anzucht in einer *E. coli* B14-Vorkultur und Filtration in Glucosebouillon portioniert bei -27°C .

2.2. Chemikalien

- Softasept® N, alkoholisches Desinfektionsmittel (B. Braun, Melsungen).

2.3. Medikamente

- Jonosteril® Infusionslösung (500 ml; Fresenius Kabi, Bad Homburg)
- Disoprivan® 2% (50 ml, Wirkstoff: Propofol; AstraZeneca, Wedel).

2.4. Geräte und Verbrauchsmaterialien

- Densimat (BioMérieux, Nürtingen)
- Perfusor® compact, Perfusor® compact S, Infusomat® fmS, fm controller, fm computer (B. Braun, Melsungen)
- 10 µl Pipette Reference (Eppendorf, Hamburg)
- 200 µl Pipette (Gilson, Middleton, USA)
- 1000 µl Pipette 5 DG2-1000 (Nichiryō Co. Ltd, Tokyo, Japan)

- Vortex REAX 1 (Heidolph Instruments, Schwabach)
- IKAMAG® RCT basic Magnetrührer, Stativstab H16V, IKATRON ETS-D4 fuzzy, Standardfühler H62 (270 mm) (IKA Labortechnik, Staufen)
- Lichtmikroskop (Leica DM R)
- Pasteurpipetten, Glas (230 mm; Brand, Wertheim)
- Infusomat®-Leitung Standard, Perfusor®-Spritze OPS Luer Lock (50 ml) (B. Braun, Melsungen)
- Membran-Spritzenfilter (0,45 µm; Corning, New York, USA)
- Membranfilter 500 ml (0,45 µm; Corning, New York, USA)
- Pipettenspitzen, Automatic-Sarpette Pipettierhilfe, Impfschlingen (1 µl) (Sarstedt, Nümbrecht)
- Kliniject-V Venenverweilkanüle G16 (Ø 1,8 x 45 mm; Klinika, Usingen)
- TIVA-Set 2001 (Smith Medical International, Watford, Großbritannien, ehem. Medex medical, Rossendale, Großbritannien)
- Erlenmeyerkolben, „Patientenmodell“, Spezialanfertigung (Glasbläserei Rettberg, Göttingen).

2.5. Nährmedium zur Bakterienkultur

Die Glucose-Bouillon stammte aus der Nährbodenküche des Instituts für medizinische Mikrobiologie.

Für die Herstellung wurden

- 10,0 g Pepton aus Fleisch
- 5,0 g NaCl
- 10 g Fleischextrakt, trocken sowie
- 10 g Glucose

in 1 Liter Aqua bidest. gelöst und autoklaviert. Der pH-Wert betrug nach dem Autoklavieren pH 7,3

2.6. Nährböden zur Bakterienkultur

Die Blutagarplatten stammten aus der Nährbodenküche des Instituts für medizinische Mikrobiologie. Die Rezeptur gilt für die Herstellung von 1 Liter:

- 15,33 g Agar-Agar
- 10,0 g Pepton aus Casein
- 10,0 g Fleischextrakt, trocken
- 5,67 g NaCl
- 70,0 ml Hammelblut.

Die Zutaten wurden in einem Liter Aqua bidest. gelöst und bei 121°C 20 Minuten autoklaviert. Der pH-Wert betrug bei 45°C pH 7,3.

Die Müller-Hinton-Agar-Platten stammten ebenfalls aus der Nährbodenküche des Instituts für medizinische Mikrobiologie. Für die Herstellung von einem Liter wurden benötigt:

- 17,0 g Agar-Agar
- 17,5 g Pepton aus Casein
- 2 g Fleischextrakt, trocken
- 1,5 g Stärke.

Nach der Lösung der Zutaten in einem Liter Aqua bidest wurde die Mischung für 15 Minuten bei 121°C autoklaviert. Der pH-Wert betrug bei 25°C pH 7,3.

Auch die Brolacin-Agar-Platten stammten aus der Nährbodenküche des Instituts für medizinische Mikrobiologie. Für die Herstellung von einem Liter wurden hierbei verwendet:

- 12,2 g Agar-Agar
- 3,0 g Pepton aus Casein
- 3,0 g Fleischpepton
- 3,0 g Fleischextrakt
- 2,0 g Hydrolysat aus Casein
- 1,0 g Hefeextrakt
- 10,0 g Laktose

- 0,128 g L-Cystin
- 0,02 g Bromthymolblau.

Nach der Lösung der Zutaten in einem Liter Aqua bidest. wurde die Mischung für 15 Minuten bei 121°C autoklaviert. Der pH-Wert betrug bei 25°C pH 7,4.

2.7. Bestimmung der Bakterienkonzentration

Die Bakterienkonzentration bzw. der Virusgehalt der Bouillon wurde auf der Basis der Herstellung einer dekadischen Verdünnungsreihe bestimmt. Dazu wurden 100 µl der Stammsuspension im Verhältnis 1:10 mit steriler Glucose - Bouillon gemischt. Dieser Vorgang wurde über 7 weitere Verdünnungsstufen fortgesetzt (max. Verdünnung: 1:10⁸). Von jeder Stufe wurden 100 µl auf einer Blut-Agarplatte ausgespatelt. Die Platten wurden 24 Stunden bei 37°C bebrütet.



Abbildung 3: Durchführung einer Verdünnungsreihe am Beispiel von *S. epidermidis*. Dargestellt sind hierbei die Verdünnungsstufen 1:10⁴ bis 1:10⁷ (von links nach rechts), wobei nur in den drei höheren Stufen Einzelkolonien auszählbar waren.

Die Auswertung der Platten erfolgte durch Auszählung von gewachsenen Einzelkolonien. Es wurden dabei diejenigen Verdünnungsstufen ausgewertet, bei denen auf den Platten ausschließlich Einzelkolonien der Bakterien gewachsen

waren. Die Bakterienkonzentration (K) in der Ausgangslösung wurde wie folgt bestimmt:

$$K \text{ [KBE} \cdot \text{ml}^{-1}] =$$

$$\text{Anzahl der gewachsenen Kolonien} \cdot \text{Verdünnungsfaktor} \cdot 10 \cdot \text{ml}^{-1}$$

Im Fall von *Proteus mirabilis* zeigt sich als Besonderheit das charakteristische Schwärmphänomen als Ausdruck der hohen Beweglichkeit des begeißelten Bakteriums. Da aufgrund dieses Phänomens eine Auszählung einzelner Bakterienkolonien zur Konzentrationsbestimmung auf Blutagar nicht möglich war, wurden abweichend von den Versuchen mit den übrigen Bakterien die Proben aus den Verdünnungsreihen (aus der Bakterienkultur im „Patientenmodell“) auf Brolacin-Agar aufgebracht. Dieser spezielle Nährboden verhindert durch seinen geringen Gehalt an Elektrolyten das Schwärmverhalten von Proteus-Species. Die Auswertung der Kontaminationsproben aus TIVA-Set und Perfusorspritzen erfolgte wie bei allen Versuchen auf Blutagar.

2.8. Prinzip des Virennachweises

Um zusätzlich zur bakteriologischen Untersuchung eine exemplarische Überprüfung des Schlauchsystems auf eine potentielle Kontamination durch Viren zu ermöglichen, war die Entwicklung einer zusätzlichen Methodik notwendig. Als Modellorganismus wurde hierbei ein Bakterienvirus (*Bakteriophage T3*) eingesetzt, der über seine spezifische Lysis des *E. coli*-Stammes *B14* nachzuweisen war.

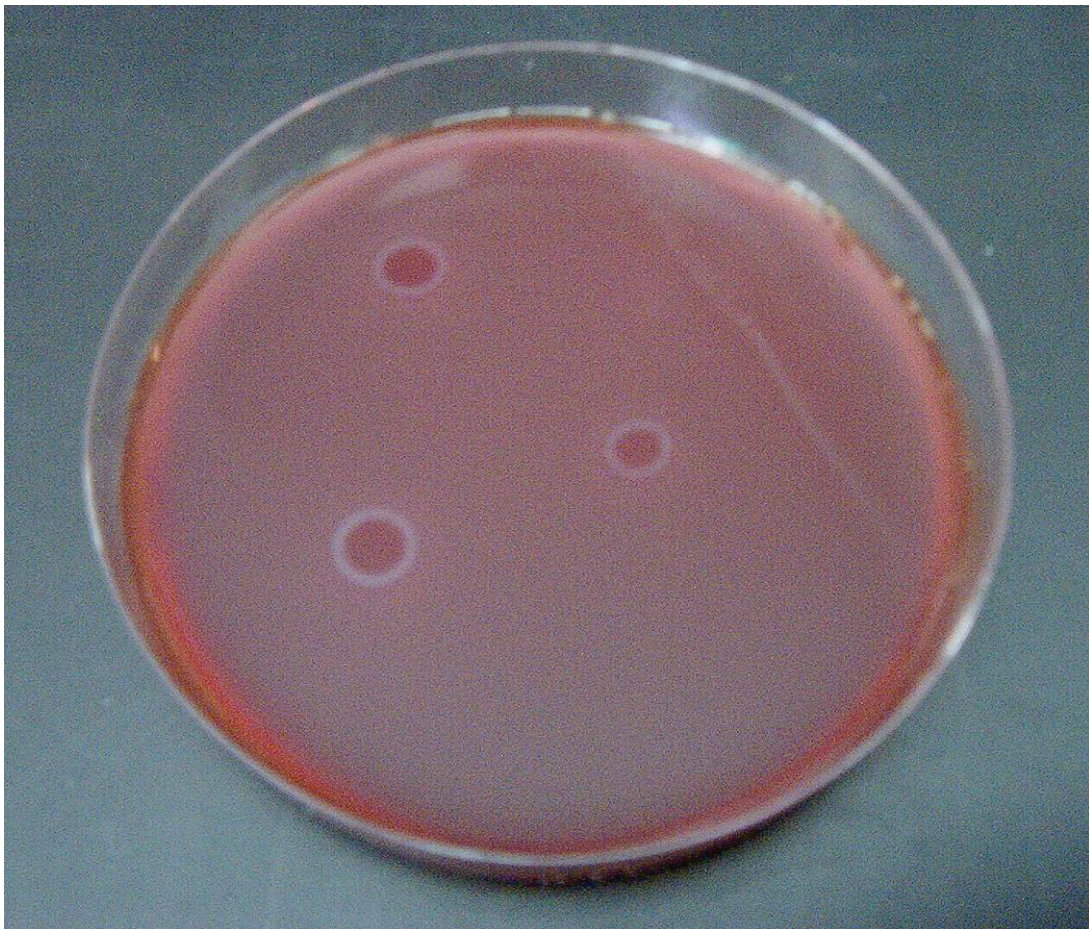


Abbildung 4: Plaques auf einer mit *E. coli*-B14 bewachsenen Blutagarplatte nach Aufimpfen des DNA-Phagen T3 an drei Stellen.

2.8.1. Bestimmung des Virengehalts

Um die Virenkonzentration in der Bouillon zu ermitteln, wurde eine Probe der Kultur filtriert und mit dem Filtrat dann wie in Kapitel 2.7 (S. 18) beschrieben eine Verdünnungsreihe durchgeführt. Von jeder Verdünnungsstufe wurden 20 Tropfen à 5 µl (Gesamtmenge: 100 µl) auf eine mit *E. coli* B14 überspülte

Müller-Hinton-Platte pipettiert und die Platten dann bei 37°C für 24 Stunden inkubiert.

Während in den niedrigen Verdünnungsstufen größere konfluierende Plaques (s. Abbildung 4) zu sehen waren, konnte man bei höherer Verdünnung einzelne, sehr kleine Plaques im Bakterienrasen auszählen, was eine Berechnung der Virenkonzentration nach derselben Formel wie für die Bakterien möglich machte.

2.9. Vorkulturen

2.9.1. Vorkultur der Bakterien

Am Abend vor jedem Versuch wurden 10-15 Kolonien des jeweiligen Bakteriums mit einer Metall-Impföse in 500 ml Glucose-Bouillon überführt, ein steriler Magnetrührstab hinzugefügt und für 12-14 Stunden unter ständiger Durchmischung bei 37°C inkubiert. Unmittelbar vor Versuchsbeginn erfolgte die photometrische Bestimmung der Bakterienkonzentration in der Vorkultur auf der Basis des McFarland-Standards. Hierbei wird die optische Dichte der Bakterienkultur bei einer Wellenlänge von 565 nm bestimmt, was einen orientierenden Rückschluss auf die Bakterienkonzentration zulässt. Zu Versuchsbeginn wurde die notwendige Menge der Vorkultur zu der sterilen Bouillon hinzugefügt, um in einer Gesamtmenge von 2.500 ml auf die angestrebte Keimkonzentration von ca. 10^7 KBE·ml⁻¹ zu kommen.

2.9.2. Vorkultur der Viren

Von 100 ml Vorkultur des *E. coli*-Stammes B14 wurden nach 12-stündiger Inkubation 20 ml in 480 ml sterile Glucose-Bouillon überführt (Verdünnung 1:25). Nach vier Stunden Bebrütung unter ständiger Durchmischung bei 37°C wurden 5 ml Phagensuspension hinzugegeben (Verdünnung 1:100) und noch einmal für weitere 5 Stunden inkubiert. Nach Filtration (Membranfilter 0,45 µm) wurde eine Verdünnungsreihe angelegt und auf vorbereiteten Müller-Hinton-Agarplatten die Viruskonzentration ermittelt (s. Kapitel 2.8.1, S.21). Das übrige Filtrat wurde in Portionen à 25 ml bei -27°C für die späteren Versuche gefroren gelagert.

2.10. Vorversuch: Einfluss von Propofol auf das Wachstum von Mikroorganismen

2.10.1. Einfluss auf das Wachstum von *B. subtilis* und *S. epidermidis*

Der Einfluss von Propofol auf das Wachstumsverhalten der verwendeten Bakterien wurde exemplarisch an *B. subtilis* und *S. epidermidis* geprüft. Zwei in ihrer bakteriellen Konzentration identischen Vorkulturen wurden je 2,5 ml Propofol oder 2,5 ml steriler Bouillon hinzugefügt, was dem Mischungsverhältnis am Ende eines normalen Versuches entsprach (Verhältnis Bouillon+Kochsalzlösung:Propofol=60:1). Die Ansätze wurden 5 Stunden bei 37°C unter ständiger Durchmischung inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit erfolgte die Bestimmung der bakteriellen Konzentration beider Ansätze (s. Kapitel 2.7, S. 18).

