

In vitro-Wirksamkeit von Akacid plus gegenüber Spross- und filamentösen Pilzen im Vergleich zu konventionellen Antimykotika und Chlorhexidin

S. Tobudic, C. Kratzer, W. Graninger, A. Georgopoulos*

Univ.-Klinik für Innere Medizin I, Klin. Abt. für Infektionen und Chemotherapie, Medizinische Universität Wien

* Korrespondierender Autor: Univ.-Prof. DDr. A. Georgopoulos

Schlüsselwörter:

Pilze, *Candida*, Dermatophyten, Schimmelpilze, MHK, Killing-Kurve, Akacid plus

Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die In vitro-Wirksamkeit des neuartigen polymerischen Guanidins Akacid plus mit konventionellen Antimykotika und Chlorhexidin gegenüber 132 verschiedenen klinischen Pilzisolaten zu vergleichen. Die untersuchten Pilzstämme waren: *C. albicans* (n=46), *C. glabrata* (n=13), *C. parapsilosis* (n=11), *C. krusei* (n=8), *C. tropicalis* (n=5), *C. guilliermondi* (n=3), *C. pelliculosa* (n=1), *C. pseudotropicalis* (n=1), *C. lusitaniae* (n=1), *C. lipolytica* (n=1), *Trichophyton rubrum* (n=17), *Trichophyton mentagrophytes* (n=5), *Microsporum canis* (n=4), *Trichophyton violaceum* (n=1), *Trichophyton soudanense* (n=1), *Aspergillus fumigatus* (n=5), *Aspergillus flavus* (n=1), *Aspergillus terreus* (n=1), *Acremonium speci* (n=1), *Dermatiaceae* (n=1), *Penicillium purpureescens* (n=2), *Scopulariopsis brevicularis* (n=2) und *Emericella nidulans* (n=1). Für die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) wurde die Mikrodilutionsmethode in RPMI 1640 nach CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) verwendet. Zusätzlich wurden Killing-Kurven von Akacid plus gegenüber *C. krusei* ATCC 6258, *C. tropicalis* ATCC 750

und *C. albicans* 4D (Fluconazol-resistentes klinisches Isolat) getestet. Gegenüber allen Stämmen von *Candida* spp. erreichte Akacid plus MHK-Werte im Bereich von 0,03 - 8 mg/l. MHK₅₀ und MHK₉₀ gegenüber *C. albicans* und Non-*albicans* Spezies waren äquivalent und betragen 1 bzw. 4 mg/l. Vergleichbare MHK-Werte wurden für Nystatin, Clotrimazol und Caspofungin gefunden, während Fluconazol und Chlorhexidin mit 32 mg/l eine deutlich höhere MHK₉₀ erzielten. Akacid plus, Chlorhexidin und Fluconazol erreichten ähnliche MHK-Werte (4 - 64 mg/l) gegenüber Dermatophyten. Der MHK-Bereich von Akacid plus, Amphotericin B und Voriconazol gegenüber den getesteten Schimmelpilzen betrug 0,25 - 32 mg/l. Die Ergebnisse der zeitabhängigen Abtötung von *Candida* spp. durch Akacid plus haben eine fungizide Wirksamkeit der untersuchten Substanz bei 1x MHK nach einer Exposition für 5-6 Stunden demonstriert. Aufgrund der vergleichbaren In vitro-Wirksamkeit zu konventionellen Antimykotika und Chlorhexidin und der raschen Aktivität gegenüber *Candida* spp. könnte das neue Biozid Akacid plus zukünftig eine wichtige Rolle in der Prophylaxe und Therapie von Pilzinfektionen spielen.

Key-words:

Fungi, *Candida*, Dermatophytes, Moulds, MIC, time-killing-curve, Akacid plus

Summary

The purpose of this study was to evaluate the *in vitro* activity of Akacid plus, a novel polymeric guanidine, compared to conventional antifungal drugs and chlorhexidine against 132 different fungal isolates. The included clinical strains were: *C. albicans* (n=46), *C. glabrata* (n=13), *C. parapsilosis* (n=11), *C. krusei* (n=8), *C. tropicalis* (n=5), *C. guilliermondi* (n=3), *C. pelliculosa* (n=1), *C. pseudotropicalis* (n=1), *C. lusitaniae* (n=1), *C. lipolytica* (n=1), *Trichophyton rubrum* (n=17), *Trichophyton mentagrophytes* (n=5), *Microsporum canis* (n=4), *Trichophyton violaceum* (n=1), *Trichophyton soudanense* (n=1), *Aspergillus fumigatus* (n=5), *Aspergillus flavus* (n=1), *Aspergillus terreus* (n=1), *Acremonium speci* (n=1), *Dermatiaceae* (n=1), *Penicillium purpureescens* (n=2), *Scopulariopsis brevicularis* (n=2) and *Emericella nidulans* (n=1). *In vitro* susceptibility was evaluated by determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) in RPMI 1640 according to CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) guidelines. Additionally, time killing-curves of Akacid plus were carried out on *C. krusei* ATCC 6258, *C. tropicalis* ATCC 750 and fluconazol-resistant *C. albicans* 4D.

