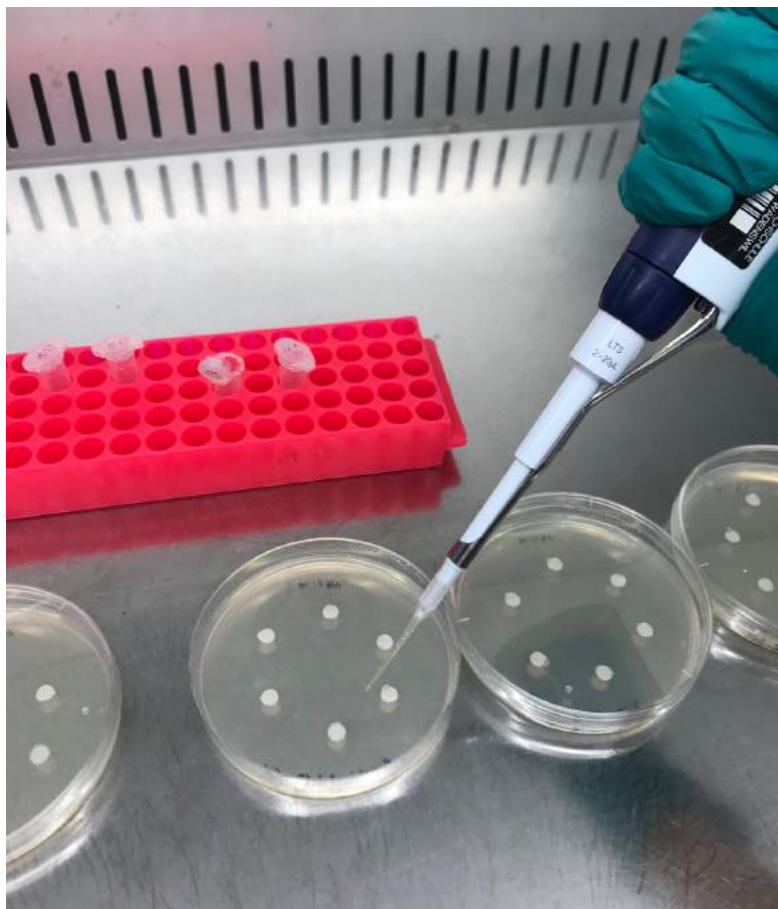


# Die antibakterielle Wirkung ätherischer Öle



Julia Bassili  
Im Seewadel 5  
8803 Rüschlikon

Maturitätsarbeit  
Kantonsschule Freudenberg  
Betreuung: Herr Thomas Hauser  
Abgabedatum: 17. Dezember 2019

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Vorwort</b>	<b>4</b>
<b>3</b>	<b>Einleitung</b>	<b>5</b>
3.1	Bakterien	5
3.1.1	<i>Aufbau</i>	5
3.1.2	<i>Vermehrung</i>	6
3.1.3	<i>Antibiotika und Resistenzen</i>	7
3.1.4	<i>Steckbriefe der verwendeten Mikroorganismen</i>	9
3.2	Ätherische Öle	11
3.2.1	<i>Was sind ätherische Öle?</i>	11
3.2.2	<i>Antibakterielle Wirkung und Wirkmechanismen</i>	12
3.2.3	<i>Resistenzen</i>	13
3.2.4	<i>Synergien</i>	13
3.3	Hypothesen	14
<b>4</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>15</b>
4.1	Überblick der Methoden zur Bestimmung der minimalen Hemmstoffkonzentration	15
4.1.1	<i>Disk-Diffusion-Test</i>	15
4.1.2	<i>Well-Diffusion-Test</i>	15
4.1.3	<i>Agardilution-Test</i>	15
4.1.4	<i>Mikrodilution-Test</i>	15
4.2	Überblick über meine Labortätigkeit	16
4.3	Vorexperimente	16
4.4	Hauptexperimente	17
4.4.1	<i>Disk-Diffusion-Test zur Wirkung der einzelnen Öle</i>	18
4.4.2	<i>Well-Diffusion-Test zur Wirkung der einzelnen Öle</i>	20
4.4.3	<i>Agardilution-Test zur Wirkung der einzelnen Öle</i>	20
4.4.4	<i>Mikrodilution-Test zur Wirkung der einzelnen Öle</i>	21
4.4.5	<i>Synergie-Tests von Ölkombinationen</i>	22
4.4.6	<i>Antibiotika-Multodisc-Test: Wirkung der Öle im Vergleich mit Antibiotika</i>	23
4.4.7	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	23
<b>5</b>	<b>Resultate</b>	<b>24</b>
5.1	Resultate der einzelnen Öle mit dem Disk-Diffusion-Test	24
5.2	Resultate der einzelnen Öle mit dem Agardilution-Test	25
5.3	Resultate der einzelnen Öle mit dem Mikrodilution-Test	26
5.4	Resultate der Synergie-Tests von Ölkombinationen	34
5.5	Wirkung der Öle im Vergleich mit Antibiotika	35
5.6	Staphylococcus pseudintermedius	41
5.7	Zusammenfassung der Resultate	42
<b>6</b>	<b>Diskussion</b>	<b>43</b>
6.1	Vergleich der Resultate mit der Hypothese 1	43
6.2	Vergleich der Resultate mit der Hypothese 2	44
6.3	Vergleich der Resultate mit der Hypothese 3	44
6.4	Vergleich der Resultate mit der Hypothese 4	45
6.5	Disk-Diffusion-Test im Vergleich zu anderen Methoden und dem Antibiotika-Multodisc-Test	46
6.6	Besonderheiten beim Mikrodilution-Test	47
6.7	Interpretation der Resultate des Antibiotika-Multodisc-Tests	48
6.8	Synergien	50

6.9	Literaturvergleich	51
6.10	Kontamination	52
6.11	Methodenkritik	52
<b>7</b>	<b>Anwendung ätherischer Öle als antibiotisch wirksame Substanzen</b>	<b>55</b>
7.1	Vorteile, Einschränkungen und Herausforderungen	55
7.2	Mögliche Einsatzgebiete	56
7.2.1	<i>Nahrungsmittelindustrie</i>	56
7.2.2	<i>Pflegemittel</i>	56
7.2.3	<i>Antibiotika und Antimykotika</i>	57
7.2.4	<i>Weitere medizinische Anwendungen</i>	57
<b>8</b>	<b>Danksagung</b>	<b>58</b>
<b>9</b>	<b>Glossar</b>	<b>59</b>
<b>10</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>63</b>
<b>11</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>68</b>
<b>12</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>72</b>
<b>13</b>	<b>Anhang</b>	<b>74</b>
13.1	Rohdaten	74
13.1.1	<i>Resultate der ätherischen Öle mit dem Disk-Diffusion-Test</i>	74
13.1.2	<i>Resultate der ätherischen Öle mit dem Agardilution-Test</i>	77
13.1.3	<i>Resultate der ätherischen Öle mit dem Mikrodilution-Test</i>	77
13.1.4	<i>Resultate der Synergie-Tests von Ölkombinationen</i>	81
13.1.5	<i>Resultate der Antibiotika-Multodisc-Tests</i>	81
13.1.6	<i>Resultate des Disk-Diffusion-Tests bei S. pseudintermedius</i>	82
13.1.7	<i>Zusammenfassung aller Resultate</i>	82
13.2	Bilder (Auswahl)	83
13.2.1	<i>Disk-Diffusion-Test-Platten</i>	83
13.2.2	<i>Agardilution-Test-Platten</i>	84
13.2.3	<i>Mikrodilution-Test-Platten</i>	85
13.2.4	<i>Antibiotika-Multodisc-Test-Platten</i>	86
13.3	Spezifikationen der Öle	87