2.10.2. Einfluss auf das Viruswachstum

200 ml einer Vorkultur von *E. coli B14* wurden halbiert und mit je 1 ml Virus-suspension versetzt. Einem Teil wurden 5 ml Propofol hinzugefügt. Zum Nachweis des Virusgehalts wurden zum Beginn und nach Ende der Inkubationszeit von 5 Stunden je 5 ml aus der Kultur entnommen, filtriert (Membran-Spritzenfilter 0,45 µm) und als Verdünnungsreihe auf mit *E. coli-B14* überspülte Müller-Hinton-Agarplatten aufgetragen (s. Kapitel 2.8.1, S.21). Nach 24-stündiger Inkubation erfolgte die Auszählung der Plaques im Bakterienrasen zum Vergleich der Phagenkonzentration in den zwei Ansätzen.

2.11. Entwicklung eines experimentellen TIVA-Modells

Um die potentielle Weiterverwendbarkeit von Medikamentenresten aus den Perfusorspritzen zu testen, wurde das Modell eines kontaminierten Patienten entwickelt. Dieses Modell wurde mit hohen Konzentrationen von Keimen kontaminiert. Das TIVA-Set wurde an dieses Modell angeschlossen und dann die Durchführung einer fünfstündigen Narkose simuliert. Am Ende der definierten Laufzeit wurden aus verschiedenen Abschnitten des Schlauchsystems Proben entnommen. Dies erfolgte dabei aus „patientennahen“ und „patientenfernen“

Schlauchanteilen sowie aus den Perfusorspritzen. Die entnommenen Proben wurden dann im Dreifachansatz auf Kontamination geprüft.

2.11.1. Das „Patientenmodell“

Das für den geplanten Versuch entwickelte „Patientenmodell“ (s. Abbildung 5) sollte folgende Bedingungen erfüllen:

- Ca. 2,5 Liter „Blutvolumen“ (Bouillon)
- „Körpertemperatur“ von 37°C
- „peripher-venöser Blutdruck“ von 10-18 cm H₂O
- kontinuierlicher „Blutfluss“
- „venöser Zugang“ (Anschlussmöglichkeit für das TIVA-Set).

Zur Realisierung des Vorhabens wurde an die Basis eines Erlenmeyerkolbens mit einem Fassungsvermögen von drei Litern (ausreichend für „Blutvolumen“ und Zusatzvolumen durch Infusion) seitlich ein mit einer Gummimembran verschlossener Anschlussstutzen angebracht (Spezialanfertigung Glasbläserei Rettberg, Göttingen). Die Gummimembran wurde mit einer Venenverweilkanüle (16G, Fa. B.Braun, Melsungen) in das Modell eingebracht, wobei der Flüssigkeitsspiegel mit 2,5 l Bakterienkultur (zu Beginn eines Versuches) ca. 15 cm über der Punktionsstelle lag. Dadurch ergab sich ein simulierter „venöser Druck“ von 15 cm H₂O.

Ein beheizbarer Magnetrührer sicherte eine homogene Durchmischung des Kolbeninhalts und eine gleichbleibende Temperatur von 37°C über die gesamte Untersuchungsdauer. Die Temperatur wurde während des gesamten Versuchablaufes kontrolliert und die Heizleistung vom Magnetrührer automatisch nachgeregelt.



Abbildung 5: Das „Patientenmodell“

2.11.2. Vorbereitung der Flüssigkultur

Vor jedem Versuch wurde eine Vorkultur des gewünschten Bakteriums für 12 Stunden bei 37°C inkubiert. Unmittelbar vor Versuchsbeginn erfolgte eine Bestimmung der erreichten Keimkonzentration nach McFarland (s. Kapitel 2.9.1, S.22). Vor und nach jedem Versuch wurde die Keimbelastung in logarithmischen Verdünnungsreihen bestimmt (s. Kapitel 2.7, S. 19). Für jeden Versuch wurde ein frischer Kulturansatz der verwendeten Erreger verwendet, wodurch eine ausreichende Menge vitaler Keime garantiert wurde. Im Falle der bakteriellen Versuche wurde dabei mit einer minimalen Startkonzentration von 10^6 KFU/ml, im Virusversuch mit mindestens $2 \cdot 10^4$ PFU/ml gearbeitet.

2.11.3. Versuchsaufbau

Es wurde je eine Perfusorspritze mit physiologischer Kochsalzlösung und mit Propofol gefüllt, unter sterilen Bedingungen an ein TIVA-Set angeschlossen und in Spritzenpumpen eingelegt. Für die TIVA wird üblicherweise eine Opiatlösung in Kochsalzlösung (NaCl 0,9%) als Analgetikum eingesetzt. Da der Opiatanteil an der Lösung sehr gering und für unsere Fragestellung nicht von Bedeutung ist (keine erhöhte infektiöse Potenz gegenüber Kochsalzlösung allein), wurde darauf verzichtet.

An den Infusionsanschluss des TIVA-Sets wurden 500 ml NaCl (Jonosteril® Infusionslösung, Fresenius Kabi) über ein handelsübliches Infusionssystem angeschlossen, welches über einen Infusomaten lief, um die Tropfgeschwindigkeit regulieren zu können. Nachdem der Glaskolben den jeweiligen Testkeim in der Ausgangskonzentration enthielt, wurde eine Braunüle durch die Gummimembran punktiert und das TIVA-Set konnektiert (Gesamtaufbau s. Abbildung 6).



Abbildung 6: Der Gesamtaufbau des Versuches mit den Geräten fm computer (Monitor), fm controller mit Infusomaten und Perfusoren sowie dem „Patientenmodell“ (unten rechts)

2.11.4. Infusionsschema

Die Infusionsdauer war auf fünf Stunden angelegt. Während dieser Zeit waren sowohl der Infusomat als auch die Perfusoren für je eine halbe Stunde gestoppt, um so typische Szenarien aus der täglichen Routine zu simulieren.

Um für alle Versuchsdurchläufe identische Infusionszeiten zu gewährleisten, erfolgte die Steuerung sämtlicher Geräte durch einen programmierbaren Mikroprozessor, den fm controller (B.Braun).

Tabelle 1: Angewandtes Infusionsschema

	<i>Dauer [min]</i>	<i>Infusionsrate Infusomat (Gesamtmenge 500 ml) [ml · h⁻¹]</i>	<i>Infusionsrate Perfusoren (Gesamtmenge je 50 ml) [ml · h⁻¹]</i>
„Vor Narkosebeginn“	30	100	0
„Während Narkose I“	120	100	10
„Infus. unterbrochen“	30	0	10
„Während Narkose II“	120	100	10

2.11.5. Probenentnahme und Auswertung

Nach Ablauf der Infusionszeit wurde zur Bestimmung der Endkonzentration der Bakterienkultur im Kolben eine Probe als Verdünnungsreihe ausplattiert (vgl. Kapitel 2.7, S. 19).

Aus fünf definierten Stellen des TIVA-Sets (s. Abbildung 7) wurden nach sorgfältiger Alkoholdesinfektion der äußeren Oberflächen Flüssigkeitsproben von je etwa 400-500 µl entnommen:

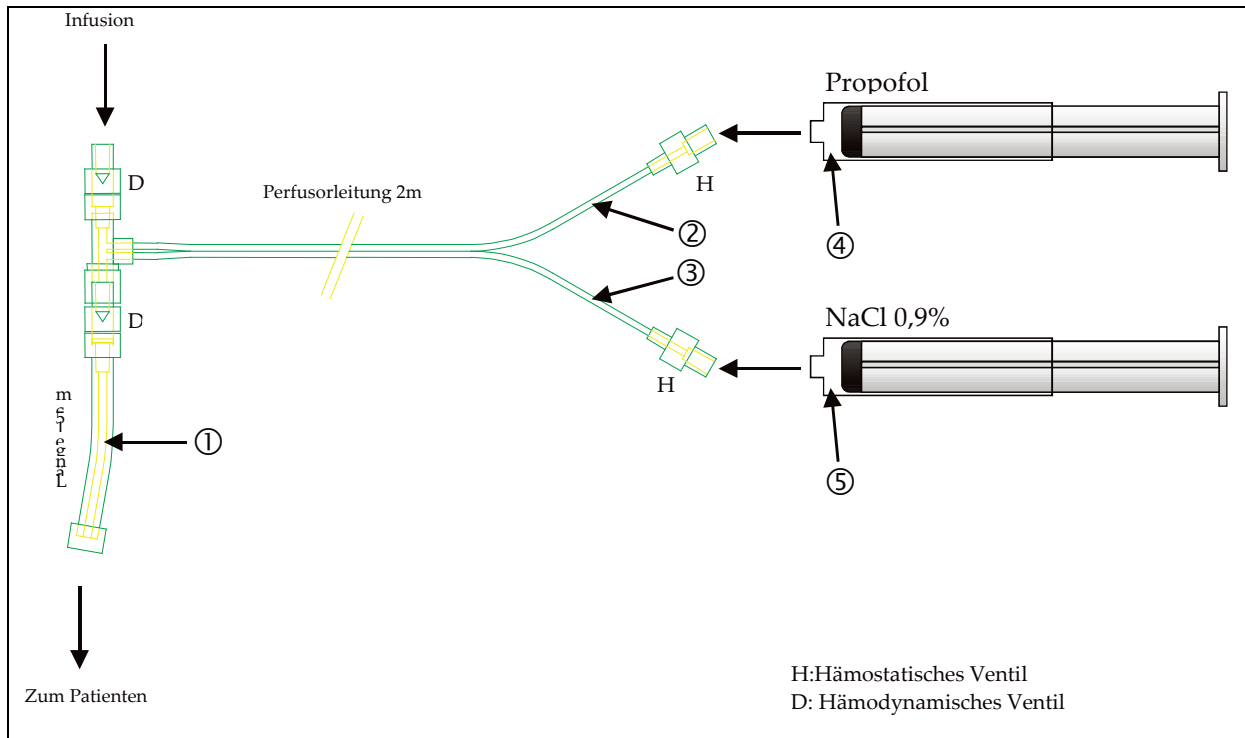


Abbildung 7: Schematischer Aufbau des TIVA-Sets mit Kennzeichnung der Entnahmestellen für die Medikamentenproben (①-⑤)

- Das endständige Schlauchstück ① wurde vom patientennahen Rückschlagventil diskonnektiert, die Probenentnahme erfolgte dann aus dem diskonnektierten Ende der Leitung.
- Die beiden Schenkel des TIVA-Sets (② und ③) wurden zur Probenentnahme jeweils kurz vor ihrem Zusammenfluss nach äußerlicher Desinfektion mit einer sterilen Schere durchtrennt.
- Die letzte Probenentnahme erfolgte aus beiden Perfusorspritzen (④ und ⑤) nach Diskonnektion vom TIVA-Set.

Von den so gewonnenen Medikamentenproben aus dem System wurden je drei Proben à 100 µl unverdünnt auf Hammelblutagarplatten ausplattiert und bei 37°C für 24 Stunden bebrütet. Danach erfolgte die visuelle Auswertung auf Keimwachstum.

2.11.6. Variationen beim Nachweis von Viren im System

Versuchsablauf

Der Ablauf des Virus-Versuches war weitgehend identisch mit dem Ansatz der Vorkultur. 100 ml der *E. coli*-Übernachtskultur (*Stamm B14*) wurden im Ver-

suchsgefäß im Verhältnis 1:25 mit neuer Bouillon verdünnt und nach 4-stündiger Inkubation 25 ml Virussuspension hinzugegeben. Beim übrigen Versuchsablauf einschließlich Probenentnahme gab es keinen Unterschied zum Bakterienversuch.

Auswertung und Virennachweis im TIVA-Set

Der Nachweis von Viren aus der Ursprungsbouillon bzw. potentiell kontaminierenden Viren, die sich in Flüssigkeitsproben aus dem TIVA-Set befanden, wurde folgendermaßen durchgeführt:

Von einer Verdünnungsreihe der filtrierten Bouillonproben (Membranfilter, 0,45 µm) und von den unverdünnten Flüssigkeitsproben aus dem TIVA-Set wurden jeweils 20 Tropfen à 5 µl (insgesamt je 100 µl) auf mit einer E. coli B14-Flüssigkultur überspülte Müller-Hinton-Agar-Platten pipettiert (Pipette 0,5-10 µl). Anschließend wurden die Platten für 24 Stunden bei 37°C bebrütet.

2.12. Allgemeine Hygienemaßnahmen zur Kontaminationsprophylaxe

Um während des gesamten Versuchsablaufes und insbesondere während der Probengewinnung und -weiterverarbeitung die Gefahr einer Kontamination (Hautkeime des Untersuchers, Luftkeime) zu verhindern, wurden folgende Maßnahmen getroffen:

- Die Untersucher trugen ständig Latexhandschuhe (unsteril), welche nach jedem Umgang mit möglicherweise kontaminiertem Material (Bouillon, Agarplatten, etc.) gewechselt wurden.
- Regelmäßige hygienische Händedesinfektion.
- Die Entnahme und das Auftragen der Flüssigkeitsproben auf Agarplatten geschah in allen Fällen unter Einhaltung eines Abstandes von ca. 50 cm von einer brennenden Bunsenbrennerflamme (Höhe etwa 30 cm), um eine Kontamination durch Luftkeime zu verhindern.
- Nach jedem Arbeitsschritt mit kontaminiertem Material erfolgte eine Desinfektion der Arbeitsflächen mit 70%igem Alkohol.

2.13. Statistische Auswertung

Die ermittelten Keimzahlen im „Patientenmodell“ wurden in koloniebildenden Einheiten (KBE) pro ml angegeben. Für jeden Versuchsdurchlauf wurde die Wachstumsrate als Quotient der Konzentration nach und vor dem Versuch errechnet:

$$\text{Wachstumsfaktor} = \frac{\text{Endkonzentration}}{\text{Startkonzentration}}$$

Pro Pathogen wurden die Mittelwerte \pm Standardabweichung der Konzentrationen und des Wachstumsfaktors errechnet. Mittels des T-Tests für verbundene Stichproben wurde überprüft, ob die Unterschiede in den Konzentrationen statistisch signifikant sind. Ein $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant definiert.

3. Ergebnisse

3.1. Vorversuch: Einfluss des verwendeten Propofol-Präparates auf das Wachstum von Mikroorganismen

3.1.1. Einfluss auf das Wachstum von *B. subtilis* und *S. epidermidis*

In einem Vorversuch wurde der Einfluss des von uns verwendeten Propofol-Präparates (Disoprivan[®], AstraZeneca) auf das Wachstum von zwei ausgewählten Hautkeimen orientierend untersucht (*S. epidermidis* und *B. subtilis*). Der methodische Ansatz dieses Versuches ist in Kapitel 2.10.1 dargestellt (S. 23). Auch hier wurde die Inkubationszeit so gewählt, dass die Bedingungen des eigentlichen „Patientenmodells“ (s. Kapitel 2.11.1, S. 24) übernommen wurden. Die Bakterienkonzentration in Gegenwart von Disoprivan[®] wurde zu Beginn und am Ende der Inkubationszeit bei beiden Erregern bestimmt. Zu beiden Testkeimen wurden außerdem unter gleichen Bedingungen Kontrollansätze in Abwesenheit von Propofol mitgeführt. Das Ergebnis ist in Tabelle 2 dargestellt. Es zeigte sich, dass Disoprivan[®] das Wachstum von *S. epidermidis* nicht wesentlich beeinflusste. Während sich im Kontrollansatz die Konzentration unter den gewählten Inkubationsbedingungen vervierfachte, beeinflusste die Gegenwart von Propofol das Wachstum von *S. epidermidis* um den Faktor 4,5.