MICs of Akacid plus against all strains of *Candida* spp. were in the range of 0,03 - 8 mg/l. MIC₅₀ and MIC₉₀ were equivalent against *C.*

albicans and non-*albicans* species and reached values of 1 and 4 mg/l. MIC values of Akacid plus were comparable to that of nystatin, clotrimazole and caspofungin, whereas MIC₉₀ (32 mg/l) of fluconazole and chlorhexidine was significantly higher than for Akacid plus. Akacid plus, chlorhexidine and fluconazole achieved

corresponding MIC values (4-64 mg/l) against dermatophytes. The MIC range of Akacid plus, amphotericin B and voriconazole against tested moulds was 0.25-32 mg/l. Time-killing curves of Akacid plus against *Candida* spp. demonstrating fungicidal activity were at 1 x MIC after exposure for 5-6 hours. Due to

its fast fungicidal activity against *Candida* spp. and comparable *in vitro* effectiveness to conventional antifungal drugs and chlorhexidine, the new biocide Akacid plus might play an important role in the prophylaxis and treatment of fungal infections in the future.

Einleitung

Pilze stellen nach *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* und Koagulase-negativen Staphylokokken die fünfthäufigsten pathogenen Krankheitserreger insbesondere bei klinisch kranken Patienten dar [1]. Der Sprosspilz *Candida* spp. ist der häufigste Erreger unter den Pilzen und verursacht ein breites Spektrum an Infektionen, oberflächliche bzw. muko-kutane Candidosen bis hin zu invasiven Candidosen, die verschiedene Organe betreffen können. Obwohl *C. albicans* die am häufigsten isolierte Spezies darstellt, kommen auch Non-*albicans* Spezies immer mehr als Erreger in Frage [2, 3, 4]. Muko-kutane Candidosen werden in erster Linie mit lokalen oder oralen Azolen (Clotrimazol, Fluconazol, Itraconazol) behandelt [4]. Zur Therapie der invasiven Candidosen werden Fluconazol, Voriconazol, Caspofungin oder Amphotericin B eingesetzt [5].

2-5% aller invasiven Pilzinfektionen werden durch *Aspergillus*-Spezies, zumeist *A. fumigatus*, seltener durch *A. flavus*, *A. niger* oder *A. terreus*, verursacht [6]. Die wichtigsten durch Aspergillen verursachten Infektionen sind die invasive pulmonale Aspergillose, die allergische bronchopulmonale Aspergillose, das Aspergillom, die Mykotoxikose und die Aspergillus-Tracheobronchitis. Die häufigste

Form, die invasive pulmonale Aspergillose, wird typischerweise bei sehr schwer immunsupprimierten Patienten beobachtet. Zur Behandlung können Voriconazol, liposomales oder konventionelles Amphotericin B, Itraconazol oder Caspofungin eingesetzt werden [7].

Dermatophyten sind eine spezielle Gruppe von filamentösen Pilzen, die durch Invasion der Keratinozyten bei Menschen und Tieren eine oberflächliche Infektion verursachen können. Zur Therapie von Dermatophyteninfektionen werden unter anderem Terbinafin, Clotrimazol, Itraconazol und Fluconazol eingesetzt [8].

Abgesehen von den konventionellen Antimykotika zeigen auch einige andere Substanzklassen, wie z.B. die kationisch antimikrobiell wirksamen Substanzen, eine gute Wirksamkeit gegenüber Pilzen. Diese Substanzen können sowohl in der Prävention (als Antiseptikum) als auch in der Therapie (in lokaler Applikationsform) von Pilzinfektionen eingesetzt werden [9, 10].

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die *In vitro*-Wirksamkeit des polymerischen Guanidins Akacid plus, einem neuartigen Mitglied der kationisch antimikrobiell wirksamen Substanzen, mit dem Bisbiguanid Chlorhexidin, und mit konventionellen Antimykotika gegenüber verschiedenen Spezies von Spross- und fila-

mentösen Pilzen zu vergleichen. Zusätzlich wurden die zeitabhängige fungizide Wirksamkeit von Akacid plus gegenüber verschiedenen *Candida*-Spezies mittels Killing-Kurve und die Resistenzrate von Fluconazol gegenüber *Candida* spp. evaluiert.

Material und Methode

Insgesamt wurden 90 klinische Isolate von *Candida* spp., 28 klinische Isolate von Dermatophyten und 14 Schimmelpilzisolat getestet. Von 2004 bis 2005 wurden Sprosspilz- und Dermatophytenisolate von Patienten mit Hautinfektionen an der Dermatologie im AKH Wien gesammelt und unserer Abteilung zur Verfügung gestellt. Die getesteten Hautisolate waren: *C. albicans* (46 Stämme), *C. glabrata* (13 Stämme), *C. parapsilosis* (11 Stämme), *C. krusei* (8 Stämme), *C. tropicalis* (5 Stämme), *C. guilliermondi* (3 Stämme), *C. pelliculosa* (1 Stamm), *C. pseudotropicalis* (1 Stamm), *C. lusitaniae* (1 Stamm), *C. lipolytica* (1 Stamm), *Trichophyton rubrum* (17 Stämme), *Trichophyton mentagrophytes* (5 Stämme), *Microsporum canis* (4 Stämme), *Trichophyton violaceum* (1 Stamm) und *Trichophyton soudanense* (1 Stamm). Die Isolate von Schimmelpilzen wurden aus verschiedenen klinischen Materialien isoliert und gehörten zu folgenden Spezies: *Aspergillus fumigatus* (5 Stämme), *Aspergillus*

flavus (1 Stamm), *Aspergillus terreus* (1 Stamm), *Acremonium speci* (1 Stamm), *Dermatiaceae* (1 Stamm), *Pencillium purpurescens* (2 Stämme), *Scopulariopsis brevicularis* (2 Stämme), *Emericella nidulans* (1 Stamm).