# 1 Zusammenfassung

Gemäss WHO nimmt die Gefahr stetig zu, dass aufgrund von Multiresistenzen keine wirksamen Antibiotika mehr gegen viele Krankheitserreger vorhanden sein und bereits kleinste, bisher noch harmlose Infektionen eine tödliche Gefahr für die Menschheit darstellen könnten. Deshalb ist die Suche nach neuen antibiotischen Wirkstoffen unerlässlich. Mögliche neue Antibiotika wären ätherische Öle. Sie entfalten ihre antibakterielle und antimykotische Wirkung durch eine Vielzahl an Wirkmechanismen, die meist mit der Veränderung der Zellmembranstruktur des Mikroorganismus in Zusammenhang stehen.

Im Rahmen meiner Maturarbeit wollte ich die effektivsten ätherischen Öle anhand der minimalen Hemmstoffkonzentration (MHK)\* (die mit \* markierten Begriffe werden im Glossar erläutert) identifizieren. Dafür habe ich die MHK von zwölf ätherischen Ölen (Nelkenblüten-, Oregano-, Zimtrinden-, Thymian-, Lemongrass-, Geranien-, Rosmarin-, Salbei-, Lavendel-, Teebaum-, Zitronen- und Pfefferminzenöl) an drei grampositiven Bakterien (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* und *Bacillus subtilis*), zwei gramnegativen Bakterien (*Escherichia coli* und *Pseudomonas aeruginosa*) und einem Hefepilz (*Candida albicans*) mit dem Disk-Diffusion-, Agardilution- und Mikrodilution-Test eruiert. Nelkenblüten-, Oregano-, Zimtrinden- und Thymianöl wiesen eine stark wachstumshemmende Wirkung auf. Lemongrass-, Geranien- und Rosmarinöl zeigten eine mittlere Hemmung, während Salbei-, Lavendel-, Teebaum-, Zitronen- und Pfefferminzenöl nur schwach wirkten. Somit konnte ich die Hypothese, dass ätherische Öle eine antibakterielle Wirkung aufweisen, bestätigen. Dass ätherische Öle besser gegen grampositive als gramnegative Bakterien wirken, wie ich vermutet hatte, konnte in dieser Arbeit nicht festgestellt werden. Ausserdem stimmt die Hypothese, dass Thymian- und Zimtrindenöl die am besten hemmenden Öle sind, nicht, weil Nelkenblütenöl die stärkste hemmende Wirkung aufwies. Die ätherischen Öle wiesen die stärkste Hemmung beim Mikrodilution-Test auf.

Ich untersuchte zudem die Wirkung von Nelkenblüten-, Oregano-, Zimtrinden-, Thymianöl auf den multiresistenten Erreger *Staphylococcus pseudintermedius*. Die ätherischen Öle konnten das Bakterium im Wachstum hemmen, jedoch nur in der Höchstkonzentration. Um die Hypothese bestätigen zu können, dass ätherische Öle auch gegen resistente Bakterien eine Wirkung aufweisen, hätte ich jedoch noch weitere Bakterien(stämme) testen müssen.

Des Weiteren testete ich drei Kombinationen aus je zwei Ölen (Oregano- und Thymianöl, Lavendel- und Nelkenblütenöl, Zimtrinden- und Teebaumöl), jedoch konnte keine synergetisch wirkende Hemmung festgestellt werden.

Ausserdem führte ich zum Vergleich Experimente mit acht für Staphylokokken gängigen Antibiotika mit den Staph-Multodiscs von Liofilchem an allen Mikroorganismen durch. Die ätherischen Öle haben im Schnitt weniger stark gehemmt als die Antibiotika, was einerseits an ihrer Hydrophobie, andererseits den kleineren Hemmstoffmengen liegen dürfte.

Ätherische Öle könnten aufgrund dieser antibiotischen Wirkung in vielen Bereichen eine gezielte Anwendung finden: In der Nahrungsmittelindustrie, z. B. in Verpackungen zur Bekämpfung von Lebensmittelpathogenen und Schimmelbefall oder zur Verlängerung der Haltbarkeit der Nahrungsmittel sowie in Desinfektionsmitteln, Lotionen, Bädern und Medikamenten (zur Einnahme). Es sind allerdings noch zusätzliche *In-vivo*-Studien nötig, bevor ätherische Öle ohne Bedenken und im grossen Stil als antibiotische Mittel angewandt werden können.

## 2 Vorwort

In meinem ersten Vorbereitungskurs zur Maturitätsarbeit in der fünften Klasse, dem Projektorientierten Interdisziplinären Kurs (PIK), verfasste ich eine Arbeit über Penicillin und befasste mich dabei zum ersten Mal intensiver mit dem Thema Antibiotika. Danach informierte ich mich aus persönlichem Interesse auch über Probleme wie Resistenzen, wobei mir immer mehr die Gefahr einer sogenannten „Post-Antibiotika-Ära“ bewusst wurde. Damit bezeichnet man den Zustand, in dem gegen viele Krankheitserreger keine wirksamen Antibiotika mehr vorhanden sind und schon kleinste, früher noch harmlose Infektionen eine tödliche Gefahr für die Menschheit darstellen könnten (aerzteblatt.de, 2014). Seit den 1960er Jahren versucht die Pharmaindustrie, bereits verwendete Antibiotika chemisch zu verändern, um auch eine Wirksamkeit gegen resistente Pathogene zu gewährleisten (Dantas, et al., 2015). An neuen Antibiotika wird jedoch kaum geforscht, weil dafür bedeutende Investitionen notwendig sind, jedoch nur sehr selten neue Wirkstoffe entdeckt werden (Fischer, 2015). Wenn doch Antibiotika entdeckt werden, die auch eine Wirkung gegen (multi)resistente Erreger aufweisen, werden diese oft nur als Reserveantibiotika eingesetzt, d. h. nur bei Infektionen mit resistenten Bakterien, um eine allzu schnelle Resistenzbildung gegen diese Reserveantibiotika zu verhindern (Antwerpes, et al., 2015).

Als ich in der Zürichsee-Zeitung einen Artikel über den Einsatz von ätherischen Ölen zur Bekämpfung von pathogenen Spitalbakterien gelesen hatte (Frei, 2018), entschied ich mich sofort, meine Maturitätsarbeit zu diesem Thema zu verfassen. Ätherische Öle können nicht nur stark antibiotisch, sondern auch gegen antibiotikaresistente Erreger wirken. Das Ziel meiner Arbeit besteht darin, die minimale Hemmstoffkonzentration für einige ätherische Öle mittels Experimenten – bei typischen, zum Teil auch resistenten Erregern – zu eruieren.

Obwohl ich bei meiner Recherche zahlreiche Studien dazu fand, werden ätherische Öle immer noch kaum als antimikrobiell wirksame Substanzen eingesetzt. Die Entwicklung konkreter Produkte wäre der nächste Schritt, um Lösungen für die Post-Antibiotika-Ära bereit zu stellen.