Dagegen zeigte sich bei *B. subtilis* ein Ergebnis, das unerwartet war. Während sich in den durchgeführten Kontrollexperimenten das Wachstum von *B. subtilis* um den Faktor 54 bzw. 23 erhöhte, war die Konzentration des Keimes in Gegenwart von Disoprivan[®] im ersten Versuch nur um den Faktor 7 angestiegen, während es sich im zweiten Versuch nahezu konstant gehalten hatte. Aus diesem Grunde kam der Verdacht auf, dass das verwendete Propofol-Präparat das Wachstum dieses Keimes eher verzögerte. Daher wurde dieser Keim für die weiterführenden Testreihen ausgeschlossen.

Tabelle 2: Einfluss von Propofol auf das Wachstum von *B. subtilis* und *S. epidermidis* im Vorversuch

Bakterium	Ansatz	Anfangskonzentration (10^6 KBE · ml ⁻¹)	Endkonzentration (10^6 KBE · ml ⁻¹)	Faktor
<i>S. epidermidis</i>	Kontrolle 1	3,5	14,0	4,0
	+ Propofol 1	4,0	18,0	4,5
<i>B. subtilis</i>	Kontrolle 1	0,7	38,0	54,0
	+ Propofol 1	0,5	3,5	7,0
	Kontrolle 2	0,03	0,70	23,0
	+ Propofol 2	0,07	0,05	0,7

3.1.2. Einfluss von Propofol auf das Viruswachstum

Unter gleichen experimentellen Bedingungen wurde geprüft, ob Propofol einen Einfluss auf die Vermehrung von Viren ausüben könnte. Als „Testmikroorganismus“ wurde für diesen Versuch der *DNA-Bakteriophage T3* (Bakterienvirus) ausgewählt, der jedoch nur auf der Basis der Lysis seines Wirtsbakteriums *E. coli* Stamm *B14* nachgewiesen werden konnte. Dies führte zu einer Veränderung der experimentellen Bedingungen. Die genauen Details für den Nachweis der Viren auf der Basis der Lysis von *E. coli B14* sind in Abschnitt 2.8 dargelegt. Auch in diesem Experiment wurde die Bakteriophagenvermehrung in Gegenwart und Abwesenheit von Disoprivan® verglichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Es zeigte sich kein hemmender Einfluss von Propofol auf die Virusvermehrung.

Tabelle 3: Einfluss von Propofol auf das Phagenwachstum im Vorversuch

	Ausgangskonzentration (10^6 PFU · ml ⁻¹)	Endkonzentration (10^6 PFU · ml ⁻¹)	Faktor
Kontrolle	20	200	10
+ Propofol	20	320	16

PFU=Plaque Forming Units

3.2. Versuch: Überprüfung der Kontaminationsgefahr des TIVA-Sets durch Bakterien

3.2.1. *Staphylococcus aureus*

Wir strebten für *S. aureus* eine Ausgangskonzentration im modifizierten Erlenmeyerkolben von $10 \cdot 10^6$ Zellen·ml⁻¹ an. Die Bestimmung der Ausgangskonzentration in den 2,5 Litern Startkultur durch Auszählung der KBE in einer Verdünnungsreihe (s. Kapitel 2.7, S. 18) zeigte jedoch eine Schwankungsbreite, die im Bereich von $4 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ bis $20 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ lag (s. Tabelle 4). Nach fünfstündiger Inkubation war zu beobachten, dass die Konzentration von *S. aureus* im Testansatz im Mittel um den Faktor 10,4 gestiegen war. Der Anstieg der Bakterienkonzentration ist statistisch signifikant mit $p < 0,01$ (95% Konfidenzintervall 8,1 – 12,6). Es ist somit davon auszugehen, dass zumindest innerhalb der letzten Stunde des Versuchsablaufes eine Bakterienkonzentration im Kulturgefäß zu finden war, die sich in der Größenordnung von mindestens $50 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ bewegte.

Der Versuch mit *S. aureus* als Testkeim wurde insgesamt zwölfmal in unabhängigen Experimenten durchgeführt. Bei jedem Durchlauf wurden fünf Proben aus den Schlauchabschnitten 1-5 unverdünnt auf jeweils drei Blutagarplatten ausgestrichen (s. Kapitel 2.11.5, S. 28). Bei keinem dieser insgesamt 180 Ausstriche konnte ein Keimwachstum nachgewiesen werden.

Tabelle 4: Zusammenfassung der Versuchsreihen mit *S. aureus*

<i>Ausgangs- konzentration (10⁶ KBE·ml⁻¹)</i>	<i>End- konzentration (10⁶ KBE·ml⁻¹)</i>	<i>Zunahme (Faktor)</i>	<i>Proben (n)</i>	<i>nachgewiesene Kontamination (KBE)</i>
6	78	13,0	15	0
6	62	10,3	15	0
10	100	10,0	15	0
10	140	14,0	15	0
5	70	14,0	15	0
13	100	7,7	15	0
4	67	16,8	15	0
17	140	8,2	15	0
17	200	11,8	15	0
20	120	6,0	15	0
20	110	5,5	15	0
20	140	7,0	15	0
<i>Mittelwert ± Standardabweichung</i>			<i>Summe</i>	
12,3±6,3	110,6±4,0	10,4±3,6	180	0

3.2.2. *Staphylococcus epidermidis*

Die Tests mit *S. epidermidis* im „Patientenmodell“ zeigten, dass wir in allen acht unabhängig voneinander durchgeführten Testreihen eine sehr ähnliche

Ausgangskonzentration von ca. $9 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ erzielt hatten (s. Tabelle 5). Unter den experimentellen Bedingungen hatte sich innerhalb von fünf Stunden die Zellzahl im Mittel um den Faktor 3,6 erhöht ($p < 0,01$; 95% Konfidenzintervall: 1,5–5,7). Die Entnahme von Proben aus den zuvor definierten Entnahmestellen (1-5) des TIVA-Sets und die Ausplattierung des unverdünnten Materials auf insgesamt 120 Blutagarplatten ergab in keinem Fall den Nachweis bakteriellen Wachstums.

Tabelle 5: Zusammenfassung der Versuchsreihen mit *S. epidermidis*

<i>Ausgangs- konzentration ($10^6 \text{ KBE} \cdot \text{ml}^{-1}$)</i>	<i>End- konzentration ($10^6 \text{ KBE} \cdot \text{ml}^{-1}$)</i>	<i>Zunahme (Faktor)</i>	<i>Proben (n)</i>	<i>Nachgewiesene Kontamination (KBE)</i>
10	96	9,6	15	0
7	30	4,3	15	0
8	28	3,5	15	0
10	23	2,3	15	0
10	21	2,1	15	0
10	28	2,8	15	0
10	23	2,3	15	0
10	23	2,3	15	0
<i>Mittelwert ± Standardabweichung</i>			<i>Summe</i>	
9,4±1,2	34,0±25,2	3,6±2,5	120	0

3.2.3. *Escherichia coli*

Die Ausgangskonzentrationen von *E.coli* waren etwa fünfmal so hoch wie die Ausgangskonzentrationen von *S. aureus* und *S. epidermidis*. Am Ende der Inkubationszeit hatte sich die Bakterienkonzentration im Mittel weiterhin verfünffacht und lag stets über 10^8 KBE·ml⁻¹ (s. Tabelle 6).

Tabelle 6: Zusammenfassung der Versuchsreihen mit *E. coli*

<i>Ausgangs- konzentration (10⁶ KBE·ml⁻¹)</i>	<i>End- konzentration (10⁶ KBE·ml⁻¹)</i>	<i>Zunahme (Faktor)</i>	<i>Proben (n)</i>	<i>Nachgewiesene Kontamination (KBE)</i>
40	250	6,3	15	0
38	250	6,6	15	0
30	260	8,7	15	0
46	230	5,0	15	0
22	200	9,1	15	0
26	235	9,0	15	0
150	580	3,9	15	0
55	100	1,8	15	0
50	140	2,8	15	0
<i>Mittelwert ± Standardabweichung</i>			<i>Summe</i>	
50,7±38,8	249,4±135,4	5,9±2,7	135	0

Im Mittel waren die Keimzahlen im Versuchszeitraum um den Faktor 5,9 gestiegen ($p < 0,001$; 95% Konfidenzintervall 3,8–8,0). Die Überprüfung der Proben aus dem TIVA-Set zeigte, dass es in keinem der 135 Ausstriche aus den neun unabhängig voneinander durchgeführten Testreihen zu einer nachweisbaren bakteriellen Kontamination im Schlauchsystem gekommen war.

3.2.4. *Proteus mirabilis*

Bei den Versuchen mit *P. mirabilis* erzielten wir bei jedem Versuchsdurchgang eine Ausgangskonzentration von $1 \cdot 10^6$ Zellen·ml⁻¹. Am Ende des Versuchszeitraums hatte sich die Konzentration in der Kultur im Mittel um den Faktor 67,3 erhöht ($p < 0,001$; 95% Konfidenzintervall 56,5–78,2). Somit lagen am Ende der Inkubationszeit die Bakterienkonzentrationen im Bereich von $48 \cdot 10^6$ bis $93 \cdot 10^6$ KBE·ml⁻¹ (s. Tabelle 7). Die aus dem TIVA-Set entnommenen Proben wurden wie zuvor auf eine bakterielle Kontamination überprüft. Es konnte jedoch auch hier in keinem der neun unabhängig voneinander durchgeführten Testdurchläufe mit insgesamt 120 angesetzten Kulturen eine Kontamination mit *P. mirabilis* nachgewiesen werden.

Tabelle 7: Zusammenfassung der Versuchsreihen mit *Proteus mirabilis*

Ausgangs- konzentration (10^6 KBE·ml ⁻¹)	End- konzentration (10^6 KBE·ml ⁻¹)	Zunahme (Faktor)	Proben (n)	nachgewiesene Kontamination (KBE)
1	59	59	15	0
1	64	64	15	0
1	74	74	15	0
1	57	57	15	0
1	93	93	15	0
1	48	48	15	0
1	56	56	15	0
1	76	76	15	0
<i>Mittelwert ± Standardabweichung</i>			<i>Summe</i>	
1,0±0,0	67,3±14,2	67,3±14,2	120	0

3.2.5. *Pseudomonas aeruginosa*

In den Versuchsdurchläufen mit *Pseudomonas aeruginosa* vermehrten sich die Bakterien im „Patientenmodell“ im Mittel um den Faktor 1,4 ($p < 0,001$; 95% Konfidenzintervall 2,4–4,5). Die mittlere Keimkonzentration zu Beginn der Versuchsdurchläufe lag bei $20 \cdot 10^6$ KBE·ml⁻¹ und stieg auf gemittelte $66,6 \cdot 10^6$ KBE·ml⁻¹ an. Bei der Überprüfung der 135 Proben aus den definierten Entnahmestellen im TIVA-Set zeigte sich auch hier keine bakterielle Kontamination mit dem Erreger im „Patientenmodell“ (s. Tabelle 8).

Tabelle 8: Zusammenfassung der Versuchsreihen mit *Pseudomonas aeruginosa*

<i>Ausgangs- konzentration (10⁶ KBE·ml⁻¹)</i>	<i>End- konzentration (10⁶ KBE·ml⁻¹)</i>	<i>Zunahme (Faktor)</i>	<i>Proben (n)</i>	<i>Nachgewiesene Kontamination (KBE)</i>
20	73	3,7	15	0
13	89	6,8	15	0
25	70	2,8	15	0
17	62	3,6	15	0
24	71	3,0	15	0
19	68	3,6	15	0
25	49	2,0	15	0
23	66	2,9	15	0
20	51	2,6	15	0
<i>Mittelwert ± Standardabweichung</i>			<i>Summe</i>	
20,7±4,0	66,6±12,0	3,4±1,4	135	0

3.3. Überprüfung der Kontaminationsgefahr des TIVA-Sets durch Viren

In den ersten fünf durchgeführten Versuchsreihen wurde mit einem initialen Virusgehalt gearbeitet, der noch im Bereich einer Verdünnung von 1:2-3·10⁴ nachzuweisen war. Am Ende des Inkubationsintervalls hatte sich der Gehalt an Viren messbar vermehrt. Es wurden Vermehrungsfaktoren bestimmt, die im Bereich von 67-333 lagen. In einem zweiten Teil wurden vier unabhängige Experimente durchgeführt, in denen sich der initiale Virusgehalt im Mittel um

den Faktor 100 erhöhte. Bei der Auswertung der Experimente war zu beobachten, dass sich der Gehalt an Viren am Ende des Inkubationsintervalls um das 10-50fache erhöht hatte.

Zur Überprüfung des Schlauchsystems auf mögliche kontaminierende Viren wurden auch hier wiederum Proben aus den definierten Abschnitten 1-5 (s. Abbildung 7) entnommen und unverdünnt in das Verfahren zum Virusnachweis (s. Kapitel 2.11.6, S. 30) eingesetzt. In den Proben, die aus der ersten Testreihe mit fünf Versuchen entstammten, konnte in keinem Fall ein Virusnachweis geführt werden. Auch in der zweiten Testreihe, bei der der Endgehalt an Viren im Durchschnitt um den Faktor 20 höher gelegen hatte als am Ende der ersten Testreihe, war in den Proben 1-5 in keinem Fall ein Virusnachweis gelungen.

Tabelle 9: Zusammenfassung der Versuchsreihen mit dem Bakteriophagen

<i>Ausgangs- konzentration (10⁶ PFU·ml⁻¹)</i>	<i>End- konzentration (10⁶ PFU·ml⁻¹)</i>	<i>Zunahme (Faktor)</i>	<i>Proben (n)</i>	<i>Nachgewiesene Kontamination (PFU)</i>
0,02	2	100	15	0
0,03	3	100	15	0
0,03	10	333	15	0
0,03	2	67	15	0
0,02	3	150	15	0
4	40	10	15	0
4	100	25	15	0
2	100	50	15	0
2	80	40	15	0
<i>Mittelwert ± Standardabweichung</i>			<i>Summe</i>	
1,4±1,7	37,8±43,7	97,2±98,6	135	0

PFU=Plaque forming units. P=0,015

4. Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Konfiguration des Göttinger TIVA-Sets auf ihre Kontaminationssicherheit zu überprüfen. Unter möglichst realitätsnahen Bedingungen sollte am „Patientenmodell“ evaluiert werden, inwieweit dieses Infusionssystem den Anforderungen an Hygiene und Infektionssicherheit genügt, und ob so durch seine Verwendung eine kosteneffizientere Nutzung von Medikamenten vertretbar werden kann.