Die Stocklösungen von Akacid plus (POC, Austria) und von Chlorhexidindigluconat (Sigma, Germany), als 25- und 20%ige wässrige Lösungen, wurden mit destilliertem Wasser und RPMI 1640 zu den gewünschten Konzentrationen verdünnt. Amphotericin B, Fluconazol, Clotrimazol, Nystatin, Caspofungin und Voriconazol wurden als Referenzsubstanzen ausgewählt und wurden nach den jeweiligen Vorschriften des Herstellers in Dimethylsulfoxid bzw. in destilliertem Wasser gelöst.

Für die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) wurde die Mikrodilutionsmethode in 2-fach konzentriertem RPMI 1640-Medium mit Glutamin und mit 2% Glukose nach CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute, früher NCCLS) M27-A2 [11] für *Candida* spp. und M38-A für Schimmelpilze [12] verwendet. Für Dermatophyten wurde eine modifizierte Methode des Standards M38-A durchgeführt [8]. Die Inokulumgröße war $0,5 \times 10^3$ - $2,5 \times 10^3$ Kolonie-bildende Einheiten (KBE)/ml für *Candida* und $0,5 \times 10^4$ - 5×10^4 Konidien/ml für Fadenpilze. Die Endkonzentration aller getesteten Substanzen reichte von 0,007 bis 256 mg/l. Antimykotikum- und Inokulum-freie Kontrollen wurden inkludiert. Die Mikrotiterplatten wurden bei 35°C für 48 Stunden für *Candida* spp. und Schimmelpilze und bei 28°C für 7 Tage für Dermatophyten inkubiert. Die MHK der Azole wurde definiert als die niedrigste Konzentration, die eine auffallende Reduktion der Trübung im Vergleich zur Wach-

tumskontrolle erzielte (50% Wachstumshemmung). Für alle anderen Testsubstanzen wurde die MHK als die niedrigste Konzentration definiert, die in einer totalen Wachstumshemmung resultierte (100% Wachstumshemmung). Bei jedem Testansatz wurden zur Qualitätskontrolle *C. krusei* ATCC 6258 und *C. tropicalis* ATCC 750 mitgeführt.

Killing-Kurven von Akacid plus wurden gegenüber *C. krusei* ATCC 6258, *C. tropicalis* ATCC 750 und *C. albicans* 4D, ein Fluconazol-resistentes klinisches Isolat, in RPMI 1640 nach der Methode von Karlowsky et al. erstellt [13]. Die Sprosspilze wurden auf Sabouraud-Dextrose-Agar-Platten subkultiviert. Von der Platte wurden 2-3 Kolonien in 20 ml RPMI 1640-Medium inokuliert. Die Pilzsuspension wurde unter Schütteln bei 37°C für 16 Stunden inkubiert. Zu 1 ml Pilzsuspension (10^7 KBE/ml) wurden entweder 9 ml Biozid-freies RPMI 1640-Medium (Wachstumskontrolle) oder 9 ml Akacid plus in RPMI in den Endkonzentrationen von 0,5x, 1x, 2x, 4x, 8x MHK hinzugefügt und bei 37°C für 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 24 und 48 Stunden inkubiert. Danach wurden jeweils 20 µl Suspension entnommen

und in 10er Schritten in Sabouraud-Glucose-Bouillon verdünnt und auf Sabouraud-Dextrose-Agar-Platten getropft. Die Platten wurden bei 37°C für 48 Stunden inkubiert und die Anzahl der lebensfähigen Pilzkolonien wurde bestimmt. Drei unabhängige Testungen wurden für jeden Stamm durchgeführt und Killing-Kurven wurden mit der Darstellung von Mittelwerten \log_{10} KBE/ml in Abhängigkeit von der Zeit konstruiert.