### 3 Einleitung

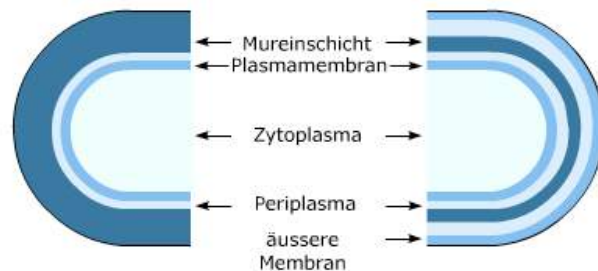
#### 3.1 Bakterien

##### 3.1.1 Aufbau

Ein Grundwissen über den Aufbau von Bakterien ist wesentlich für das Verständnis von antibiotischen Wirkmechanismen und die Entstehung von Resistenzen. Bakterien gehören zum Reich der Prokaryoten und weisen einen einfacheren Zellaufbau auf als Eukaryoten, zu denen jegliche Pflanzen- und Tierzellen gehören. Prokaryoten sind um einiges kleiner als Eukaryoten, im Durchschnitt 2  $\mu\text{m}$  lang und 0.4–1  $\mu\text{m}$  dick (Vogel, et al., 1984). Sie besitzen keinen Zellkern, sondern nur ein Chromosom, das ringförmig in der Zelle vorliegt und das man auch als Nukleoid oder Kernäquivalent bezeichnet (Vogel, et al., 1984) (Schön, 1999).

Bakterien werden gemäss ihrer Form in vier Gruppen eingeteilt: kugelförmige Kokken, stäbchenförmige Bazillen, kommaförmige Vibrionen und kornenziehartige Spirillen. (Schön, 1999) (Vogel, et al., 1984)

Das Zytoplasma wird durch die Plasmamembran abgegrenzt, welche neben dem Stoffaustausch mit der Umwelt auch vielen enzymatischen Prozessen dient, da sich auf ihr viele Enzyme befinden. Darüber liegt die formbestimmende Stützschicht, gefolgt von einer starren Zellwand. Die Gramfärbung gibt Aufschluss über die Bauweise der Zellwand, weshalb man Bakterien grob in zwei Kategorien einteilt: grampositiv und gramnegativ. Bei der Gramfärbung werden die Bakterien zuerst in eine Kristallviolett-Lösung getaucht, gefolgt von einer Jodlösung, um das Pigment zu fixieren. Vor der Gegenfärbung mit dem roten Farbstoff Safranin versucht man, anhand einer Alkohol-Aceton-Lösung das Kristallviolett auszuspülen. Bakterien, die das Kristallviolett behalten haben und deshalb violett gefärbt werden, nennt man grampositiv. Gramnegativ werden hingegen jene Bakterien bezeichnet, bei denen die Alkohol-Aceton-Lösung das Kristallviolett ausspülen konnte und die folglich durch das Safranin rot gefärbt werden. Der Unterschied ihrer Bauweise ist relevant für antibiotische Wirkmechanismen. (Vogel, et al., 1984) (Konemann, 2003)



**Abbildung 1:** Zellaufbau eines grampositiven (links) und eines gramnegativen (rechts) Bakteriums.

Grampositive Bakterien besitzen eine dicke Zellwand, die aus mehreren Schichten Peptidoglykan (auch Murein genannt), einem Molekül aus Peptiden und Kohlenhydraten, besteht (Abb. 1). Die grampositive Zellwand weist einen dreidimensionalen (gitterartigen) Bau von Kohlenhydraten wie Muraminsäure sowie Aminosäuren wie Alanin, Lysin und Glycin auf. Durch ihre Dicke sind grampositive Zellwände ziemlich starr, aber dennoch porös. Deshalb kann das Kristallviolett in die Zellwand einsickern und dort mit der Jodlösung zu Kristallen reagieren, welche durch ihre Grösse nicht mehr herausgespült werden können. Zudem führt die

entwässernde Wirkung der Alkohol-Aceton-Lösung zum Schliessen der Poren, was die Farbkristalle noch mehr einschliesst. Folglich bleiben grampositive Bakterien violett-blau gefärbt. (Konemann, 2003)

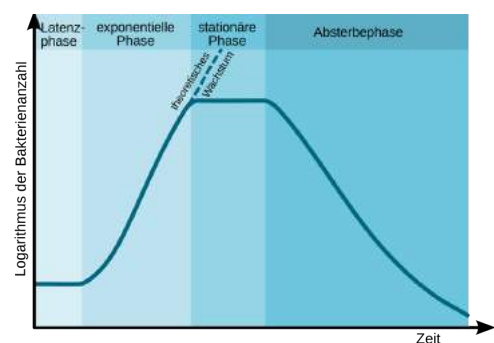
Im Gegensatz dazu besitzen gramnegative Bakterien eine viel dünnere Zellwand, die aus nur einer oder wenigen Schichten Peptidoglykan besteht (Abb. 1). Die gramnegative Zellwand ist zwar auch porös, aber nicht so rigide wie die Zellwand grampositiver Bakterien. Das Kristallviolett färbt die Zellwand zwar, die Alkohol-Aceton-Lösung wäscht jedoch alles wieder mühe-los heraus. Gramnegative Bakterien müssen deshalb durch die Gegenfärbung mit Safranin sichtbar gemacht werden. Obwohl gramnegative Zellwände dünner als grampositive sind, gelten sie als komplexer, denn auf ihnen befindet sich eine zweite Membran mit einer Vielzahl von weiteren Verbindungen wie Lipopolysacchariden, Phospholipiden (die auch in menschlichen Zellmembranen vorkommen) und Porinproteinen, die den Stoffaustausch durch die Membran regulieren und z. B. auch antibiotische Stoffe am Eindringen hindern. (Konemann, 2003) (Vogel, et al., 1984) (Schön, 1999)

### 3.1.2 Vermehrung

Bakterien vermehren sich ungeschlechtlich, indem sie sich ohne Gen-Austausch querteilen (Vogel, et al., 1984); dabei entstehen Klone. Bei optimalen Wachstumsbedingungen, d. h. ohne Toxine oder antibiotische Substanzen sowie bei genügend Nährstoffen, einem neutralen pH-Wert, der optimalen Temperatur und der richtigen Sauerstoffkonzentration, können sich Bakterien jeweils alle 20 Minuten teilen (Jaksic-Born, 2007) (Schön, 1999). Die optimale Temperatur hängt vom typischen Lebensraum ab und variiert deshalb von Art zu Art. Sie liegt jedoch meistens zwischen 25 – 37 °C. Bakterien wie *E. coli*, die in der menschlichen Darmflora vorzufinden sind, bevorzugen folglich eine Temperatur von 37 °C. Die optimale Sauerstoffkonzentration unterscheidet sich je nach Bakterienart, da Bakterien grob in zwei Kategorien (mit weiteren Unterkategorien) eingeteilt werden können:

- 1) aerobe, die für ihren Stoffwechsel Sauerstoff benötigen
- 2) anaerobe, die keinen Sauerstoff benötigen bzw. gar nicht mit ihm in Kontakt treten dürfen. (Schön, 1999)