4.1. Validität des Modells

4.1.1. Auswahl der Mikroorganismen

Nosokomiale Infektionen sind ein zentrales Problem der modernen Medizin (Vincent et al. 1995). Für das Jahr 2006 bezifferte eine Studiengruppe um Gastmeier und Geffers die Häufigkeit nosokomialer Infektionen in Deutschland auf ca. 400.000-600.000 (Gastmeier und Geffers 2008). Insbesondere das zunehmende Auftreten antibiotika-resistenter Keime wie z.B. unterschiedlicher Stämme des Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) und multiresistenter Enterokokken bereitet dabei Probleme (von Eiff et al. 1997, Toniolo et al. 2006, Gastmeier und Geffers 2008, von Baum et al. 2010). Hospitalkeime stellen meist hohe Anforderungen an die Hygienemaßnahmen. Nicht selten fungieren Klinikmitarbeiter als Überträger von Krankheitserregern, sei es akut durch mangelnde Hygiene oder chronisch als Keimträger. Insbesondere bei älteren Patienten, unter Immunsuppression oder auf Intensivstationen sind die Folgen solcher Infektionen oft fatal (Vincent et al. 1995).

Die Auswahl der Bakterien und Viren für die vorliegende Arbeit erfolgte nach zwei Gesichtspunkten: einerseits sollte die Häufigkeit ihres Vorkommens in Krankenhäusern bzw. ihre Rolle im Rahmen nosokomialer Infektionen berücksichtigt werden, andererseits wurden bevorzugt solche Keime ausgewählt, die durch besondere Eigenschaften, wie die Möglichkeit zur Biofilmbildung oder eine hohe Mobilität und theoretische Fähigkeit zur Fortbewegung entgegen einer kontinuierlichen Flüssigkeitsbewegung, als besonders geeignet für einen Belastungstest des TIVA-Sets erschienen.

Staphylococcus aureus

Staphylokokken sind grampositive, fakultativ anaerobe Kugelbakterien, welche sich auf gewöhnlichen Nährböden leicht kultivieren lassen und zur normalen Haut- und Schleimhautflora des Menschen gehören.

Dieser Mikroorganismus wurde eingesetzt, weil er für 12% aller nosokomial erworbenen Infektionen und 5-10% aller katheter-assoziierten Septikämien bei hospitalisierten Patienten verantwortlich ist (Emori und Gaynes 1993, Bouza 2002).

Typisch für Infektionen mit *S. aureus* sind vielfältige Arten lokaler Gewebsdefekte mit Eiterbildung (Furunkel, Karbunkel, Abszesse, Wundinfektionen). Von hier kann es über lymphogene oder hämatogene Streuung zur Ausbreitung in andere Körpergebiete kommen.

Gefürchtete Komplikationen gerade bei abwehrgeschwächten Patienten sind in diesem Zusammenhang Hirnabszesse und Endokarditiden (von Eiff et al. 1997).

Seit Jahren treten zunehmend Resistenzen von *S. aureus* gegen Antibiotika auf, was die Therapie von Infektionen deutlich erschwert. Besondere Probleme bereiten dabei die methicillinresistenten Stämme (MRSA). Man geht inzwischen von ca. 14000 nosokomialen MRSA-Infektionen pro Jahr in Deutschland aus (Kluytmans et al. 1997, Gastmeier und Geffers 2008).

Staphylococcus epidermidis

Die wichtigste Erregergruppe im Zusammenhang mit Fremdkörper-assoziierten Infektionen stellen die koagulase-negativen Staphylokokken dar. Sie galten lange Zeit als apathogen, haben aber durch den zunehmenden Einsatz von Plastikmaterialien in der modernen Medizin eine entscheidende Rolle als fakultativ pathogene Krankheitserreger übernommen (Ziebuhr et al. 2006).

Einige Stämme des grampositiven Bakteriums *S. epidermidis* verfügen über die Eigenschaft, bevorzugt an implantierte Plastikfremdkörper zu adhären und sich durch die Bildung eines Biofilmes vor dem Angriff von Immunsystem und Antibiotika zu schützen (O’Gara und Humphreys 2001, Ziebuhr et al. 2006). Darüber hinaus ist *S. epidermidis* als typischer Kommensale der Haut weit verbreitet. Diese Eigenschaften führen dazu, dass 11% aller nosokomialen Infektionen und sogar 40-60% aller katheter-assoziierten Infektionen von *S. epidermidis* verursacht werden (Emori und Gaynes 1993, Bouza 2002).

In Verbindung mit der relativen Anspruchslosigkeit des Bakteriums bei der Kultur führte dies zu seinem Einsatz in den Versuchsreihen.

Escherichia coli

E. coli ist eine Spezies gramnegativer Stäbchenbakterien aus der Familie der Enterobacteriaceae. Sie enthält sowohl fakultativ als auch obligat pathogene Stämme. Erstere findet man als regelmäßigen Bestandteil der physiologischen Darmflora.

Im klinischen Alltag stellen diese Mikroorganismen die häufigste Ursache von Harnwegsinfektionen dar, 80% der Fälle gehen auf diesen Erreger zurück. Daneben steht *E. coli* mit einem Anteil von 12 % aller nosokomialen Infektionen an der Spitze der gramnegativen Erreger (Emori und Gaynes 1993, Bouza 2002), mit weiterhin steigender Tendenz (Toniolo et al. 2006). Weitere gefürchtete Erkrankungen, welche durch *E. coli* ausgelöst werden können, sind Meningitiden und Septitiden. Eine Infektion mit *E. coli* erfolgt meist endogen durch fäkale Verunreinigung und mangelnde Hygiene (Orskov und Orskov 1985). Das Auftreten antibiotika-resistenter *E. coli*-Stämme, z.B. mit der Möglichkeit zur Produktion von Beta-Laktamase-Inhibitoren (*ESBL-E. coli*) erschwert die Therapie nosokomialer Infektionen zunehmend (Toniolo et al. 2006, von Baum et al. 2010). Aufgrund dieser Bedeutsamkeit im klinischen Alltag wurde *E. coli* in die Untersuchung miteinbezogen.

Proteus mirabilis

P. mirabilis ist ein gramnegatives, sporenloses Stäbchenbakterium aus der Familie der Enterobacteriaceae. Etwa 3 % aller nosokomialen Infektionen, bevorzugt im Bereich des Urogenitaltraktes, aber auch Septikämien und Wundinfektionen werden durch Proteus-Spezies verursacht (Emori und Gaynes 1993).



Abbildung 8: Darstellung der hohen Beweglichkeit von *P. mirabilis* auf Blutagar („Schwärmphänomen“). Eine Einzelkolonie wurde in der Mitte der Platte aufgetragen. Das ringförmige Wachstum ausgehend von diesem Zentrum ist deutlich zu erkennen.

Von der mikrobiologischen Seite zeichnet sich dieses Bakterium durch eine peritriche Begeißelung aus, welche ihm eine hohe aktive Beweglichkeit ermöglicht. Es wäre hypothetisch vorstellbar, dass diese Eigenschaft sich auch in der Kontamination von Schlauchsystemen auswirken könnte. Möglicherweise wäre der Keim in der Lage, sich entgegen der Flussrichtung der Infusion in den Bereich höhergelegener Abschnitte des TIVA-Sets fortzubewegen. Diese Hypothese führte zur Aufnahme von *P. mirabilis* in die Versuchsreihen. In der

unproblematischen mikrobiologischen Anzucht auf Blutagar zeigt sich das charakteristische Schwärmphänomen als Ausdruck der hohen Bakterienbeweglichkeit (s. Abbildung 8). Da aufgrund dieses Phänomens eine Auszählung einzelner Bakterienkolonien zur Konzentrationsbestimmung auf Blutagar nicht möglich war, wurden abweichend von den Versuchen mit den übrigen Bakterien die Proben aus den Verdünnungsreihen (aus der Bakterienkultur im „Patientenmodell“) auf Brolacin-Agar aufgebracht. Dieser spezielle Nährboden verhindert durch seinen geringen Gehalt an Elektrolyten das Schwärmverhalten von Proteus-Species (Sandys 1960). Die Auswertung der Kontaminationsproben aus TIVA-Set und Perfusorspritzen erfolgte wie bei allen Versuchen auf Blutagar.

Pseudomonas aeruginosa

P. aeruginosa ist eine Spezies obligat aerober, gramnegativer Stäbchenbakterien. Charakteristisch für diesen gefürchteten Erreger von Hospitalismusinfektionen sind seine hohe Umweltpersistenz sowie seine ausgeprägte Resistenz gegen Antibiotika und Desinfektionsmittel. Inzwischen gehen 9 % aller nosokomialen Infektionen und 3-6% der katheter-assoziierten Septikämien auf *P. aeruginosa* zurück (Emori und Gaynes 1993, Bouza 2002, Toniolo et al. 2006). Die Sepsis mit diesem Mikroorganismus ist mit der höchsten Letalität unter allen Sepsisformen belastet (Hahn et al. 2005). Infektionen entwickeln sich gehäuft bei abwehrgeschwächten Patienten, auf Intensivstationen, in Verbrennungszentren und in der Onkologie.

Neben seiner epidemiologischen Bedeutung führte auch die Fähigkeit einiger *Pseudomonas*-Stämme zur Biofilm-Bildung (O'Toole und Kolter 1998) zu der Entscheidung, dieses Bakterium in die Reihe der Testorganismen aufzunehmen.

DNA-Phage T3 (E. coli-Bakteriophage)

Nachdem das TIVA-Set bereits auf seine Kontaminationssicherheit gegenüber Bakterien geprüft war, erschien es sinnvoll, wenigstens in einem Modellversuch auch virale Erreger zu überprüfen. In vergleichbaren Studien (Eichler et al. 2004) war auf einen solchen Ansatz bisher verzichtet worden.

Durch Blutkontakt übertragenen Viren wie das Humane Immundefizienz-Virus (HIV) oder virale Hepatitis-Erreger, sind gerade im Bereich invasiver medizinischer Behandlungen besonders gefürchtet. Dass Mehrfachverwendung von Einwegmaterialien und Verwendung von Mehrfachdosisampullen auch mit einem erhöhten Risiko der Übertragung viraler Infektionen zwischen verschiedenen Patienten einhergeht, zeigte u.a. die Untersuchung von vier Hepatitis C-Infektionen einer chirurgischen Klinik in Frankreich. Hierbei wurden die Patienten nachweislich durch den unsicheren Umgang mit Einwegmaterialien und Medikamentenampullen mit dem Hepatitisvirus infiziert (Germain et al. 2005).

Viren haben, anders als eine Vielzahl von Bakterien, keine Möglichkeit zur aktiven Fortbewegung oder zur Bildung eines Biofilms, und sie benötigen Wirtszellen für ihre Vermehrung und Ausbreitung. Sie zeichnen sich jedoch durch eine wesentlich geringere Größe aus als die meisten Bakterien (Durchmesser von Bakterien: 0,2-1 μm , Länge 1 -15 μm , Durchmesser des Hepatitis B-Virus: 42-45 nm), passieren Bakterienfilter und könnten also theoretisch auch kleinere Lücken des TIVA-Sets, welche für Bakterien nicht passierbar wären, für eine Kontamination nutzen.

Dass solche morphologischen Unterschiede die Kontaminationswahrscheinlichkeit beeinflussen können, zeigten die Forschungsergebnisse von Koepke et al. (1985). In einem Modellversuch für intradermale Hauttests wurde aus einer Spritze 0,1 ml eines sterilen Kulturmediums in eine mit Poliovirus kontaminierte Flüssigkeit gespritzt. Bei der mikrobiologischen Aufbereitung der Spritzen zeigte sich, dass alle mit Poliovirus kontaminiert waren. Ein Durchspülen der Nadel mit Resten des Kulturmediums vor der Diskonnektion konnte die Kontamination des restlichen Spritzeninhaltes nicht verhindern. In vorausgehenden Versuchen mit Bakterien hatte das Durchspülen der Nadel vor Diskonnektion ausgereicht um eine Kontamination der Flüssigkeitsreste in der Spritze zu verhindern (Koepke et al. 1985). Im Rahmen dieser Versuche wurde außerdem gezeigt, dass bei der Diskonnektion der Nadel 10^{-7} - 10^{-9} ml der Testkultur in die Spritze aspiriert wurden. Dies entspricht genau der Menge Blut, die sich in Versuchen an Schimpansen als für eine Infektion mit Hepatitis B ausreichend erwiesen hat (Shikata et al. 1977, Barker et al. 1975).

Sowohl der qualitative als auch der quantitative Nachweis der genannten humanpathogenen Viren hätte eine Ausweitung der Methodik erforderlich gemacht, welche den Rahmen dieser Arbeit überschritten hätte. Daher wurde die Methodik für die Überprüfung des TIVA-Sets auf eine potentielle Übertragbarkeit von Virusinfektionen abgewandelt. Hierbei wurde anstelle bekannter viraler Erreger aus dem Klinikalltag ein Bakterienvirus (*Bakteriophage T3*) als Modellorganismus eingesetzt, der über seine spezifische Lysis des Stammes *E. coli B14* nachzuweisen war. Auf der Basis dieser Bakterienlysis konnte einerseits der Ausgangsgehalt an Viren in der Bouillon zu Beginn des Versuchs bestimmt werden, andererseits wurde am Ende der Inkubationszeit der Faktor gemessen, um den sich der Gehalt an Viren vermehrt hatte. Auch die Medikamentenproben aus dem Schlauchsystem des TIVA-Sets konnten so auf das Vorkommen des Bakteriophagen untersucht werden. So wurde eine Möglichkeit entwickelt, die Untersuchung mit einem Virus durchzuführen, welches abgesehen von Humanpathogenität dieselben Eigenschaften aufwies wie andere Viren.

Im Gesamtkontext dieser Arbeit sind die Bakteriophagen-Versuche eher im Sinne eines orientierenden Ansatzes zu verstehen. Die geringe Anzahl an Versuchsdurchläufen mit diesem Erregertyp ist in seiner Aussagekraft sicher nicht mit den deutlich ausführlicheren Untersuchungen an unterschiedlichen, in ihren spezifischen Eigenschaften erheblich variableren, bakteriellen Erregern vergleichbar.