Ergebnisse

Die Ergebnisse der MHK-Bestimmung sind in den Tabellen 1 - 3 und in den Abbildungen 1 - 4 dargestellt. Gegenüber allen getesteten Stämmen von *Candida* spp. erreichte Akacid plus MHK-Werte im Bereich von 0,03 und 8 mg/l. Vergleichbare MHK-Werte wurden für Nystatin, Clotrimazol und Caspofungin gefunden, während Fluconazol und Chlorhexidin mit 32 mg/l eine deutlich höhere MHK_{90} erzielten (Tabelle 1, Abbildung 1 - 4). Die MHK_{50} - und MHK_{90} -Werte von Akacid plus gegenüber *C. albicans*- und Non-*albicans*-Spezies waren äquivalent und betragen 1 bzw. 4 mg/l. 15,3% der *C. albicans*-

Abbildung 1: Verteilung der MHK-Werte von Akacid plus, Chlorhexidin und Fluconazol gegenüber *C. albicans* (n=46)

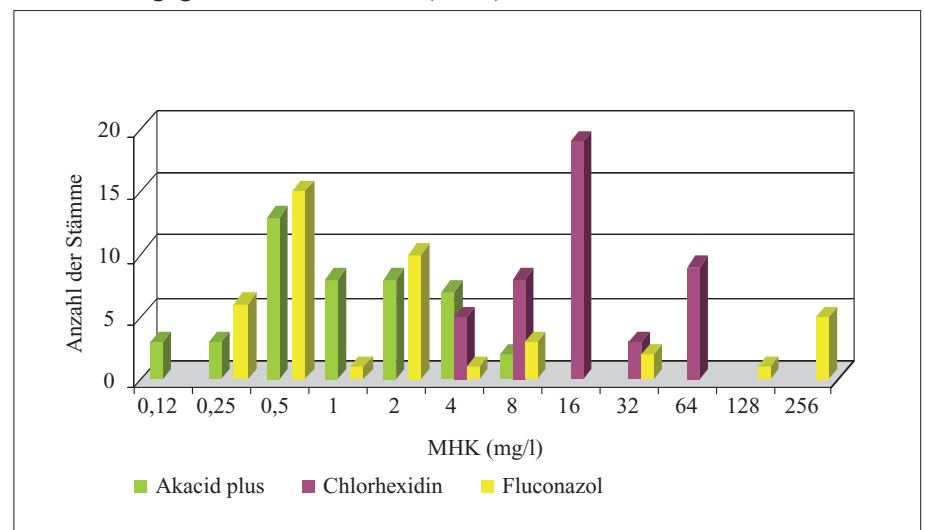
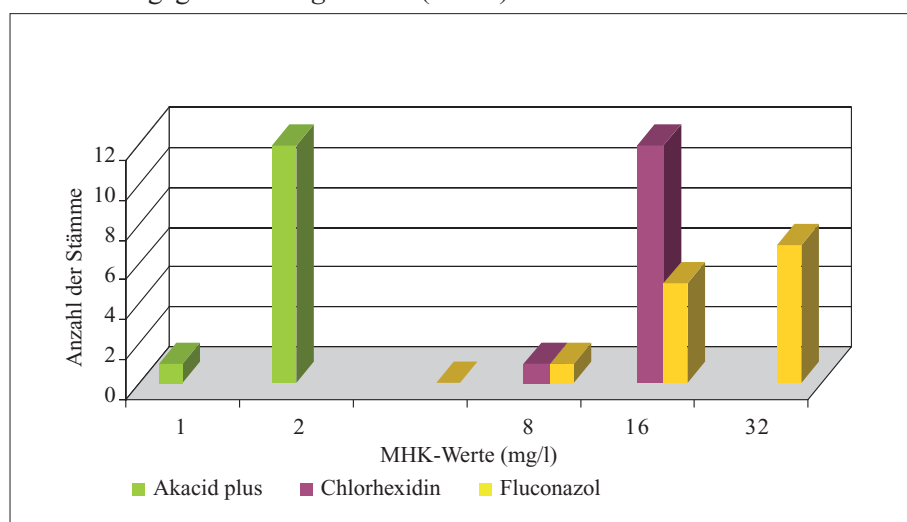


Tabelle 1: In vitro-Aktivität von Akacid plus, Chlorhexidin und konventionellen Antimykotika gegenüber *Candida* spp. insgesamt (Σ) bzw. getrennt für *C. albicans* and Non-*albicans*-Spezies (n).

Pathogen (Σ /n)	Wirksubstanz	MHK (mg/l)		
		MHK-Bereich	MHK ₅₀	MHK ₉₀
<i>Candida</i> spp. (Σ =90)	Akacid plus	0,03 - 8	1	4
	Nystatin	1 - 4	2	4
	Clotrimazol	0,03 - 8	0,125	1
	Fluconazol	0,125 - 256	2	32
	Caspofungin	0,06 - 4	0,5	2
	Chlorhexidin	8 - 64	16	32
<i>C. albicans</i> (n=46)	Akacid plus	0,5 - 8	1	4
	Nystatin	1 - 4	2	2
	Clotrimazol	0,03 - 8	0,125	0,5
	Fluconazol	0,25 - 256	1	64
	Caspofungin	0,06 - 2	0,125	0,25
	Chlorhexidin	8 - 32	16	32
Non- <i>albicans</i> -Spezies (n=44)	Akacid plus	0,03 - 4	1	4
	Nystatin	1 - 4	4	4
	Clotrimazol	0,03 - 1	0,125	1
	Fluconazol	0,125 - 256	4	32
	Caspofungin	0,5 - 4	2	4
	Chlorhexidin	4 - 64	16	64

Abbildung 2: Verteilung der MHK-Werte von Akacid plus, Chlorhexidin und Fluconazol gegenüber *C. glabrata* (n=13)