Bakterielles Wachstum lässt sich in vier Phasen einteilen (Abb. 2): In der Latenzphase, auch als lag-Phase bekannt, wachsen die Bakterien langsam an, da sie ihren Stoffwechsel zuerst ankurbeln und an die neue Umgebung anpassen müssen. In der exponentiellen Phase, auch log-Phase genannt, gibt es (bei optimalen Bedingungen) ein exponentielles Wachstum der Kultur. Das Wachstum kommt in der stationären Phase durch Nährstoffmangel und Giftstoffe, die stoffwechselbedingt entstehen, zum Erliegen. Durch Zelltod in der Absterbephase kann die Zahl der Bakterien auch abnehmen, wenn sich kaum mehr Bakterien teilen. (Henn-Sax, o.J.) (Jaksic-Born, 2007)



**Abbildung 2:** Bakterielle Wachstumskurve, eingeteilt in Latenz-, exponentielle, stationäre und Absterbe-Phase.

Bei allzu ungünstigen Bedingungen können gewisse Bakterien eine zusätzliche dicke Kapsel innerhalb der Zelle bilden und in den Endosporen-Zustand verfallen. Diese können durch ihre Kälte- und extreme Hitzeresistenz jahrelang lebensfeindliche Bedingungen überleben, was die

Sterilisation von Objekten sehr schwierig macht. Sobald sie auf günstigere Bedingungen treffen, verlassen sie innerhalb weniger Minuten den Sporen-Zustand und setzen ihr Wachstum fort. (Schön, 1999) (Jaksic-Born, 2007)

### 3.1.3 Antibiotika und Resistenzen

Antibiotika und antimikrobielle Agenzien wie Desinfektionsmittel können entweder das Bakterienwachstum hemmen (bakteriostatisch) oder sogar Bakterien abtöten (bakterizid). Antibiotika entfalten ihre Wirkung, indem sie laut Schön (1999) „spezifische lebensnotwendige biochemische Stoffwechselreaktionen und Strukturen schädigen, die nur in Prokaryoten, nicht aber in Eukaryoten vorkommen“. Somit schädigen sie nicht den Menschen, der das Antibiotikum einnimmt, sondern bekämpfen zielgerichtet die Bakterien. Es gibt eine Vielfalt von Antibiotika, die viele verschiedene Wirkmechanismen aufweisen. Sie können u. a. die Zellwandbildung, die Proteinsynthese oder den Nucleinsäurestoffwechsel (Herstellung und Reparatur der DNA) beeinträchtigen oder sogar zum Erliegen bringen sowie die Plasmamembran zerstören. (Schön, 1999) (Konemann, 2003)

Nicht jedes Antibiotikum ist gegen alle Erreger wirksam, denn diese können auch eine Resistenz gebildet haben. Man muss hierbei aber zwischen primärer und sekundärer Resistenz unterscheiden. Eine **primäre Resistenz** ist von Natur aus gegeben, z. B. wegen einer besonderen Zellwandstruktur. Penicillin zum Beispiel ist nur gegen grampositive Bakterien wirksam, da es ein Enzym blockiert, das für den Aufbau ihrer Zellwand essentiell ist. Gramnegative Bakterien besitzen eine andere Zellwandstruktur (vgl. 3.1.1), weshalb Penicillin bei ihnen keine Wirkung entfalten kann. (Schön, 1999)

**Sekundäre Resistenzen** sind erworbene Resistenzen. Diese entstehen grundsätzlich immer, wenn ein Antibiotikum über längere Zeit und häufig gegen einen Erreger eingesetzt wird. Obwohl Bakterien sich ungeschlechtlich vermehren, haben sie mehrere Möglichkeiten, Genmaterial auszutauschen und so zu rekombinieren. Dies nennt man parasexuelle Rekombination. (Spektrum, 2001) Hierbei kann zwischen vertikalem und horizontalem Gentransfer unterschieden werden.

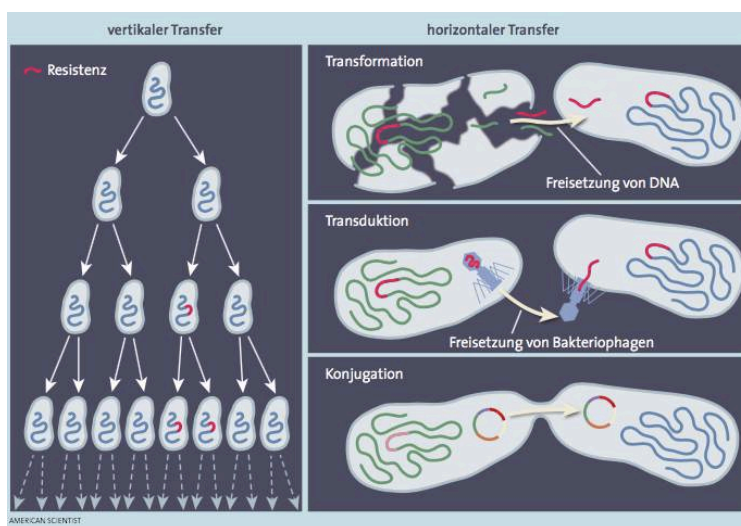
Beim **vertikalen Gentransfer** werden Resistenzgene bei der Zellteilung an die Tochterzellen weitergegeben (Abb. 3). Die Resistenzgene entstehen durch Mutationen, die entweder durch unkorrigierte Fehler bei der Replikation oder auch durch Transposons verursacht werden. Transposons sind mobile DNA-Segmente, die sich meist zufällig innerhalb der DNA verschieben und somit das Genom des Bakteriums verändern können (Konemann, 2003). Laut Dantas et al. (2015) können aufgrund von Mutationen Antibiotikaresistenzen folgendermassen entstehen: „Typischerweise erwirbt nur eines von 1000 teilungsaktiven Bakterien eine bleibende Mutation. Bei Weitem nicht alle dieser genetischen Änderungen sind vorteilhaft, doch etwa jede milliardste bringt eine Zellvariante hervor, die sich rascher vermehrt oder höhere Antibiotikakonzentrationen toleriert als ihre Vorgänger. Setzt man nun eine Bakterienpopulation unter Stress, indem man sie mit Antibiotika behandelt, so vermehren sich bevorzugt die Zellen mit resistenzvermittelnden Mutationen, bis sie schliesslich die gesamte Population ausmachen. Und folgen mehrere solcher Zyklen von Mutationsbildung und Selektion aufeinander, entsteht am Ende eine hochgradig resistente Population.“

Beim **horizontalen Gentransfer** werden die aufgenommenen Gene sofort wirksam, indem sie das Empfängerbakterium verändern, was die Gefährlichkeit erhöht. Es wird nur ein Teilstück des Chromosoms übertragen, wobei keine Verschmelzung mit der bestehenden DNA stattfindet. (Schön, 1999) Oft ist dieses Teilstück ein Plasmid, d. h. ein ringförmiges DNA-Stück, das ausserhalb des Chromosoms liegt und sich eigenständig replizieren kann (Vogel, et al., 1984).