4.1.2. Keimzahlbestimmung nach McFarland

Für die Simulation einer Bakteriämie im „Patientenmodell“ wurde in allen Versuchen eine Keimzahl von 10^7 KBE·ml⁻¹ angestrebt. Um die in der Vorkultur vorhandene Keimzahl näherungsweise bestimmen zu können, kam eine photometrische Trübungskontrolle gemäß dem McFarland-Standard zum Einsatz. Hierbei wird die optische Dichte der Bakterienkultur bei einer Wellenlänge von 565 nm bestimmt, was einen orientierenden Rückschluss auf die Bakterienkonzentration zulässt. Danach wurde die Vorkultur durch Hinzufügen von steriler Bouillon auf die Gesamtmenge von 2.500 ml mit der gewünschten Keimkonzentration von 10^7 KBE·ml⁻¹ verdünnt.

Verschiedene Faktoren könnten bei diesem Vorgehen zu Schwankungen der Keimkonzentrationen pro Versuchsdurchlauf geführt haben. Beispielsweise kann eine unvollständige Durchmischung der Vorkultur zu einer Fehlbestimmung führen, da sich bei inhomogener Durchmischung relevante Bakterienmengen am Boden des Gefäßes für die Vorkultur absetzen können. Wird dann eine Probe von 2 ml für die Photometrie aus der Mitte des Gefäßes entnommen, ist diese Probe nicht sicher repräsentativ für die Konzentration des gesamten Ansatzes. Zudem unterscheidet die photometrische Bestimmung nicht zwischen vitalen und avitalen Zellen, während in der nachfolgenden Kultur auf Blutagar nur vitale Bakterien zur Koloniebildung geführt haben können. Darüber hinaus weist die photometrische Keimzahlbestimmung eine technisch bedingte Schwankungsbreite auf.

4.1.3. Auswahl der Medikamente

Propofol

Als zentrales Narkotikum in der total-intravenösen Anästhesie mit zusätzlicher infektiöser Potenz (s. Abschnitt 1.2) war Propofol ein ideales Agens zur Überprüfung der Kontaminationssicherheit des TIVA-Sets unter möglichst realistischen Bedingungen.

In einer Aufarbeitung der gemeldeten Fälle Propofol-assoziiertes nosokomialer Infektionen zwischen 1990 und 1993 konnten Bennett et al. anhand epidemiologischer und mikrobiologischer Methoden zeigen, dass in allen Fällen eine extrinsische Kontamination durch Hygienemängel in der Narkosevorbereitung als wahrscheinlichste Ursache zu sehen ist (Bennett et al. 1995). Wie es zu solchen Kontaminationen kommen kann, ist Thema zahlreicher weiterer Publikationen (Zacher et al. 1991, Veber et al. 1994, Kuehnert et al. 1997, Bach und Motsch 1996). Die Inokulation von Bakterien kann zu verschiedenen Zeitpunkten der Verarbeitung von Propofol auftreten, vom Öffnen der Glasampulle (Zacher et al. 1991, Aydin et al. 2002) bzw. Durchstechung der Gummimembran einer Infusionsflasche ohne vorherige Desinfektion (Gebel et al. 2002) bis zum Aufziehen der Substanz in eine Spritze (McLeod et al. 1991). In einer Studie von Sosis und Braverman zeigte sich eine sprunghafte Zunahme der Vermehrung von *Staphylococcus aureus* in Propofol ab der 6. Stunde nach

Kontamination (Sosis und Braverman 1993). Eine längere Lagerung der Substanz nach dem Aufziehen bzw. eine Mehrfach-Entnahme kleinerer Dosen aus bereits angebrochenen Ampullen findet sich immer wieder als ein entscheidender Faktor bei der Entstehung Propofol-assoziiierter Infektionen (McNeil et al. 1999, Kuehnert et al. 1997, Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft 2008).

In dem Bestreben eine alternative Darreichungsform für Propofol zu entwickeln, welche die infektiöse Potenz des Präparates verringern könnte, erschien der Zusatz von Hemmstoffen des mikrobiellen Wachstums sinnvoll. Versuche unter Zusatz von Lidocain zeigten nur begrenzten Erfolg (Sakuragi et al. 1999, Wachowski et al. 1999), doch man fand mit Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) einen Wirkstoff, der, in einer extrem niedrigen Dosierung zugefügt, die Vermehrung vieler Problemkeime ohne sonstige Nebenwirkungen wirksam verhindert (Langevin et al. 1999, Hart 2000). Nach dem Zusatz von EDTA zum Disoprivan[®] 1994 ist die Verwendung von Propofol in den USA seit 1996 nur noch in dieser Form gestattet. In der Folge kam es dort zu keinem weiteren Bericht über Propofol-assoziierte Infektionen (Thompson und Goodale 2000, Jansson et al. 2006).

Nachdem die Firma AstraZeneca als erste in Deutschland ihrem Präparat (Disoprivan[®]) EDTA hinzufügte, führte dies auch hier vorübergehend dazu, dass einige Kliniken sich zeitweise ausschließlich dieses Produktes bedienten (Strauss und Giest 2003).

Dennoch gelten auch hier weiter die unveränderten Empfehlungen des Herstellers bezüglich des strikt aseptischen Umganges mit dem Medikament. Dass die Wirksamkeit dieser Handlungsanweisungen nicht auf validierten Studien beruhen, bleibt häufig unbedacht (White und Watcha 1993)

Es war nicht das Ziel dieser Arbeit, den Einfluss des EDTA-Zusatzes im Propofol auf das Wachstum von Bakterien zu prüfen. Dennoch war dieser Effekt möglicherweise nicht irrelevant. So wurde *Bacillus subtilis* als Testkeim aus den Untersuchungen ausgeschlossen, nachdem in Probeansätzen unter Zusatz von Disoprivan[®] die Keimvermehrung fast vollständig unterdrückt wurde (s. Kapitel 3.1.1, S. 32). Das Wachstum von *S. epidermidis* als zweitem

Testkeim im Vorversuch wurde hingegen durch den Zusatz von Disoprivan® zur Kultur nicht wesentlich beeinflusst.

Das „Opioid“

In der total-intravenösen Anästhesie wird üblicherweise neben dem Narkotikum Propofol ein Opioid, wie z.B. Remifentanyl, zur Analgesie eingesetzt. Da es keine Berichte gibt, in denen diesen Substanzen eine erhöhte infektiöse Potenz zugeschrieben wird, und sie darüber hinaus eher teuer sind und dem Betäubungsmittelgesetz unterliegen, wurde in der Studie auf den Einsatz dieser Medikamente verzichtet. Stellvertretend wurde dem „Patientenmodell“ 0,9%ige Kochsalzlösung über den zweiten Schenkel des TIVA-Sets zugeführt. Im Falle einer retrograden Kontamination des TIVA-Sets sollte diese Lösung ein Bakterienwachstum weder fördern noch unterdrücken.

4.1.4. Das „Patientenmodell“

Um das TIVA-Set unter möglichst realistischen Bedingungen auf seine Kontaminationssicherheit zu testen, sollte mit Hilfe eines „Patientenmodells“ eine potentielle Infektionsquelle geschaffen werden. Ziel des entwickelten „Patientenmodells“ war es, möglichst realitätsnahe Bedingungen zu simulieren, um ohne Gefährdung realer Patienten das TIVA-Set einem Sicherheitstest unterziehen zu können.

Simulation eines venösen Zugangs

Nach einigen Versuchen gelang es, einen Erlenmeyerkolben so zu modifizieren, dass es einerseits möglich war, eine venöse Verweilkanüle unter realitätsnahen Druckverhältnissen zu applizieren, andererseits durch Magnetprüher für eine kontinuierliche Durchmischung zu sorgen, welche den Blutfluss simulieren sollte. Gleichzeitig konnte die Temperatur der Bouillon messfühlergesteuert bei 37°C gehalten werden. Es wurde sichergestellt, dass die Verweilkanüle durch die Eigenelastizität der Gummimembran nicht eingengt wurde, sondern ein freier Fluss in beide Richtungen möglich war.

Der Druck im „venösen“ System entstand durch die Höhendifferenz zwischen Bakterienlösung und venöser Eintrittsstelle, so dass ein initialer Druck von ca. 15 cm H₂O resultierte. Durch kontinuierliche Infusion von Kochsalzlösung und

Propofol stieg der Druck auf max. ca. 25 cm H₂O am Ende an. Die entspricht einem physiologischen peripheren Venendruck von etwa 8-18 cm H₂O (liegender Patient, in Ruhe).

Keimzahlen

Die in unserem „Patientenmodell“ erzielten Keimzahlen lagen in allen Versuchsansätzen mindestens im Bereich der laut Literatur „in vivo“ zu erwartenden Bakterienkonzentrationen.

Verschiedene Studien haben sich in der Vergangenheit mit der Frage beschäftigt, wie hoch die Keimbelastung des menschlichen Blutes im Rahmen septischer Krankheitsgeschehen ist. Abhängig von den verschiedenen Krankheitsbildern der untersuchten Patienten kam man hierbei zu unterschiedlichen Ergebnissen. Die höchste beschriebene Keimbelastung zeigte sich in einer amerikanischen Studie von Shenep et al. (1988). In einer Untersuchung von Patienten mit einer gramnegativen Sepsis zeigte sich hierbei in der Blutkultur einer Patientin mit akuter lymphoblastischer Leukämie (unter Chemotherapie) eine Bakteriämie mit $1,2 \cdot 10^7$ KBE·ml⁻¹ (Shenep et al. 1988). Neben zwei weiteren Patienten mit Keimkonzentrationen zwischen $1,4 \cdot 10^5$ und $4 \cdot 10^6$ KBE·ml⁻¹ wurden in den übrigen Fällen dieser Studie ausschließlich Keimzahlen unter 10^5 KBE·ml⁻¹ beobachtet. So beschrieben Werner et al. 1967 in einer Untersuchung der Blutkulturen von 206 an infektiöser Endokarditis erkrankten Patienten eine maximale Keimzahl von 173 KBE·ml⁻¹ (Werner et al. 1967).

Die Untersuchung von Blutkulturen fiebernder Kinder zeigte variable Keimkonzentrationen zwischen $2 \cdot 10^1$ und 10^4 KBE·ml⁻¹, wobei die höheren Keimzahlen ausschließlich bei manifest erkrankten Kindern (Meningitis, Peritonitis) auftraten (Santosham und Moxon 1977).

Um das Vorliegen von katheterassoziierten Infektionen zu beweisen, verglichen Flynn et al. 1988 Blutkulturen nach Blutentnahme einerseits über den mutmaßlich infizierten Katheter sowie eine frisch punktierte periphere Vene. Hierbei zeigten sich in dem Blut, welches über den bereits liegenden Katheter abgenommen wurde deutlich höhere Keimzahlen als bei frischer peripherer

Punktion, jedoch ebenfalls mit Konzentrationen, die $300 \text{ KBE} \cdot \text{ml}^{-1}$ nicht überschritten (Flynn et al. 1988).

4.2. Der Versuchsablauf im Vergleich zum klinischen Einsatz

Die total-intravenöse Anästhesie findet ihren Einsatz vor allem im Bereich kleiner operativer Eingriffe mit einer Dauer von 1-3 Stunden, häufig auch im ambulanten Bereich.

Die Infusionsdauer in der vorliegenden Arbeit war auf 5 Stunden angelegt, wobei die Laufgeschwindigkeiten von Spritzenpumpen und Basisinfusion so gewählt waren, dass sie realen Narkosebedingungen entsprachen (s. Tabelle 1). Zunächst standen die Perfusoren bei laufender Basisinfusion still, was das Intervall zwischen Versorgung des Patienten und Narkosebeginn simulieren sollte. Die darauffolgende Laufgeschwindigkeit der Perfusoren von jeweils $10 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$ (plus Basisinfusion mit $100 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$) entsprach Narkosebedingungen (bei einem 70 kg schweren Patienten entsprechend: Propofol (Disoprivan® 2%) $2,86 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, sowie Remifentanyl $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ entsprechend $0,24 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$). Ein zwischenzeitlicher Stop der Basisinfusion für 30 Minuten sollte den Fluss auf ein Minimum reduzieren (insgesamt $20 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$ über die Perfusoren) und simulierte z.B. das versäumte Wechseln einer Infusionsflasche durch den Anästhesisten.

Sowohl die lange Gesamtdauer, als auch die teilweise sehr niedrigen Flussraten könnten eine Kontamination theoretisch begünstigen. Darüber hinaus erfolgte am Ende eines Versuchsdurchlaufes zunächst die Diskonnektion des Infusionssystems von der Venenverweilkanüle, wobei das distale Rückschlagventil an der Kanüle belassen wurde. So wurde auch die Wirkung eines negativen Drucks, wie sie für den Moment der Diskonnektion von Kanülen beschrieben wurde (Hughes 1946, Evans und Spooner 1950), vor der Probenentnahme berücksichtigt.

Die Kontaminationsprüfung erfolgte in verschiedenen Anteilen des Versuchsaufbaus (s. Abbildung 7): vom „patientennahen“ endständigen Schlauchstück mit größter Kontaminationswahrscheinlichkeit (von der Bakterienkultur nur durch ein hämodynamisches Rückschlagventil sowie die Venenverweilkanüle getrennt), über mittlere Schlauchabschnitte bis hin zu den Perfusorspritzen

(mit potentiell noch zu verwendenden Medikamentenresten). Die Tatsache, dass es selbst in der Auswertung der Proben aus den Schlauchabschnitten mit kürzester Distanz zum „Patienten“ nicht zum Bakterienwachstum oder zu bakteriolytischen Plaques kam, gibt zusätzliche Sicherheit für höhere Anteile des Versuchsaufbaus, insbesondere für die Medikamentenreste in den Spritzen.

Selbstverständlich sind die durchgeführten Experimente nur auf den klinischen Alltag anwendbar, wenn man auch dort strenge hygienische Grundsätze im Umgang mit den verwendeten Medikamenten und Materialien voraussetzt. Um eine Kontamination des TIVA-Sets durch ascendierende Keime aus dem „Patientenmodell“ von einer Keimeinschleppung durch den Benutzer (v.a. Hautkeime) abgrenzen zu können, wurde im Labor zu jedem Zeitpunkt auf eine sterile Arbeitsweise geachtet. Dass sich die idealen Laborbedingungen nur unter einem deutlichen Mehraufwand in die klinische Praxis übertragen lassen, ist selbstverständlich. Doch es war nicht das Ziel dieser Arbeit, die Wahrscheinlichkeit exogener Kontaminationen zu überprüfen, zumal es zu diesem Thema bereits zahlreiche Veröffentlichungen gibt (Kolbitsch et al. 1995, Farrington et al. 1994, Lorenz et al. 2002, Warwick und Blake 1994, Zacher et al. 1991, McLeod et al. 1991). Um das Risiko einer exogenen Kontamination für unsere Versuche zu minimieren, wurde darauf geachtet, möglichst wenig an den Konnektionsstellen des Systems zu manipulieren, was im klinischen Alltag deutlich häufiger notwendig ist.