Stämme und 4,5% aller Non-*albicans*-Stämme waren resistent gegenüber Fluconazol (MHK >64 mg/l). 43,1% der Non-*albicans*-Stämme zeigten ebenso nur eine dosisabhängige Empfindlichkeit gegenüber Fluconazol (MHK 16 - 32 mg/l). Akacid plus, Chlorhexidin und Fluconazol erreichten ähnliche In vitro-Wirksamkeit (MHK 4 - 64 mg/l) gegenüber Dermatophyten. Clotrimazol zeigte die höchste Empfindlichkeit gegenüber Dermatophyten mit MHK-Werten von 0,06 - 0,5 mg/l (Tabelle 2, Abbildung 5). Der MHK-Bereich von

Abbildung 3: Verteilung der MHK-Werte von Akacid plus, Chlorhexidin und Fluconazol gegenüber *C. parapsilosis* (n = 11)

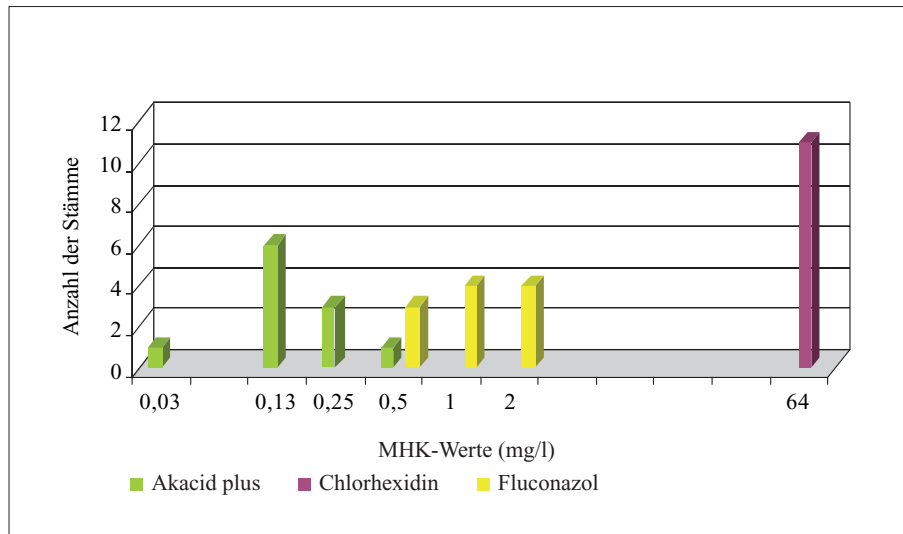


Abbildung 4: Verteilung der MHK-Werte von Akacid plus, Chlorhexidin und Fluconazol gegenüber *C. tropicalis* (n = 5)

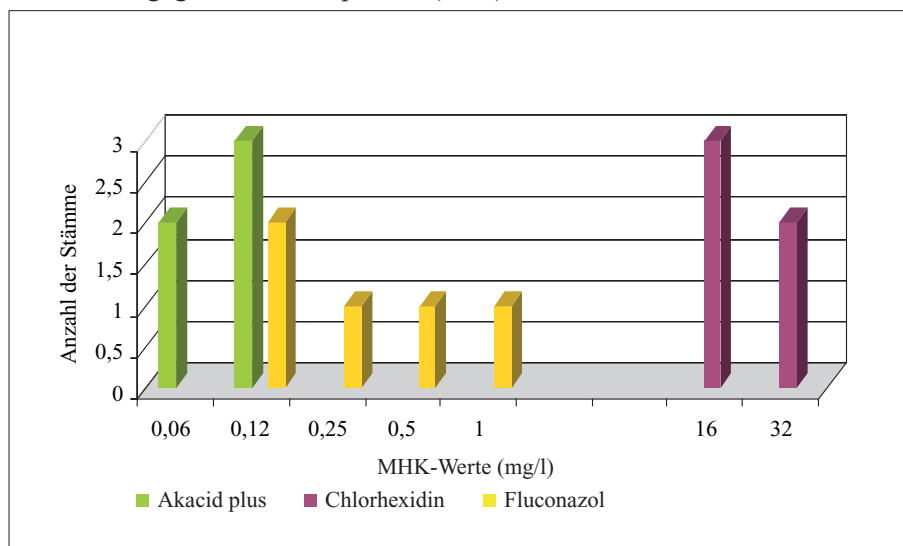
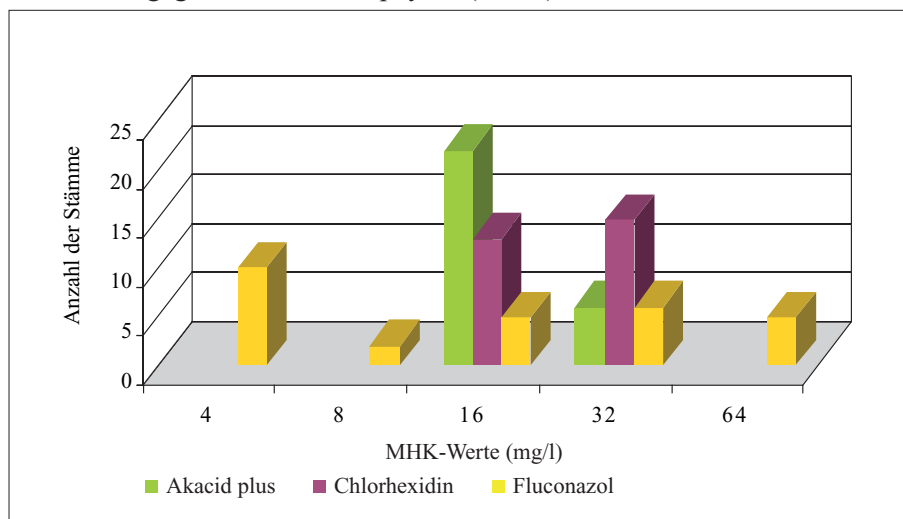