Hierbei wird zwischen der Transformation, der Transduktion und der Konjugation unterschieden (Abb. 3):

- Bei der **Transformation** wird freies Genmaterial in Form von Plasmiden und Chromosomenteilchen von einer toten Zelle in eine lebendige aufgenommen. Deshalb kann ein nicht-virulenter Stamm nach Kontakt mit einem virulenten, vorher hitzegetöteten Stamm trotzdem plötzlich auch Infektionen hervorrufen. (Vogel, et al., 1984) (Schön, 1999)
- Bei der **Transduktion** sind Bakteriophagen (Bakterien-Viren) die Überträger von Bakteriengenomen. Die Transduktion nimmt besonders in der Verbreitung von Virulenzfaktoren eine wichtige Rolle ein. Virulenzfaktoren sind krankmachende Eigenschaften des Bakteriums wie z. B. die Synthese von Toxinen. Ausserdem wird die Transduktion in der Gentechnik verwendet, um Bakterien gezielt gewisse Eigenschaften zu verleihen. (Schön, 1999) (Vogel, et al., 1984)
- Bei der **Konjugation** bildet ein Bakterium eine Plasmabrücke aus. Durch diese können nur in eine Richtung Chromosomenteilchen und Plasmide übertragen werden. Die Konjugation kann auch zwischen nicht-verwandten Bakterienarten stattfinden und spielt deshalb nicht nur unter Artgenossen eine wichtige Rolle bei der Übertragung von Resistenzplasmiden. (Schön, 1999) (Vogel, et al., 1984) (Konemann, 2003)



**Abbildung 3:** Schema zu den verschiedenen Arten von Resistenzgenübertragung. Beim vertikalen Transfer werden Resistenzen bei der Zellteilung weitergegeben, beim horizontalen Transfer werden diese zwischen zwei verschiedenen Bakterien ausgetauscht.

Resistenzmechanismen können laut Dantas, et al. (2015) in folgende vier Kategorien eingeteilt werden, wobei oft eine Kombination mehrerer Mechanismen vorhanden ist:

- 1) **Anpassung der Membran.** Durch die Veränderung der Porinformen können Antibiotika nicht mehr ins Zellinnere gelangen. Porine sind Membranproteine, die aufgrund ihrer Form nur gewisse Stoffe in die Zelle lassen. (Konemann, 2003) (Dantas, et al., 2015)
- 2) **Veränderung der Zielstruktur.** Durch die Anpassung der Struktur, die das Antibiotikum attackiert, wird der Wirkstoff unwirksam. Zum Beispiel können durch Mutation neue Ribosomenformen entstehen, die nicht mehr durch Aminoglykoside beeinträchtigt werden können. (Konemann, 2003) (Dantas, et al., 2015)
- 3) **Synthese von Enzymen,** welche die Antibiotika zerstören. Ein Beispiel hierfür sind  $\beta$ -Lactamasen, die den Wirkstoff  $\beta$ -Lactam u. a. in Penicillinen unschädlich machen. (Konemann, 2003) (Dantas, et al., 2015)
- 4) **Bildung von Effluxpumpen.** Diese pumpen Antibiotika aus der Zelle, bevor sie Schaden anrichten können. (Konemann, 2003) (Dantas, et al., 2015)

Als **multiresistente Erreger** bezeichnet man Bakterien, die sich gegen eine Vielzahl von Antibiotika resistent zeigen. Diese Bakterienstämme stellen vor allem für Patienten in Krankenhäusern eine Gefahr dar, da dort aufgrund der Patientenansammlung mehr Erreger vorhanden sind und die Patienten aufgrund von Operationen und Krankheit zudem ein geschwächtes Immunsystem aufweisen. Erreger, die vor allem in Krankenhäusern von Patient zu Patient übertragen werden, nennt man nosokomial. (Konemann, 2003) In Deutschland gibt es laut Bundesgesundheitsministerium jährlich 400'000 bis 600'000 nosokomiale Infektionen, wovon 10'000 bis 15'000 tödlich verlaufen (Dantas, et al., 2015).

Die Gefahr einer Post-Antibiotika-Ära wird immer grösser, da immer mehr multiresistente Erreger existieren, es aber nur eine begrenzte Anzahl an neuen Antibiotika gibt. Eine solche Situation wäre sehr unheilvoll, da schon kleinste, früher noch harmlose Infektionen tödlich verlaufen könnten. Deshalb ist es unerlässlich, dass an neuen Antibiotika geforscht wird. (aerzteblatt.de, 2014) (Schön, 1999)

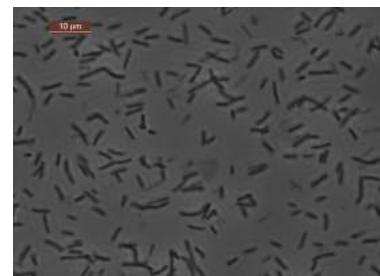
Es existieren Faktoren aus verschiedenen Bereichen, die zur Entstehung antibiotikaresistenter Bakterien beitragen. Beispielsweise sollten Antibiotika genügend lange eingenommen werden, damit alle Bakterien abgetötet werden können. Ausserdem ist es wichtig, dass Antibiotika nur bei absoluter Notwendigkeit und nicht zur Prophylaxe eingesetzt werden. Eine weitere Gefahr stellt die Massentierhaltung dar: In der Tierhaltungsindustrie werden viermal mehr Antibiotika eingesetzt als in der Humanmedizin (Dantas, et al., 2015). Somit können sich dort viele resistente Keime entwickeln, die durch die Nahrungskette zu uns Menschen gelangen können. (aerzteblatt.de, 2014) (Schön, 1999)

### 3.1.4 Steckbriefe der verwendeten Mikroorganismen

Die ätherischen Öle habe ich an folgenden Mikroorganismen getestet:

#### ***Bacillus subtilis***

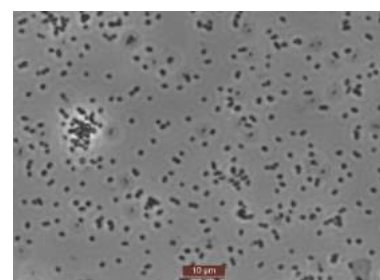
*Bacillus subtilis* ist das wohl am besten untersuchte grampositive Bakterium. Es ist stäbchenförmig und gilt grundsätzlich nicht als pathogen, obwohl es eng mit *B. cereus* (Verursacher von Lebensmittelvergiftungen) und *B. anthracis* (Verursacher von Milzbrand) verwandt ist. Das Bakterium kommt natürlicherweise in der menschlichen Darmflora vor und wird deshalb auch oft als Probiotikum verabreicht. Ausserdem können gewisse Stämme Riboflavin (Vitamin B<sub>2</sub>) (Rychen, et al., 2018) und ein Antibiotikum namens Bacitracin, das gegen grampositive Bakterien wirkt (Nguyen, et al., 2019), synthetisieren. *Bacillus subtilis* kann Endosporen bilden und gilt deshalb als sehr widerstandsfähig. (Wickham Laboratories Ltd., 2019)



**Abbildung 4:** *B. subtilis* auf einer lichtmikroskopischen Aufnahme.

#### ***Enterococcus faecalis***

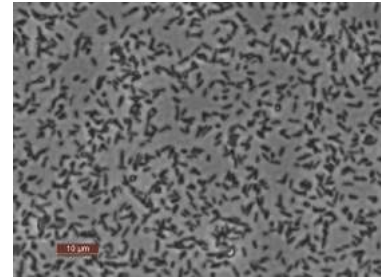
*Enterococcus faecalis* ist eine grampositive Kokke, die als Kommensale („harmloser Mitbewohner“) in unserer Darmflora vorkommt. Sie ist jedoch ein opportunistischer Erreger\* und kann deshalb schwere nosokomiale Infektionen wie Harnwegsinfektionen und Sepsen (Blutvergiftungen) hervorrufen. Es existieren bereits einige multiresistente Stämme. (Kau, et al., 2005)