Außerdem unterblieb eine Überprüfung des Einflusses von Druckschwankungen im „Patientenmodell“ auf die Kontaminationsrate. Crosby beschrieb 1991 die Fehlfunktion eines Rückschlagventils mit Reflux von Patientenblut in den proximal des Rückschlagventils gelegenen Systemabschnitt infolge einer arteriellen Blutdruckmessung am selben Arm (Crosby 1991).

4.3. Infektionsrisiken im anästhesiologischen Alltag

In Umfragen unter Anästhesisten aus den USA und Großbritannien zeigte sich, dass in der täglichen Praxis die Mehrfachverwendung von Einwegartikeln aus Kostengründen keine Seltenheit ist. 6,9-75% der Befragten gaben an, regelmäßig Medikamentenreste in Einwegspritzen für Folgepatienten

weiterzubedenken, und z.T. sogar nach dem Verbrauch des Rests die Spritze erneut aufzuziehen (Kempen 1989 b, El Mikatti et al. 1999, Tait und Tuttle 1995, Rosenberg et al. 1991).

Kempen berichtete 1989 von Anästhesisten, die im Verlauf eines Arbeitstages Spritzen bei sich tragen, die für die Applikation von häufig verwendeten Medikamenten für sämtliche Patienten des Tages benutzt werden (Kempen 1989 a).

Dabei konnte bereits in den 40er Jahren gezeigt werden, dass sich bei der Benutzung einer Spritze für mehr als einen Patienten während des Wechsels der Injektionsnadel durch die Diskonnektion ein Sog aufbaut, der potentiell kontaminierte Flüssigkeit aus dem Nadelinneren in die Spritze befördern kann (Hughes 1946). Darüber hinaus birgt das wiederholte Aufziehen herkömmlicher Einwegspritzen ein deutlich erhöhtes Risiko für eine Kontamination (Olivier et al. 2003).

Halkes und Snow führten 2003 eine Umfrage unter anästhesiologischen Fachärzten im Südwesten Englands durch, in der es um den Umgang mit Einwegmaterialien bei der Durchführung einer total-intravenösen Anästhesie ging. Hierbei stellte sich heraus, dass nur 46% der Befragten nach einer abgeschlossenen Prozedur alle Einwegartikel, unabhängig von der Menge des in den Spritzen verbliebenen Propofols, entsorgten.

Meist wurde vor Narkosebeginn ein Rückschlagventil in den distalen Anteil der Infusionsleitung eingebracht, welches einen retrograden Fluss und damit eine Kontamination der Infusionsleitung verhindern sollte. 9,2% der teilnehmenden Ärzte vertrauten diesem System so sehr, dass sie am Ende der Narkose ausschließlich das Ventil auswechselten und das ganze restliche Material inklusive der Infusionsleitung für den Folgepatienten weiterbenutzten.

Immerhin 4,1% der Befragten hielten sogar diese Vorsichtsmaßnahme für unnötig und wechselten lediglich das distale Stück der Infusionsleitung aus, ohne vorher ein Rückschlagventil verwendet zu haben (Halkes und Snow 2003).

Dennoch birgt die Durchführung einer TIVA, insbesondere durch die Verwendung von Propofol, ein erhöhtes Infektionsrisiko, was in der Vergangenheit mehrfach zu nosokomialen Infektionen geführt hat (s. Kapitel 1.2, S. 6).

In der Literatur tauchen wiederholt Berichte über Infektionen auf, welche mit hoher Wahrscheinlichkeit durch Hygienemängel während der Durchführung von Narkosen verursacht wurden. So untersuchten Furtwängler et al. 2006 die Meldung von drei Neuinfektionen mit Hepatitis B und kamen zu dem Ergebnis, dass die drei betroffenen Patienten drei Monate zuvor am selben Tag in derselben Einrichtung und unmittelbar aufeinanderfolgend operiert worden waren. Der Patient, der als erster auf dem OP-Plan stand, war bereits vier Monate früher am selben Ort unmittelbar nach einem zu dem Zeitpunkt noch unerkannt chronisch Hepatitis B-infizierten Patienten operiert worden. Bei den Ermittlungen zum Übertragungsweg fiel auf, dass in der Einrichtung bezogen auf die Anzahl der Narkosen deutlich zu wenig Infusionsschläuche, Einwegspritzen und Handschuhpaare verbraucht worden waren. Dies legte den Verdacht nahe, dass auch hier sowohl Infusionsschläuche, als auch Einmalspritzen regelhaft für mehrere Patienten benutzt wurden.

Im Jahr 2007 wurde ein Anästhesist durch den deutschen Bundesgerichtshof wegen Körperverletzung mit Todesfolge zu einer Gesamtfreiheitsstrafe von 2 Jahren auf Bewährung verurteilt, nachdem in der Folge einer Narkose ein dreijähriges Mädchen als Folge eines septisch-toxischen Schocks verstorben, ein 42-jähriger Mann für 2 Wochen erkrankt war (Berner 2008). Der Arzt hatte hierbei die Vorgaben des Arzneimittelherstellers missachtet und aus einer Medikamentenflasche wiederholt Propofol für verschiedene Patienten entnommen. Nach der Auslegung des Gerichts hatte sich der Anästhesist damit über die Regeln der ärztlichen Kunst hinweggesetzt. Das Gericht wertete dies als vorsätzliche Körperverletzung und kam zu dem o.g. Urteil.

Diese und weitere Fälle sorgen dafür, dass jetzt und künftig die Überprüfung von Hygienemängeln immer genauer verlaufen wird.

4.4. Finanzielle Konsequenzen nosokomialer Infektionen

Nach den Ergebnissen von Gastmeier und Geffers (2008) kam es im Jahr 2006 zum Auftreten von 400.000-600.000 nosokomialen Infektionen in Deutschland, davon ca. 20.000 als primäre Septitiden.

Die Folgekosten dieser Infektionen stellen neben den persönlichen Folgen für die betroffenen Patienten auch eine erhebliche Belastung für das Gesundheitssystem dar. Es werden immer wieder Anstrengungen unternommen, um Hygienemängel aufzudecken und zu beseitigen, welche die Entstehung solcher Infektionen begünstigen (Pittet et al. 2000, Zuschneid et al. 2003, Matlow et al. 1999).

Pittet et al. bezifferten die zusätzlich entstehenden Kosten pro überlebendem Patienten bei nosokomialer Sepsis auf 40.000 US-Dollar, bei einer Verlängerung des Krankenhausaufenthaltes um durchschnittlich 14 Tage (Pittet et al. 1994). Die Letalität der Patienten lag in dieser Studie im Bereich von 50%.

Eine Studie aus Deutschland setzt die Gesamt-Behandlungskosten eines Patienten mit schwerer Sepsis bei ca. 23.000 € an. Nicht zuletzt vor dem Hintergrund des fallpauschalisierten Vergütungssystems gewinnt diese Problematik zusätzlich an Bedeutung. Die Krankenhauskosten und die indirekten Kosten der Sepsis, die der Gesellschaft durch den Produktivitätsverlust entstehen, belaufen sich in Deutschland jährlich auf ca. 4-8 Milliarden Euro (Moerer et al. 2002).

2007 bezifferte eine Göttinger Forschungsgruppe um Moerer et al. die Kosten der intensivmedizinischen Versorgung von Sepsis-Patienten auf 1.090 €/Tag. Diesen Zahlen gegenüber stehen die Kostenersparnisse, die aus der Mehrfachverwendung von Einwegmaterialien und der Weiterverwendung von Medikamentenresten resultieren. Wie bereits in Kapitel 1.1 (S. 6) dargelegt, beliefen sich 1997/1998 die Verluste, die innerhalb eines Jahres allein durch verworfene Medikamentenreste in der anästhesiologischen Abteilung des Rhode Island Hospitals entstanden, auf 165.667 US-Dollar (Gillerman und Browning 2000).

Lessard beschrieb für seine Abteilung einen jährlichen Verbrauch von rund 25.000 Spritzen bei Mehrfachverwendung. Ein strenger Verwurf jeder Spritze

nach einmaliger Verwendung würde nach seiner Berechnung die Kosten allein für Spritzen um 110% anheben, was jährliche Mehrausgaben von 5.000 US-Dollar bedeuten würde (Lessard et al. 1988). In einer mikrobiologischen Aufarbeitung von Spritzen aus dem alltäglichen Gebrauch fand Lessard keinen Unterschied bezüglich der Kontaminationsrate nach einmaliger oder mehrfacher Benutzung.

Bei der Diskussion von Sparmaßnahmen wird es immer notwendig sein, beide beschriebenen Seiten zu berücksichtigen und so neben der finanziellen auch eine Risikoabwägung vorzunehmen.

4.5. Kontaminationssicherheit der gängigen Verfahren

Dass Rückschlagventile nicht zuverlässig als mikrobiologische „Barrieren“ im Infusionssystem wirken, welche ausschließlich antegrade Flüsse zulassen und damit eine retrograde Kontamination der Medikamente mit hinreichender Sicherheit verhindern, ist bekannt.

Neben Berichten über Fehlfunktionen bei Materialfehlern (Crosby 1991) finden sich in der Literatur auch solche über Reflux von Blut und kontaminierenden Bakterien aus dem Kreislauf des Patienten bei scheinbar uneingeschränkter Ventilfunktion. So konnten Trépanier et al. 1990 nach Routinenarkosen Blutbestandteile in durchschnittlich 3,33% aller Infusionssysteme nachweisen. Das Einbringen eines Rückschlagventils führte dabei zu keiner Veränderung der Kontaminationsraten (Trépanier et al. 1990). Dass das Maß der Kontaminationssicherheit zudem maßgeblich von der Art des verwendeten Rückschlagventils abhängt, zeigte sich in den Studien von Gretzinger et al. (Gretzinger et al. 1996).

Fahl kam während seiner Versuche an einem Patientenmodell zu dem Ergebnis, dass die Häufigkeit bakterieller Kontaminationen von Infusionssystemen durch das Vorhandensein von Rückschlagventilen nicht beeinflusst wird. Der Nachweis koloniebildender Einheiten gelang dabei in allen Versuchsdurchläufen ausschließlich in den distalen, „patientennahen“ Abschnitten der Infusionssysteme. Der maximale Abstand zum Patienten, in dem noch eine Kontamination im Infusionssystem nachweisbar war, betrug dabei 65 Zentimeter (Fahl 2002).

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Eichler et al. 2004 bei der Überprüfung der Konfiguration eines TIVA-Sets der Firma Codan (Lehnsahn, Deutschland) anhand eines ähnlichen Versuchsaufbaus („Patientenmodell“ mit einer Kultur von *Streptococcus faecium*). Auch hier zeigte sich schon nach einer extrem kurzen Infusionszeit von nur einer Minute in 86,7% der Fälle eine bakterielle Kontamination des distalen Schlauchanteils. Dabei wurde ein Rückschlagventil, welches direkt am venösen Zugang des Patienten lokalisiert war, scheinbar problemlos überwunden. Dennoch war es in keinem der genannten Versuche zu nachweisbaren Kontaminationen höherer Schlauchabschnitte oder Medikamentenreste gekommen (Eichler et al. 2004).

Im Rahmen der vorliegenden Studie war nach 56 Versuchsdurchläufen in *keinem* Abschnitt des TIVA-Sets der Nachweis eines einzigen Testkeimes aus dem „Patientenmodell“ möglich. Dies entspricht einer Gesamtanzahl von 840 Proben ohne Nachweis von Bakterienwachstum oder Virusaktivität.

Der deutliche Unterschied der Ergebnisse im Vergleich zur Studie von Eichler et al. könnte aus unserer Sicht in den unterschiedlichen Versuchsaufbauten begründet sein. So könnte einerseits durch die Verwendung unterschiedlicher Arten von Rückschlagventilen eine Bakterienaszension in das Infusionssystem verhindert worden sein, welche bei Eichler et al. bereits nach einer deutlich geringeren Infusionszeit stattgefunden hatte. Desweiteren waren in den Versuchen von Eichler et al. die Infusionsschläuche mit einem bakteriellen Kulturmedium gefüllt, während in unserem Versuchsaufbau eine Propofolzubereitung verwendet wurde, welche durch den Zusatz von Ethylendiamintetraacetat (EDTA) im klinischen Alltag eine Vermehrung von Bakterien hemmen soll (s. Kapitel 4.1.3, S. 50). Zwar hatte sich in den Vorversuchen mit Bakterienkulturen in Kulturlösung unter Zusatz von Propofol keine Unterdrückung der Bakterienvermehrung von *S. epidermidis* gezeigt, und es war in sämtlichen späteren Versuchsdurchläufen eine deutliche Zunahme der Bakterienkonzentration im „Patientenmodell“ auch nach Infusion von Disoprivan® nachweisbar. Hierbei handelte es sich jedoch stets um ein Gemisch von Kulturmedium und Medikament. Eine Überprüfung des Bakterienwachstums in reinem Disoprivan® erfolgte im Rahmen dieser Arbeit nicht. Möglicherweise könnte demzufolge ein Wachstum kontaminierender Bakterien

in den Flüssigkeitsproben aus dem Infusionssystem durch den EDTA-Gehalt der Propofol-Zubereitung gehemmt worden sein.

Auch konnten im verwendeten „Patientenmodell“ die speziellen Eigenschaften menschlichen Blutes nur in begrenztem Umfang simuliert werden. Beispielsweise wird eine mögliche Sedimentation von Blutzellen über ein Rückschlagventil im vorliegenden Modell nicht berücksichtigt. Weiterhin wurde in unserem Modell der Einfluss höherer Systemdrücke nicht berücksichtigt, wie sie im klinischen Alltag, beispielsweise bei Blutdruckmessungen nach Anlage der Blutdruckmanschette an dem Arm, an welchem auch die Medikamentenapplikation erfolgt, zustande kommen kann. Hierbei könnte durch den erhöhten retrograden Druck ein Übertritt von Blut über ein Rückschlagventil begünstigt werden. In der Studie von Eichler et al. hatte sich jedoch auch unter Simulation einer solchen Druckerhöhung keine Zunahme der Kontaminationsraten in höheren Abschnitten des Infusionssystems gezeigt.

Nach der vorliegenden Studie können wir nicht sicher sein, dass eine mikrobielle Kontamination des TIVA-Sets unmöglich ist. Das in Göttingen konzipierte TIVA-Set erfüllt jedoch verschiedene Bedingungen, die in ihrem Zusammenwirken eine Kontamination in hohem Maße unwahrscheinlich machen. Die Kombination unterschiedlicher Rückschlagventile an verschiedenen Stellen im System mit langen Infusionsschläuchen (2m) und den damit verbundenen Flüssigkeitssäulen verhindert die retrograde Kontamination höhergelegener Schlauchabschnitte. Durch die gebrauchsfertige Vorkonfiguration entfallen mögliche exogene Kontaminationen bei der Vorbereitung des Sets.