Abbildung 5: Verteilung der MHK-Werte von Akacid plus, Chlorhexidin und Fluconazol gegenüber Dermatophyten (n = 28)



Akacid plus, Amphotericin B und Voriconazol gegenüber den getesteten Schimmelpilzen betrug 0,25 - 32 mg/l, höhere MHK-Werte 16 - >256 mg/l wurden für Caspofungin bestimmt. Die MHK_{90} von Akacid plus gegenüber *Aspergillus* spp. war 16 mg/l und die von Amphotericin B und Voriconazol 8 mg/l (Tabelle 3, Abbildung 6).

Killing-Kurven für *C. krusei* ATCC 6258, *C. tropicalis* ATCC 750 und *C. albicans* 4D wurden erstellt. Die Ergebnisse der zeitabhängigen Abtötung des Fluconazol-resistenten Stamms *C. albicans* 4D durch Akacid plus sind in Abbildung 7 dargestellt. Akacid plus in einer Konzentration $\geq 1 \times$ MHK führte zu einer Abtötung von *Candida* spp. nach einer Exposition von 5 - 6 Stunden bei 37°C.

Diskussion

Der weltweite Gebrauch von Fluconazol hatte eine Resistenzentwicklung gegenüber *C. krusei* und *C. glabrata* zur Folge [14]. Obwohl *C. albicans* gegenüber den konventionellen Antimykotika meistens empfindlich ist, wurde auch bei dieser Spezies eine Resistenzentwicklung gegenüber Azolen bei HIV-Patienten mit oropharyngealen Candidosen und bei klinisch schwer kranken Patienten mit invasiven Candidosen sowie bei Gesunden beschrieben [15, 16]. Außerdem wurde bereits eine Resistenzentwicklung bei *C. tropicalis* gegenüber Fluconazol [17] sowie eine deutlich verminderte Empfindlichkeit von Amphotericin B gegenüber *C. glabrata*, *C. krusei* und *C. lusitaniae* berichtet [4]. Gleichzeitig steigt die Anzahl von Pilzinfektionen stetig an, sodass eine Entwicklung neuer antifungaler Substanzen mit unterschiedlichen Wirkmechanismen erforderlich wird. In der vorliegenden Arbeit

Tabelle 2: *In vitro*-Aktivität von Akacid plus, Chlorhexidin, Fluconazol und Clotrimazol gegenüber Dermatophyten insgesamt (Σ) bzw. getrennt für *T. rubrum* und Non-*rubrum*-Spezies (n).

Pathogen (Σ /n)	Wirksubstanz	MHK (mg/l)		
		MHK-Bereich	MHK ₅₀	MHK ₉₀
<i>Dermatophyten</i> ($\Sigma=28$)	Akacid plus	16 - 32	16	32
	Chlorhexidin	16 - 32	32	32
	Fluconazol	4 - 64	16	64
	Clotrimazol	0,06 - 0,5	0,125	0,5
<i>T. rubrum</i> (n=17)	Akacid plus	8 - 32	16	32
	Chlorhexidin	16 - 32	32	32
	Fluconazol	4 - 64	4	32
	Clotrimazol	0,125 - 0,5	0,5	0,5
Non- <i>rubrum</i> (n=11)	Akacid plus	16 - 32	16	32
	Chlorhexidin	16 - 32	16	32
	Fluconazol	16 - 64	16	64
	Clotrimazol	0,06 - 0,125	0,06	0,125

wurde ein Vergleich von Akacid plus zu konventionellen Antimykotika und Chlorhexidin gezogen. Akacid plus zeigte sowohl ähnliche *In vitro*-Wirksamkeit gegenüber *Candida* spp. als auch gegenüber den Fadenpilzen (Dermatophyten und Schimmelpil-

zen). 10% der getesteten *Candida* spp. waren resistent und 21,1% waren dosisabhängig empfindlich gegenüber Fluconazol. Hohe MHK-Werte von Caspofungin wurden gegenüber Schimmelpilzen gefunden, jedoch haben *In vivo*-Ergebnisse gegenüber