**Abbildung 5:** *E. faecalis* auf einer lichtmikroskopischen Aufnahme.

***Escherichia coli***

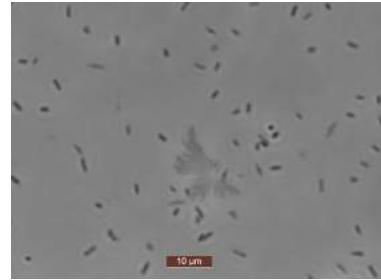
*Escherichia coli* ist eine sehr gut untersuchte gramnegative Bazille (Gänzle, 2004). Sie kommt natürlicherweise im Dickdarm des Menschen vor. Es existieren jedoch auch pathogene Stämme, die Toxine produzieren und u. a. Lebensmittelvergiftungen, Durchfallerkrankungen und Harnwegsinfektionen hervorrufen können. (Nagel, 2018)



**Abbildung 6:** *E. coli* auf einer lichtmikroskopischen Aufnahme.

***Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* ist eine gramnegative Bazille, die überwiegend in feuchter Umgebung wie in Wasser und auf Böden vorzufinden ist. Sie ist ein opportunistischer und folglich auch nosokomialer Erreger, welcher die Mehrheit der im Krankenhaus erworbenen Infektionen hervorruft. Ausserdem weist sie eine Resistenz gegen viele Desinfektionsmittel und Antibiotika auf. *Pseudomonas aeruginosa* bildet typischerweise blaugrünen und fluoreszierenden Eiter und kann zu Wundinfektionen, Lungenentzündungen und Sepsen führen. (Gänzle, 2004) (Nagel, o.J.)



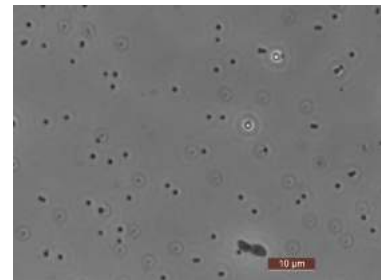
**Abbildung 7:** *P. aeruginosa* auf einer lichtmikroskopischen Aufnahme.

***Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* ist eine grampositive Kokke, die als typischer Eiter-Erreger bekannt ist. Sie ist häufig als Kommensale auf der Haut und in den Schleimhäuten vorzufinden. Kann sie diese natürlichen Barrieren jedoch durch z. B. Hautverletzungen oder Immunschwäche überwinden, können Wundinfektionen, Eiter, Lungenentzündungen und Sepsen eintreten. *Staphylococcus aureus* ist ein typischer nosokomialer Erreger.

Er kann zudem Biofilme bilden, d. h. „dünne Schleimfilme, die ganze Bakterienpopulationen umfassen. Dadurch können sich diese besser vor dem menschlichen Immunsystem schützen (Antwerpes, et al., 2016).“ Ausserdem ermöglichen sie eine gute Haftung an Kunststoff, weshalb Katheter und Prothesen eine grosse Gefahr in Spitälern darstellen können. Besonders unheilvoll ist der multiresistente MRSA-Stamm (*Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus*). (Konemann, 2003) (Nagel, 2015)

Die Toxine, die *Staphylococcus aureus* produziert, können Lebensmittelvergiftungen und das Toxische Schock-Syndrom (TSS) hervorrufen (Wickham Laboratories Ltd., 2019). Beim TSS verursachen die Toxine Fieber, Kreislauf- und Organversagen (Kaspar, 2018).



**Abbildung 8:** *S. aureus* auf einer lichtmikroskopischen Aufnahme.

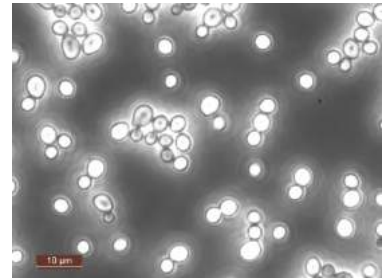
***Staphylococcus pseudintermedius***

*Staphylococcus pseudintermedius* ist eine grampositive Kokke, die vor allem für die Veterinärmedizin von Bedeutung ist, da sie häufig Infektionen bei Haustieren wie Hunden und Katzen hervorruft. Sie kann jedoch auch Menschen mit häufigem Tierkontakt infizieren. Der Stamm ST71 des *Staphylococcus pseudintermedius* ist multiresistent, denn er weist eine Resistenz gegen 13 Antibiotika auf, u. a. gegen Methicillin, Penicillin, Gentamicin und Tetracyclin. (Stegmann, et al., 2010)

### ***Candida albicans***

*Candida albicans* ist ein Hefepilz, mit dem ich aus persönlichem Interesse und zum Vergleich mit den prokaryotischen Bakterien ebenfalls Experimente durchgeführt habe. Pilze gehören zu den Eukaryoten, besitzen also gleich wie menschliche Zellen einen Zellkern. Deshalb dürfen (orale) Antibiotika nicht gegen Pilze wirken, denn dann könnten sie mit grosser Wahrscheinlichkeit auch menschlichen Zellen schaden, weil diese grosse Ähnlichkeiten mit Pilzzellen aufweisen. Eine Ausnahme bilden wohl antibiotische Substanzen, die nur Zellstrukturen angreifen, die bei Pilz-, nicht aber bei menschlichen Zellen vorkommen. Fungizide (pilztötende) Mittel nennt man Antimykotika. (Rogers, et al., 2017) (Gänzle, et al., 2006) (Thieme Römpf, 2002)

*Candida albicans* kommt normalerweise im Mund, Darmtrakt und in der Vagina vor, ist jedoch auch ein opportunistischer Krankheitserreger, der 95 % aller Candidosen hervorruft. Dies ist eine Infektionskrankheit, die vor allem den Darmtrakt, die Schleimhäute, die Haut und die Vagina befällt und gefährlich wird, wenn sich der Pilz in seltenen Fällen in einem Organsystem oder sogar im ganzen Körper verteilt und somit zu einer systemischen Erkrankung wird. (Horsch, 2009) (Tikkanen, et al., 2018) (Gänzle, et al., 2006)



**Abbildung 9:** *C. albicans* auf einer lichtmikroskopischen Aufnahme.

## 3.2 Ätherische Öle

### 3.2.1 Was sind ätherische Öle?

Laut Chouhan (2017) sind sie „komplexe, flüssige, stark riechende und fettlösliche Gemische aus etwa 20 bis 60 flüchtigen Inhaltsstoffen, wovon aber zwei bis drei den Grossteil (ca. 20 bis 70 %) ausmachen, während die anderen nur in sehr geringen Mengen vorkommen.“ Sie bestehen grösstenteils aus Terpenen, Terpenoiden und Phenylpropanoiden (Chouhan, et al., 2017). Terpene sind Kohlenwasserstoffe, die von Pflanzen durch die Anreicherung von Isoprenen (Kohlenwasserstoffmolekül mit der Strukturformel  $C_5H_8$ ) produziert werden und beinhalten häufig zyklische Strukturen. Wenn Terpene durch Enzyme verändert werden und somit funktionelle Gruppen beinhalten, spricht man von Terpenoiden. (Caballero, et al., 2003) Phenylpropanoide sind komplexe Kohlenwasserstoffmoleküle (Wikipedia, 2019). Die genaue Zusammensetzung eines Öls hängt jedoch vom Herkunftsland, Hersteller, Alter, der Extraktionsmethode und weiteren Umweltfaktoren ab und kann dementsprechend (stark) variieren (Zimmermann, 2009).