Den vorliegenden Untersuchungen zufolge ließe sich durch das Verwerfen des TIVA-Sets mitsamt der Basisinfusion nach der Narkose das Risiko einer Kontamination deutlich reduzieren. Unter Einhaltung der Empfehlungen für den hygienisch einwandfreien Umgang insbesondere mit Propofol (keine längere Lagerung etc.) sprechen die Ergebnisse dafür, dass Restmengen der Medikamente in den Perfusorspritzen für den nächsten Patienten weiterverwendet werden können.

Die Perfusorspritze mitsamt ihres Inhaltes könnte dann bis zur vollständigen Entleerung für weitere Patienten benutzt werden, sollte danach jedoch ebenfalls ausgetauscht werden.

Ein solches Vorgehen ist stets weiterhin an die Einhaltung hygienischer Standards bei der Vorbereitung und Durchführung der Narkose gebunden. Gerade das sterile Aufziehen von Propofol mit der Vermeidung längerer Lagerungszeiten ist dabei zur Prävention exogener Kontaminationen unumgänglich.

Ob ein Abweichen von den Herstellerempfehlungen rechtlich und moralisch vertretbar ist, muss weiterhin vom Anwender selbst individuell entschieden werden und obliegt seiner Verantwortung. Da dies entgegen der Herstellerempfehlung geschehen würde, kann ein solches Vorgehen nicht grundsätzlich empfohlen werden, obwohl die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung dies nahelegen könnten.

5. Zusammenfassung

Während der letzten Jahre hat die total-intravenöse Anästhesie mit Propofol vor allem wegen ihrer geringen Nebenwirkungen zunehmend an Bedeutung gewonnen. Bei der Verabreichung von Propofol ist jedoch besondere Vorsicht geboten, da mit diesem Medikament ein erhöhtes Infektionsrisiko assoziiert sein kann.

Das in der anästhesiologischen Abteilung des Universitätsklinikums Göttingen entwickelte „TIVA-Set“ ist ein Infusionsbesteck, welches speziell für TIVA-Narkosen entwickelt wurde und durch seine Konfiguration eine erhöhte Kontaminationssicherheit bieten soll.

Ein Modellversuch für die Praxis sollte prüfen, inwieweit der Einsatz eines derart konfigurierten Sets eine retrograde Kontamination der verwendeten Materialien und Medikamente von Patientenseite vermeiden kann. Als „Patientenmodell“ eines bakteriell kontaminierten Blutkreislaufes diente dabei ein Glaskolben, der ein Flüssigkulturmedium mit definierter Bakterienkonzentration enthielt. Die Eigenschaften des Modells bezüglich Temperatur, Druck und Fluss wurden dabei entsprechend den Bedingungen im menschlichen Körper gewählt. Über einen Anschlussstutzen, welcher mit einer Gummimembran verschlossen war, wurde eine Venenverweilkanüle in das System eingebracht, welche dann mit einem TIVA-Set konnektiert wurde. Dieses wurde vorher, wie im anästhesiologischen Alltag, mit zwei Perfusorspritzen sowie einer Basisinfusion verbunden. Die Perfusorspritzen enthielten Propofol bzw. isotonische Kochsalzlösung als Ersatz für ein Opioid. Nach Ablauf eines fünfstündigen, realitätsnahen Infusionsschemas erfolgte eine mikrobiologische Aufarbeitung von Flüssigkeitsproben aus fünf definierten Stellen des Infusionsaufbaus, um das Ausmaß der mikrobiellen Kontamination zu bestimmen. Nach Auftragen der Flüssigkeitsproben auf Hammelblutagar erfolgte nach 24-stündiger Inkubation bei 37°C die visuelle Auswertung auf Keimwachstum.

Dieser Versuchsablauf wurde mit insgesamt 5 verschiedenen Bakterien (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* und *Pseudomonas aeruginosa*) durchgeführt. Die Auswahl der Mikroorganismen erfolgte aufgrund ihrer Relevanz bei nosokomialen Infektio-

nen sowie besonderer Eigenschaften, welche eine Kontamination von Infusionssystemen begünstigen könnten. In leicht abgewandelter Form wurde dieser Versuchsablauf zusätzlich mit einem Bakteriophagen (DNA-Phage T3) durchgeführt, der als Modellkeim für eine potentielle Virusinfektion dienen sollte. Für jeden Mikroorganismus wurden mindestens 9 getrennte Versuchsdurchläufe durchgeführt.

Insgesamt wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit 56 Versuchsdurchläufe durchgeführt. Die im Patientenmodell erreichten Keimzahlen lagen in allen Versuchsansätzen mindestens in dem angestrebten Konzentrationsbereich, der „in vivo“ in der Blutkultur eines septischen Patienten zu erwarten wäre (min. 10^6 KBE·ml⁻¹, max. $5 \cdot 10^8$ KBE·ml⁻¹). Es wurden 840 Medikamentenproben aus den verschiedenen Abschnitten des TIVA-Sets sowie den Perfusorspritzen auf ein Wachstum von Mikroorganismen untersucht. Hierbei ergab sich in keinem Fall ein Hinweis auf eine mikrobielle Kontamination der Medikamentenreste.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung legen den Schluss nahe, dass eine Weiterverwendung von Medikamentenresten aus den Perfusorspritzen bis zur vollständigen Entleerung möglich sein könnte. Eine unabdingbare Voraussetzung für ein solches Vorgehen wäre die strikte Einhaltung hygienischer Standards bei der Vorbereitung und Durchführung der Narkose, insbesondere bei Einsatz von Medikamenten mit erhöhter infektiöser Potenz wie Propofol.

In jedem Fall ist unter Berücksichtigung der Literatur zu diesem Thema ein solches Vorgehen durch den Anwender in Anbetracht der juristischen Aspekte individuell auf das Risikopotential hin zu bewerten und obliegt seiner Verantwortung.

6. Anmerkungen

Die vorliegende Doktorarbeit entstand in Zusammenarbeit mit dem Institut für medizinische Mikrobiologie. Ohne die Sachkenntnis und freundliche Anleitung durch Frau Prof. Dr. med. Borg-von Zepelin wären die mikrobiologischen Untersuchungen nicht realisierbar gewesen. Die Autorin dankt ferner den Firmen B. Braun (Melsungen), Astra Zeneca (Wedel), und Smith Medical International (Watford, Großbritannien, ehem. Medex medical, Rossendale, Großbritannien), die durch Sachspenden die Durchführung der Untersuchungen unterstützt haben.

Teile dieser Arbeit wurden auf dem Deutschen Anästhesisten Congress (DAC) 2004 in Nürnberg in Form eines wissenschaftlichen Vortrages präsentiert.

Weiterhin wurden die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit im Oktober 2010 im anästhesiologischen Fachmagazin „Anesthesia & Analgesia“ veröffentlicht (Radke OC, Werth K, Borg-von Zepelin M, Saur P, Apfel CC (2010): Two serial check valves can prevent cross-contamination through intravenous tubing during total intravenous anesthesia. *Anesth Analg* 111, 925-928).

7. Literaturverzeichnis

Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft (2008): Septische Komplikationen durch kontaminiertes Propofol. Dtsch Ärztebl 105, A592

AstraZeneca Produktinformation Disoprivan® 2%, AstraZeneca, Wedel 09/2001

Aydin N, Aydin N, Gultekin B, Ozgun S, Gurel A (2002): Bacterial contamination of propofol: The effects of temperature and lidocaine. Eur J Anaesthesiol 19, 455-458

Bach A, Motsch J (1996): Infectious risks associated with the use of propofol. Acta Anaesthesiol Scand 40, 1189-1196

Bader L (2005): Propofol-Anwendung: Asepsis und Antisepsis sind strikt einzuhalten. Empfehlungen im Auftrag der Kassenärztlichen Vereinigung Bayern, (Internet unter www.kvb.de)

Barker LF, Maynard JE, Purcell RH, Hoofnagle JH, Berquist KR, London WT, Gerety RJ, Krushak DH (1975): Hepatitis B virus infection in chimpanzees: titration of subtypes. J Infect Dis 132, 451-458

Bennett SN, McNeil MM, Bland LA, Arduino MJ, Villarino ME, Perrotta DM, Burwen DR, Welbel SF, Pegues DA, Stroud L, et al. (1995): Postoperative infections traced to contamination of an intravenous anesthetic, propofol. N Engl J Med 333, 147-154

Berner B (2008): Freiheitsstrafe wegen wiederverwendeter Propofolflaschen. Dtsch Arztebl 105(10), A-539

Berry CB, Gillespie T, Hood J, Scott NB (1993): Growth of micro-organisms in solutions of intravenous anaesthetic agents. Anaesthesia 48, 30-32

Bouza E (2002): Intravascular catheter-related infections: a growing problem, the search for better solutions. Clin Microbiol Infect 8, 255

Briggs LP, Clarke RS, Watkins J (1982): An adverse reaction to the administration of disoprofol (Diprivan). Anaesthesia 37, 1099-1101

Bundesgesundheitsblatt (2002): Prävention gefäßkatheterassoziierter Infektionen. Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 45: 907-924

Carr S, Waterman S, Rutherford G, Martin R, Francis B, Gensheimer K, Altamirano J, Hall W, Robinson B, Shah S (1990): Postsurgical infections associated with an extrinsically contaminated intravenous anesthetic agent- California, Illinois, Maine and Michigan, 1990. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 39, 426-427, 433

Chauhan D, Mason A (2008): Factors affecting the uptake of new medicines in secondary care - a literature review. J Clin Pharm Ther 33, 339-348

Crosby E (1991): Intravenous infusions and one-way valves. *Can J Anaesth* 38, 799-800

Danese PN (2002): Antibiofilm approaches: prevention of catheter colonization. *Chem Biol* 9, 873-880

Eberhart LH, Bernert S, Wulf H, Geldner G (2002): Pharmaökonomische Modelle zur Kostenberechnung dargestellt am Beispiel einer Studie zur Prophylaxe von Übelkeit und Erbrechen in der postoperativen Phase. *Anaesthesist* 51, 475-481

Eichler W, Schumacher J, Ohgke H, Klotz KF (2004): Reuse of a set for total intravenous anaesthesia: safe against bacterial contamination? *Eur J Anaesthesiol* 21, 501-503

Emori TG, Gaynes RP (1993): An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. *Clin Mikrobiol Rev* 6, 428-442

Evans RJ, Spooner ET (1950): A possible mode of transfer of infection by syringes used for mass inoculation. *Br Med J* 1950, 2, 185-188

Fahl M: Kontamination von intravenösen Anaesthetika bei Verwendung motorpumpengetriebener Infusionssysteme im Kreislaufmodell. *Med. Diss. Göttingen* 2002

Farrington M, McGinnes J, Matthews I, Park GR (1994): Do infusions of midazolam and propofol pose an infection risk to critically ill patients? *Br J Anaesth* 72, 415-417

Flynn PM, Shenep JL, Barrett FF (1988): Differential quantitation with a commercial blood culture tube for diagnosis of catheter-related infection. *J Clin Microbiol* 26, 1045-1046

Frank U, Chojnacki T, Dettenkofer M, Daschner FD (2003): Cost-effectiveness of an antiseptic-impregnated central venous catheter in the ICU. *Intensive Care Med* 29, 139

Furtwängler M, Edwards A, Cyran E, Wend UC, Gerlich WH (2006): Nosokomiale Hepatitis B-Übertragungen: Fallbeispiel aus gegebenem Anlass. *Dtsch Ärztebl* 103, 1084-1087

Gastmeier P, Geffers C (2008): Nosocomial infections in Germany. What are the numbers, based on the estimates for 2006? *Dtsch Med Wochenschr* 133, 1111-1115

Gebel J, Sonntag HG, Werner HP, Vacata V, Exner M, Kistemann T (2002): The higher disinfectant resistance of nosocomial isolates of *Klebsiella oxytoca*: how reliable are indicator organisms in disinfectant testing? *J Hosp Infect* 50, 309-311

Germain JM, Carbonne A, Thiers V, Gros H, Chastan S, Bouvet E, Astagneau P (2005) : Patient-to-patient transmission of hepatitis C virus through the use of multidose vials during general anesthesia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 26, 789-792

Gillerman RG, Browning RA (2000): Drug use inefficiency: a hidden source of wasted health care dollars. *Anesth Analg* 91, 921-924

Gretzinger DT, Cafazzo JA, Ratner J, Conly JM, Easty AC (1996): Validating the integrity of one-way check valves for the delivery of contrast solution to multiple patients. *J Clin Eng* 21, 375-382

Hahn, Falke, Kaufmann, Ullmann: *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. 5. Auflage; Springer-Verlag, Heidelberg 2005

Halkes MJ, Snow D (2003): Re-use of equipment between patients receiving total intravenous anaesthesia: a postal survey of current practice. *Anaesthesia* 58, 582-587

Hart B (2000): 'Diprivan': a change of formulation. *Eur J Anaesthesiol* 17, 71-73

Hawkes C, Miller D, Martineau R, Hull K, Hopkins H, Tierney M (1994): Evaluation of cost minimization strategies of anaesthetic drugs in a tertiary care hospital. *Can J Anaesth* 41, 894-901

Hughes RR (1946): Post-Penicillin jaundice. Br Med J 1946, 685-688

Jansson JR, Fukada T, Ozaki M, Kimura S (2006): Propofol EDTA and reduced incidence of infection. Anaesth Intensive Care 34, 362-368

Johnstone RE, Jozefczyk KG (1994): Costs of anesthetic drugs: experiences with a cost education trial. Anesth Analg 78, 766-771

Juckenhöfel S, Feisel C, Schmitt HJ, Biedler A (1999): TIVA mit Propofol/Remifentanyl oder balancierte Anästhesie mit Sevofluran/Fentanyl bei laparoskopischen Operationen. Anaesthesist 48, 807-812

Kempen PM (1989 a): Avoiding nosocomial infection in anaesthesia. Can J Anaesth 36, 254-255

Kempen PM (1989 b): Contamination of syringes. Can J Anaesth 36, 730-731

Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H (1997): Nasal carriage of Staphylococcus aureus: Epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks Clin Microbiol Rev 10, 505-520

Koepke JW, Reller LB, Masters HA, Selner JC (1985): Viral contamination of intradermal skin test syringes. Ann Allergy 55, 776-778

Kolbitsch C, Lass-Flörl C, Benzer A (1995): Propofol and postoperative infections. *N Engl J Med* 333, 1506-1507

Kubitz J, Epple J, Lützelberger U, Schmidt H, Motsch J, Bach A (2001): Computersimulation und Pharmakaökonomie. Computersimulation als Hilfsmittel zur Analyse von Effizienzsteigerungspotenzialen im OP-Bereich: Ein Beispiel. *Anaesthesist* 50, 122-127