Aspergillus spp. in der Vergangenheit gezeigt, dass zur Evaluierung der *In vitro*-Ergebnisse besser die minimale effektive Konzentration (MEK) statt der MHK bestimmt werden sollte. Die MEK wird als die niedrigste Konzentration definiert, die einen morphologischen Effekt an den Zellmembranen von Pilzen produziert [18]. Für die anderen konventionellen Antimykotika konnte eine Übereinstimmung zwischen den *In vitro*-Ergebnissen und der *In vivo*-Wirksamkeit bestätigt werden [4, 7]. Frühere *In vitro*-Studien an Akacid plus haben die fungizide Wirksamkeit der neuen Substanz im quantitativen Suspensionstest mit und ohne organische Belastung gegenüber den Qualitätskontrollstämmen von *C. albicans* ATCC 10231 und *A. niger* ATCC 16404 demonstriert [19]. In dieser Studie konnte eine Abtötung von *Candida* spp. bei 1x MHK nach

Abbildung 6: Verteilung der MHK-Werte von Akacid plus, Chlorhexidin und Fluconazol gegenüber Schimmelpilzen (n=14)

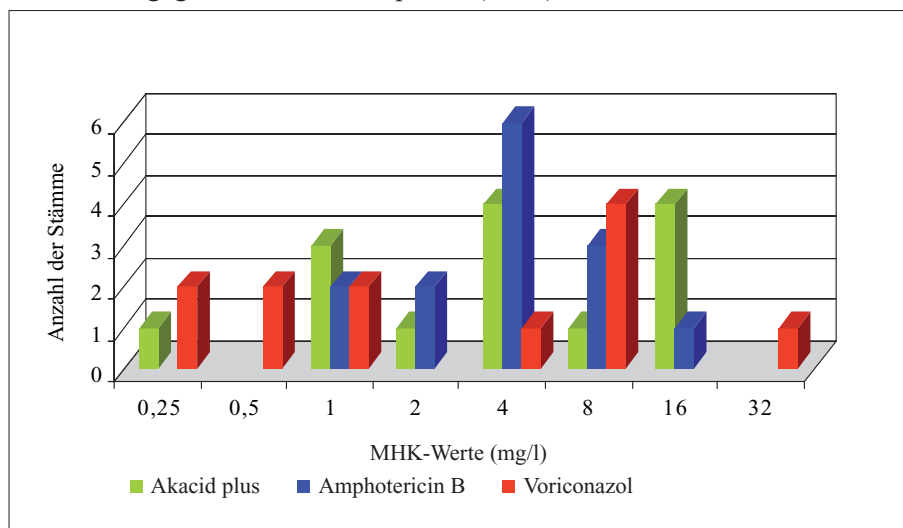
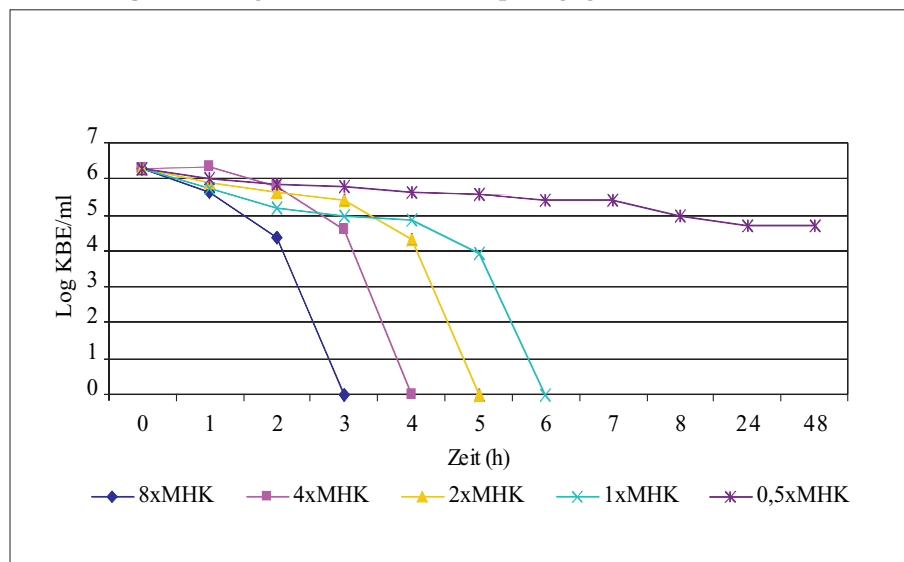


Tabelle 3: In vitro-Aktivität von Akacid plus, Amphotericin B, Voriconazol und Caspofungin gegenüber Schimmelpilzen insgesamt (Σ) bzw. getrennt für *Aspergillus* und Non-*Aspergillus*-Spezies (n)

Pathogen (Σ /n)	Wirksubstanz	MHK (mg/l)		
		MHK-Bereich	MHK ₅₀	MHK ₉₀
Schimmelpilze ($\Sigma = 14$)	Akacid plus	0,25 - 16	4	16
	Amphotericin B	1 - 16	4	8
	Voriconazol	0,25 - 32	1	8
	Caspofungin	16 - >256	128	256
<i>Aspergillus</i> spp. (n = 7)	Akacid plus	2 - 16	8	16
	Amphotericin B	1 - 8	4	8
	Voriconazol	0,5 - 8	8	8
	Caspofungin	16 - >256	128	256
Andere Schimmelpilze (n = 7)	Akacid plus	0,25 - 16	1	8
	Amphotericin B	1 - 16	4	8
	Voriconazol	0,25 - 32	0,5	1
	Caspofungin	16 - >256	128	256

Abbildung 7: Killing-Kurve von Akacid plus gegenüber *C. albicans* 4D



einer Exposition von nur 5 - 6 Stunden gezeigt werden. Aufgrund der vergleichbaren In vitro-Wirksamkeit zu konventionellen Antimykotika und Chlorhexidin und der raschen Aktivität gegenüber *Candida* spp. könnte das neue Biozid Akacid plus zukünftig

eine wichtige Rolle in der Prophylaxe und Therapie von Pilzinfektionen spielen.