Ätherische Öle werden aus pflanzlichen Bestandteilen durch Wasserdampfdestillation gewonnen (Hartmann-Schreier, 2007). Bei der Wasserdampfdestillation wird im Destillator Wasserdampf auf die pflanzlichen Bestandteile geblasen. Durch die Kondensation des Wasserdampfes wird Wärme freigesetzt, sodass sich die ätherischen Öle aus der Pflanze verflüchtigen. (Krätz, 2010)

Ätherische Öle werden herkömmlicherweise vor allem als Aromatisierungsmittel in der Lebensmittelindustrie und als Duftstoffe in der Parfümindustrie verwendet. Nur ein kleiner Teil wird für die Aromatherapie oder ähnliche Zwecke benutzt. (Hartmann-Schreier, 2007)

Die Aromatherapie versucht, mit ätherischen Ölen Beschwerden wie z. B. Nervosität oder Schlafstörungen zu lindern (Hartmann-Schreier, 2003).

### 3.2.2 Antibakterielle Wirkung und Wirkmechanismen

Ätherische Öle werden von den Pflanzen als Schutzmechanismen gegen natürliche Feinde (u. a. Bakterienbefall) produziert und eingesetzt. Deshalb erstaunt es nicht, dass viele ätherische Öle eine antibakterielle Wirkung aufweisen (Chouhan, et al., 2017). Zu den am häufigsten genannten gehören Zimtrinden-, Thymian-, Teebaum-, Geranien-, Nelken-, Oregano-, Lavendel-, Rosmarin-, Minzen-, Salbei-, Zitronen- und Lemongrassöl. (Martucci, et al., 2015) (Aumeeruddy-Elalfi, et al., 2015) (Deans, et al., 1987) (Hammer, et al., 1999) (Harkenthal, et al., 1999) (Inouye, et al., 2001) (Kalemba, et al., 2003) (Prabuseenivasan, et al., 2006). Diese habe ich folglich auch für meine Experimente verwendet.

Die antibakterielle Wirkung ätherischer Öle ist auf verschiedene Mechanismen zurückzuführen, wobei diese meistens mit der Veränderung der Plasmamembran in Zusammenhang stehen. Ätherische Öle können sich an die bakterielle Zellwand binden und durch ihre geringe Grösse in die Zelle zur Plasmamembran gelangen, wo sie sich anhäufen. Dadurch bleibt die Membran nicht intakt und wird durchlässiger oder sogar ganz zerstört (Bajpai, et al., 2013) (Lv, et al., 2011). Dies stellt für die Bakterienzelle eine grosse Gefahr dar, weil nun die enzymatischen Prozesse, die an der Membran stattfinden, gestört werden und die Zelle dem osmotischen Druck nicht mehr standhalten kann. Folglich strömen viele lebenswichtige Stoffe wie Elektrolyten, Proteine und DNA aus. Dadurch wird die Zelle am Wachstum gehindert, beschädigt oder sogar abgetötet. (Cui, et al., 2015) (Lakehal, et al., 2016) (Macwan, et al., 2016) (Cox, et al., 2000)

Der genaue Wirkmechanismus hängt jedoch vom Wirkstoff ab. Folgende Wirkstoffe (mit ihren spezifischen Wirkmechanismen) sind bekannt und auch für meine Experimente relevant:

- Thymol ist ein Terpenoid, das in Thymianöl vorkommt (Inouye, et al., 2001) und eine starke antibakterielle Wirkung aufweist, da es viele energetische Prozesse in den Bakterienzellen stört und besonders die Membranen von *P. aeruginosa* und *S. aureus* durchlässig macht (Sikkema, et al., 1995) (Rao, et al., 2010). Thymol ist auch gegen *Candida*-Pilze wirksam, weil es die Ergosterol\*-Produktion behindert (Ahmad, et al., 2010).
- Carvacrol ist ein Terpenoid, das ein Isomer von Thymol ist. Es kommt in Thymian- und Oreganoöl vor und besitzt ebenfalls eine stark antibakterielle Wirkung. Es kann die äussere Membran der gramnegativen Bakterien verändern (La Stora, et al., 2010) und bewirken, dass Ionen aus der Zelle heraus transportiert werden (Magi, et al., 2015).
- Terpinen-4-ol ist ein Terpenoid, das in Teebaumöl vorkommt. Es kann bakterizid wirken, indem es die Zellatmung beeinträchtigt und die zytoplasmatische Membran durchlässig macht – ein Ausstrom von Kaliumionen ist die Folge. (Cox, et al., 2000)
- Eugenol ist ein Phenylpropanoid, das in Nelkenöl vorkommt (Bhuiyan, et al., 2010) und antimikrobiell wirkt, indem es die Zellwand zerstört und eine normale Enzymfunktion verhindert (Vergis, et al., 2013).
- Zimtaldehyd ist ein Phenylpropanoid, das in Zimtrindenöl vorkommt und den Stoffwechsel von *E. coli* und *S. aureus* stören und sogar ihre Membran zerstören kann (Zhang, et al., 2016).

Die antibakterielle Wirkung eines ätherischen Öls hängt jedoch von der genauen Zusammensetzung und von den verwendeten Bakterienstämmen ab, da unter anderem Resistenzen zwischen den Bakterienstämmen variieren können. Experimente, die mit der gleichen Bakterienart, jedoch nicht mit dem gleichen Stamm ausgeführt wurden, sind daher nicht zwingend vergleichbar.

### 3.2.3 Resistenzen

Ätherische Öle können auch gegen Erreger wirken, die eine Resistenz gegen herkömmliche Antibiotika aufweisen. Das liegt zum einen daran, dass der Begriff „ätherische Öle“ eine Vielzahl von verschiedenen Pflanzenölen mit einer Vielzahl verschiedener antibakterieller Bestandteile abdeckt. Deshalb dürfte es meiner Meinung nach kaum Bakterien geben, welche Primärresistenzen gegen alle Öle aufweisen. Ausserdem werden ätherische Öle nicht in industriellen Mengen als Antibiotikum eingesetzt, was das Risiko der Bildung von Sekundärresistenzen minimiert. Zudem können gewisse Bestandteile Resistenzmechanismen der Bakterien angreifen. Ein Beispiel dafür ist Geraniol, ein Terpenoid, das in Rosen- und Zitronenmelissenöl (in geringen Mengen auch in Geranien- und Zitronenöl) vorkommt (PubChem, o. J.) und gegen resistente gramnegative Bakterien wirken kann, indem es ihre Effluxpumpen angreift (Lorenzi, et al., 2009). Ausserdem rechne ich damit, dass eine Resistenz gegen ätherische Öle aufgrund ihrer sehr komplexen und leicht variablen Zusammensetzung langsamer entsteht, was sehr vorteilhaft ist. Sollten ätherische Öle jedoch in Zukunft in industriellen Mengen verwendet werden, lässt sich eine Resistenzbildung wohl kaum vermeiden.