Kuehnert MJ, Webb RM, Jochimsen EM, Hancock GA, Arduino MJ, Hand S, Currier M, Jarvis WR (1997): Staphylococcus aureus bloodstream infections among patients undergoing elektrokonvulsive therapy traced to breaks in infection control and possible extrinsic contamination by propofol. *Anesth Analg* 85, 420-425

Langevin PB, Gravenstein N, Doyle TJ, Roberts SA, Skinner S, Langevin SO, Gulig PA (1999): Growth of Staphylococcus aureus in Diprivan and Intralipid: implications on the pathogenesis of infections. *Anesthesiology* 91, 1394-1400

Leon C, Alvarez-Lerma F, Ruiz-Santana S, Gonzalez V, de la Torre M, Sierra R, Leon M, Rodrigo JJ, (2003): Antiseptic chamber-containing hub reduces central venous catheter-related infection: A prospective, randomized study. *Crit Care Med* 31, 1318-1324

Lessard MR, Trépanier CA, Gourdeau M, Denault PH (1988): A microbiological study of the contamination of the syringes used in anaesthesia practice. *Can J Anaesth* 35, 567-569

Lorenz IH, Kolbitsch C, Lass-Flörl C, Gritzniq I, Vollert B, Lingnau W, Moser PL, Benzer A (2002): Routine handling of propofol prevents contamination as effectively as does strict adherence to the manufacturer's recommendations. *Can J Anaesth* 49, 347-352

Mason A (2008): New medicines in primary care: a review of influences on general practitioner prescribing. *J Clin Pharm Ther* 33, 1-10

Matlow AG, Kitai I, Kirpalani H, Chapman NH, Corey M, Perlman M, Pencharz P, Jewell S, Phillips-Gordon C, Summerbell R (1999): A randomized trial of 72- versus 24-hour intravenous tubing set changes in newborns receiving lipid therapy. *Infect Control Hosp Epidemiol* 20, 487-493

McLeod GA, Pace N, Inglis MD (1991): Bacterial growth in propofol. *Br J Anaesth* 67, 665-666

McNeil MM, Jarvis WR, Lasker BA, Lott TJ (1999): Postsurgical *Candida albicans* infections associated with an extrinsically contaminated anesthetic agent. *J Clin Microbiol* 37, 1398-1403

Mikatti N el, Dillon P, Healy TE, (1999): Hygienic practices of consultant anaesthetists: a survey in the north-west region of the UK. *Anaesthesia* 54, 13-18

Moerer O, Schmid A, Hofmann M, Herklotz A, Reinhart K, Werdan K, Schneider H, Burchardi H (2002): Direct costs of severe sepsis in three German in-

tensive care units based on retrospective electronic patient record analysis of resource use. *Intensive Care Med* 28, 1440-1446

Moerer O, Plock E, Mgbor U, Schmid A, Schneider H, Wischnewsky MB, Burchardi H (2007): A German national prevalence study on the cost of intensive care: an evaluation from 51 intensive care units. *Crit Care* 11, R69

O'Gara JP, Humphreys H (2001): Staphylococcus epidermidis biofilms: importance and implications. *J Med Microbiol* 50, 582-587

Olivier LC, Kendoff D, Wolfhard U, Nast-Kolb D, Nazif Yazici M, Esche H, (2003): Modified syringe design prevents plunger-related contamination - results of contamination and flow-rate tests. *J Hosp Infect* 53, 140-143

Orskov I, Orskov F (1985): Escherichia coli in extra-intestinal infections. *J Hyg (Lond)* 95, 551-575

O'Toole GA, Kolter R (1998): Flagellar and twitching motility are necessary for Pseudomonas aeruginosa biofilm development. *Mol Microbiol* 30, 295-304

Ozkose Z, Ercan B, Ünal Y, Yardim S, Kaymaz M, Dogulu F, Pasaoglu A (2001): Inhalation versus total intravenous anesthesia for lumbar disc herniation: Comparison of hemodynamic effects, recovery characteristics and cost. *J Neurosurg Anesthesiol* 13, 296-302

Pascual A (2002): Pathogenesis of catheter-related infections: lessons for new designs. *Clin Microbiol Infect* 8, 256-264

Phillips AS, Mirakhur RK, Glen JB, Hunter SC (1996): Total intravenous anaesthesia with propofol or inhalational anaesthesia with sevoflurane for major abdominal surgery. *Anaesthesia* 51, 1055-1059

Pittet D, Tarara D, Wenzel RP (1994): Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients. Excess length of stay, extra costs and attributable mortality. *JAMA* 271, 1598-1601

Pittet D, Hugonnet S, Harbarth S, Mourouga P, Sauvan V, Touveneau S, Perneger TV (2000): Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. *Lancet* 356, 1307-1312

Radke O (2003): Das TIVA-Set: Effizienzsteigerung bei verbesserter Patientensicherheit. *Anästh Intensivmed* 44, 787-788

Rosenberg AD, Bernstein DB, Skovron ML, Ramanathan S, Turndorf H (1991): Are anesthesiologists practicing proper infection control precautions? *Anesth Analg* 72, S 228

Sakuragi T, Yanagisawa K, Shirai Y, Dan K (1999): Growth of *Escherichia coli* in propofol, lidocaine, and mixtures of propofol and lidocaine. *Acta Anaesthesiol Scand* 43, 476-479

Sandys GH (1960): A new medium of preventing swarming of proteus spp. with a description of a new medium suitable for use in routine laboratory practice. J Med Lab Technol 17, 224-233

Santosham M, Moxon ER (1977): Detection and quantitation of bacteremia in childhood. J Pediatr 91, 719-721

Shenep JL, Flynn PM, Barrett FF, Stidham GL, Westenkirchner DF (1988): Serial quantitation of endotoxemia and bacteremia during therapy for gram-negative bacterial sepsis. J Infect Dis 157, 565-568

Shikata T, Karasawa T, Abe K, Uzawa T, Suzuki H, Oda T, Imai M, Mayumi M, Moritsugu Y (1977): Hepatitis B e antigen and infectivity of hepatitis B virus. J Infect Dis 136, 571-576

Smith I (2003): Total intravenous anaesthesia: is it worth the cost? CNS Drugs 17, 609-619

Smith I, Terhoeve PA, Hennart D, Feiss P, Harmer M, Pourriat JL, Johnson IA (1999): A multicentre comparison of the costs of anaesthesia with sevoflurane or propofol. Br J Anaesth 83, 564-570

Sosis MB, Braverman B (1993): Growth of Staphylococcus aureus in four intravenous anesthetics. Anesth Analg 77, 766-768

Strauss JM, Giest J (2003): Total intravenöse Anästhesie. Auf dem Weg zum Standardverfahren bei Kindern. *Anaesthesist* 52, 763-777

Tait AR, Tuttle DB (1995): Preventing perioperative transmission of infection: a survey of anesthesiology practice. *Anesth Analg* 80, 764-769

Tessler M, Dascal A, Gioseffini S, Miller M, Mendelson J (1992): Growth curves of *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, and *Moraxella osloensis* in propofol and other media. *Can J Anaesth* 39, 509-511

Thomas DV (1991): Propofol supports bacterial growth. *Br J Anaesth* 66, 274

Thompson KA, Goodale DB (2000): The recent development of propofol (DIPRIVAN). *Intensive Care Med* 26, S400-4

Toniolo A, Endimiani A, Luzzaro F (2006): Microbiology of postoperative infections. *Surg Infect (Larchmt)* 7 Suppl2, S13-16

Trépanier CA, Lessard MR, Brochu JG, Denault PH (1990): Risk of cross-infection related to the multiple use of disposable syringes. *Can J Anaesth* 37, 156-159

Veber B, Gachot B, Bedos JP, Wolff M (1994): Severe sepsis after intravenous injection of contaminated propofol. *Anesthesiology* 80, 712-713

Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin MH, Wolff M, Spencer RC, Hemmer M, (1995): The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. *JAMA* 274, 639-644

Von Baum H, Dettenkofer M, Heeg P, Schröppel K, Wendt C (2010): Konsensusempfehlung Baden-Württemberg: Umgang mit Patienten mit hochresistenten Enterobakterien inklusive ESBL-Bildnern. *Hyg Med* 35, 40-45

Von Eiff C, Becker K, Peters G (1997): Multiresistenz bei klinisch relevanten grampositiven Kokken. *Intensivmedizin* 34, 655-663

Wachowski I, Jolly DT, Hrazdil J, Galbraith JC, Greacen M, Clanachan AS (1999): The growth of microorganisms in propofol and mixtures of propofol and lidocaine. *Anesth Analg* 88, 209-212

Warwick JP, Blake D (1994): Drawing up propofol. *Anaesthesia* 49, 172

Weinger MB (2001): Drug wastage contributes significantly to the cost of routine anesthesia care. *J Clin Anesth* 13, 491-7

Werner AS, Cobbs CG, Kaye D, Hook EW (1967): Studies on the bacteremia of bacterial endocarditis. *JAMA* 202, 199-203

White PF, Watcha MF (1993): The practice of anesthesiology and the package insert: decision-making regarding drug use in anesthesiology. *Anesth Analg* 76, 928-930

Zacher AN, Zornow MH, Evans G (1991): Drug contamination from opening glass ampules. *Anesthesiology* 75, 893-895

Ziebuhr W, Hennig S, Eckart M, Kränzler H, Batzilla C, Kozitskaya S (2006): Nosocomial infections by *Staphylococcus epidermidis*: how a commensal bacterium turns into a pathogen. *Int J Antimicrob Agents* 28 Suppl1, S14-20

Zuschneid I, Schwab F, Geffers C, Rüden H, Gastmeier P (2003): Reducing central venous catheter-associated primary bloodstream infections in intensive care units is possible: Data from the German nosocomial infection surveillance system. *Infect Control Hosp Epidemiol* 24, 501-505

8. Abkürzungsverzeichnis

<i>B. subtilis</i>	Bacillus subtilis
<i>E. coli</i>	Escherichia coli
<i>EDTA</i>	Ethylendiamintetraessigsäure
<i>KBE</i>	kolonie-bildende Einheiten
<i>MRSA</i>	methicillin-resistenter Staphylococcus aureus
<i>P.aeruginosa</i>	Pseudomonas aeruginosa
<i>P. mirabilis</i>	Proteus mirabilis
<i>PFU</i>	„Plaque-forming Unit“
<i>S. aureus</i>	Staphylococcus aureus
<i>S. epidermidis</i>	Staphylococcus epidermidis
<i>TIVA</i>	total-intravenöse Anästhesie

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung des TIVA-Sets	11
Abbildung 2: Darstellung der verwendeten Rückschlagventile.....	12
Abbildung 3: Durchführung einer Verdünnungsreihe am Beispiel von <i>S. epidermidis</i>	19
Abbildung 4: Plaques auf einer mit <i>E. coli-B14</i> bewachsenen Blutagarplatte	21
Abbildung 5: Das „Patientenmodell“	25
Abbildung 6: Der Gesamtaufbau des Versuches mit fm controller, fm computer, Infusomaten, Perfusoren sowie dem „Patientenmodell“	27
Abbildung 7: Schematischer Aufbau des TIVA-Sets mit Kennzeichnung der Entnahmestellen für die Medikamentenproben (①-⑤)	29
Abbildung 8: Darstellung der hohen Beweglichkeit von <i>P. mirabilis</i> auf Blutagar („Schwärmphänomen“).	46

10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Angewandtes Infusionsschema	28
Tabelle 2: Einfluss von Propofol auf das Wachstum von <i>B. subtilis</i> und <i>S. epidermidis</i> im Vorversuch	33
Tabelle 3: Einfluss von Propofol auf das Phagenwachstum im Vorversuch ..	34
Tabelle 4: Zusammenfassung der Versuchsreihen mit <i>S. aureus</i>	35
Tabelle 5: Zusammenfassung der Versuchsreihen mit <i>S. epidermidis</i>	36
Tabelle 6: Zusammenfassung der Versuchsreihen mit <i>E. coli</i>	37
Tabelle 7: Zusammenfassung der Versuchsreihen mit <i>Proteus mirabilis</i>	39
Tabelle 8: Zusammenfassung der Versuchsreihen mit <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
Tabelle 9: Zusammenfassung der Versuchsreihen mit dem Bakteriophagen	42

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich all jenen danken, die mir die Vollendung meiner Promotion ermöglicht haben.

Frau Prof. Dr. med. Petra Saur danke ich für die Thematik der Promotionsarbeit und die freundliche Betreuung.

Herrn Dr. med. Oliver Radke danke ich für die Betreuung der Promotion, seine unermüdliche Beratung und Aufmunterung selbst auf große räumliche Distanzen, ohne die eine Vollendung der Arbeit kaum denkbar gewesen wäre.

Frau Prof. Dr. med. Margarete Borg-von Zepelin danke ich für die engagierte Anleitung im Rahmen der Labortätigkeiten, für viele fruchtbare Gespräche und Anregungen, sowie die herzliche Einbindung in ihre Studiengruppe.

Dank an Herrn Prof. Dr. med. U. Groß für die Bereitstellung des Labors und die Möglichkeit der fachlichen Auseinandersetzung im wissenschaftlichen Team.

Ich danke ferner den Mitarbeitern des Kurslabors, der Nährboden- und Spülküche des Instituts für Medizinische Mikrobiologie der Universitätsmedizin Göttingen sowie den Mitarbeitern der Abteilung für Anästhesietechnik, insbesondere Herrn Klaus Züchner für die praktische Einführung im Labor sowie die Bereitstellung und Entsorgung der notwendigen Materialien.

Mein Dank gilt zudem den Firmen B. Braun (Melsungen), Astra Zeneca (Wedel), und Smith Medical International (Watford, Großbritannien, ehem. Medex medical, Rossendale, Großbritannien), die durch Sachspenden die Durchführung der Untersuchungen unterstützt haben.

Lebenslauf

Ich wurde am 25.06.1979 in Aurich als zweites Kind von Rolf-Dieter und Elfriede Werth, geb. Rooffs, geboren. Von 1985-1991 besuchte ich die Lambertischule in Aurich sowie die Orientierungsstufe in Sandhorst und anschließend das Gymnasium Ulricianum in Aurich, wo ich 1998 die allgemeine Hochschulreife erwarb.

1999 begann ich meine Studium der Humanmedizin in Göttingen und absolvierte hier im Herbst 2004 den zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung.

Das Praktische Jahr meines Studiums absolvierte ich an den städtischen Kliniken Oldenburg (Chirurgie), sowie, nach einem Wechsel an die Universität Würzburg, am Klinikum Aschaffenburg (Innere Medizin und Pädiatrie). Im November 2005 legte ich den dritten Teil der ärztlichen Prüfung in Würzburg ab.

Seit dem 01. Februar 2006 bin ich als Assistenzärztin in der Kinderklinik Aschaffenburg tätig.