Literatur:

1. Vincent J.L., Bihari D.J., Suter P.M., et al.: "The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European prevalence of infection in intensive care (EPIC) study. EPIC international advisory committee." JAMA 274 (1995) 639-644.
2. Pfaller M.A., Jones R.N., Edmond M.B., Wenzel R.P.: "National surveillance of nosocomial blood stream infection due to species of *Candida albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE programme." Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 30 (1998) 121-129.
3. Goswami D., Goswami R., Banerjee U., Dadhwal V., Miglani S., Latiff A., Kochupillai N.: "Pattern of *Candida* species isolated from patients with diabetes mellitus and vulvovaginal candidiasis and their response to single dose oral fluconazole." J. Infect. 52 (2006) 111-117.
4. Pappas P.G., Rex J.H., Sobel D., et al.: "Guidelines for treatment of candidiasis." J. Infect. Dis. 38 (2004) 161-189.
5. Sims C.R., Ostrosky-Zeichner L., Rex J.H.: "Invasive candidiasis in immunocompromised hospitalized patients." Arch. Med. Res. 36 (2005) 660-671.
6. Kontoliannis D.B., Bodey G.B.: "Invasive

- aspergillosis in 2002: an update.“ Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 21 (2002) 161-172.
7. Stevens D.A., Kan V.L., Judson M.A., et al.: “Practice guidelines for diseases caused by *Aspergillus*.” Clin. Infect. Dis. 30 (2000) 696-709.
8. Fernandez-Torres B., Carrillo A.J., Martin E., et al.: “*In vitro* activities of 10 antifungal drugs against 508 dermatophyte strains.” Antimicrob. Agents Chemother. 45 (2001) 2524-2528.
9. Imbert C., Lassy E., Daniault G., Jacquemin J.L., Rodier M.H.: “Treatment of plastic and extracellular matrix components with chlorhexidine or benzalkonium chloride: effect on *Candida albicans* adherence capacity *in vitro*.” J. Antimicrob. Chemother. 51 (2003) 281-287.
10. Molteni B., D’Antuono A., Bandini P., et al.: “Efficacy and tolerability of a new chlorhexidine-based vaginal gel in vaginal infections.” Curr. Med. Res. Opin. 20 (2004) 849-853.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved Standard M27-A2. NCCLS, Wayne, PA (2002).
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved Standard M38-A. NCCLS, Wayne, PA (2002).
13. Karlowsky J.N., Harding G.A.J., Zelenitsky S.A., et al.: “*In vitro* kill curves of a new semisynthetic echinocandin, LY-303366, against fluconazole-sensitive and -resistant *Candida* species.” Antimicrob. Agents Chemother. 41 (1997) 2576-2578.
14. Rex J.H., Rinaldi M.G., Pfaller M.A.: “Resistance of *Candida* Species to fluconazole.” Antimicrob. Agents Chemother. 39 (1995) 1-8.
15. Marr K.A., White T.C., Burik J.A.H., Bowden R.A.: “Development of fluconazole resistance in *Candida albicans* causing disseminated infection in a patient undergoing marrow transplantation.” Clin. Infect. Dis. 25 (1997) 908-910.
16. Xu J.G., Ramos A.R., Vilgalys R., Mitchell T.G.: “Clonal and spontaneous origins of fluconazole resistance in *Candida albicans*.” J. Clin. Microbiol. 38 (2000) 1214-1220.
17. Barchiesi F., Calabrese D., Sanglard D., et al.: “Experimental induction of fluconazole resistance in *Candida tropicalis* ATCC 750.” Antimicrob. Agents Chemother. 44 (2000) 1578-1584.
18. Kurtz M.B., Heath I.B., Marrinan J., Dreikorn S., Onishi J., Douglas C.: “Morphological effects of lipopeptides against *Aspergillus fumigatus* correlate with activities against (1,3)-Beta D-glucan synthesis.” Antimicrob. Agents Chemother. 38 (1994) 1480-1489.
19. Kratzer C., Tobudic S., Graninger W., Buxbaum A., Georgopoulos A.: “*In vitro* antimicrobial activity of the novel polymeric guanidine Akacid plus.” J. Hosp. Infect. (2006), in press.

Korrespondierender Autor:

Univ.-Prof. DDr. Apostolos Georgopoulos
Univ.-Klinik für Innere Medizin I, Klin. Abt.
für Infektionen und Chemotherapie
A-1090 Wien, Währinger Gürtel 18-20

E-Mail:
apostolos.georgopoulos@meduniwien.ac.at