### 3.2.4 Synergien

Synergien konnten sowohl zwischen einzelnen Ölen oder Ölbestandteilen als auch zwischen Ölen oder Ölbestandteilen in Kombination mit herkömmlichen Antibiotika festgestellt werden. Synergien sind laut Wagner (2009) dadurch zu erklären, dass „die einzelnen Wirkstoffe das Bakterium mit unterschiedlichen Mechanismen angreifen und somit ein Maximum an Schaden anrichten oder gegenseitig ihre Löslichkeit erhöhen.“ Ätherische Öle können ausserdem Resistenzmechanismen gegen Antibiotika ausschalten, weshalb die Kombination eines ätherischen Öls mit einem Antibiotikum synergetisch wirken kann. Zudem ist das Risiko einer Resistenzbildung gegen mehrere Komponenten von verschiedenen Ölen oder Antibiotika bei gleichzeitiger Anwendung viel kleiner. (Stevic, et al., 2014)

Folgende Kombinationen sind Beispiele für Synergien mit Ölbestandteilen (wie Terpene) und Ölen, welche für meine Experimente relevant sind:

- Ölbestandteile:  
Eugenol (z. B. in Nelke) in Kombination mit Linalool (z. B. in Lavendel) oder mit Menthol (z. B. mit Pfefferminze) (Bassolé, et al., 2010).
- Öle:  
Oreganoöl in Kombination mit Thymianöl (gegen Schimmelpilze) (Hossain, et al., 2016).
- Ölbestandteile und Antibiotika:  
Thymol (z. B. in Thymian) oder Carvacrol (z. B. in Oregano und Thymian) in Kombination mit Penizillin gegen *E. coli* (Palaniappan, et al., 2010).  
Zimtaldehyd (z. B. in Zimtrinde) wirkt mit ein paar wenigen Antibiotika ebenfalls synergetisch (Zhang, et al., 2011).
- Öle und Antibiotika:  
Oreganoöl in Kombination mit Gentamicin, einem Aminoglykosid-Antibiotikum, gegen *B. subtilis*, *B. cereus* und *S. aureus* (Rosato, et al., 2010).  
Australisches Teebaumöl in Kombination mit Tobramycin gegen *E. coli* und *S. aureus* (D'Arrigo, et al., 2010).



### 3.3 Hypothesen

#### **Hypothese 1: Die meisten ätherischen Öle weisen eine antibakterielle Wirkung auf.**

Die antibakterielle Wirkung ätherischer Öle konnte vielfach nachgewiesen werden (Martucci, et al., 2015) (Aumeeruddy-Elalfi, et al., 2015) (Deans, et al., 1987) (Hammer, et al., 1999) (Harkenthal, et al., 1999) (Inouye, et al., 2001) (Kalemba, et al., 2003) (Prabuseenivasan, et al., 2006) (Chouhan, et al., 2017). Der Wirkmechanismus steht meist mit der Veränderung der Plasmamembran der Bakterien in Verbindung, wobei die Membran oft durchlässiger oder sogar zerstört wird (vgl. 3.2.2 Wirkmechanismus).

#### **Hypothese 2: Gewisse ätherische Öle können das Wachstum von Erregern hemmen, die gegen herkömmliche Antibiotika resistent sind.**

Primärresistenzen von Bakterien gegen alle ätherischen Öle sind aufgrund der grossen Vielfalt an Ölen und der komplexen und variierenden chemischen Zusammensetzung unwahrscheinlich. Sekundärresistenzen dürften auch weniger häufig sein, da ätherische Öle (noch) nicht in industriellen Mengen als antibiotische Substanzen eingesetzt werden. Ausserdem können gewisse chemische Bestandteile von Ölen, wie z. B. Geraniol, Resistenzmechanismen ausschalten (vgl. 3.2.3 Resistenz).

#### **Hypothese 3: Ätherische Öle wirken besser gegen grampositive Bakterien als gegen gramnegative.**

Obwohl dies nicht für jedes Öl und für alle Bakterien bewiesen werden konnte, wurde in Studien die Tendenz festgestellt, dass ätherische Öle besser gegen grampositive als gramnegative Bakterien wirken (Dorman, et al., 200) (Huang, et al., 2014) (Azhdarzadeh, et al., 2015). Dies ist wohl auf die unterschiedliche Zellwandstruktur zurückzuführen. Die wirksamen Bestandteile der ätherischen Öle sind so klein, dass sie problemlos durch die dicke, poröse Peptidoglykan-Zellwand der grampositiven Bakterien zur Plasmamembran gelangen können. Die Zellwand gramnegativer Bakterien besitzt hingegen eine sehr komplexe äussere Membran mit verschiedenen Strukturen wie Lipopolysacchariden (LPS) oder Porinen. Diese hindern die Wirkstoffe am Eindringen. (Hyltdgaard, et al., 2012) (Zinoviadou, et al., 2009)

Grampositive Bakterien besitzen ausserdem gewisse lipophile Strukturen wie Lipoteichonsäure (LTA) auf ihrer Zellwand, was das Eindringen der ebenfalls lipophilen ätherischen Öle erleichtern könnte (Cox, et al., 2000). Die LTA spielt sowohl in der Zellteilung und dem Zellaufbau als auch bei der Resistenz von Bakterien eine wichtige Rolle (Brown, et al., 2014). Eine Erklärung, weshalb die Lipopolysaccharide der gramnegativen Bakterien nicht dieselbe Wirkung hervorrufen, obwohl sie ebenfalls lipophil sind, konnte von Forschern noch nicht gefunden werden.

#### **Hypothese 4: Thymianöl und Zimtrindenöl hemmen im Vergleich zu den anderen getesteten Ölen am stärksten.**

Diese Hypothese habe ich aufgrund meiner Recherchen aufgestellt. Grundsätzlich weisen ätherische Öle, die aus Kräutern oder Gewürzen gewonnen werden, die grösste Wirksamkeit auf. Thymian- und Zimtrindenöl wurden in mehreren Studien als Öle aufgeführt, welche gegen den grössten Teil der Bakterien und auch in sehr tiefen Konzentrationen wirksam sind (Deans, et al., 1987) (Kalemba, et al., 2003) (Hammer, et al., 1999) (Inouye, et al., 2001) (Prabuseenivasan, et al., 2006). Zudem besteht Thymianöl aus den zwei sehr wirksamen Komponenten Thymol und Carvacrol (Chouhan, et al., 2017).

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Überblick der Methoden zur Bestimmung der minimalen Hemmstoffkonzentration

Folgende Methoden werden häufig verwendet, um Bakterien auf Antibiotikaresistenzen zu prüfen. Weil die minimale Hemmstoffkonzentration (MHK)\* mit der Empfindlichkeit (oder Resistenz) eines Mikroorganismus korreliert, können diese Methoden in idealer Weise für die Bestimmung der MHK verwendet werden. Für meine Experimente habe ich alle vier Methoden verwendet. Untenstehende Beschreibungen verschaffen einen groben Überblick über diese Methoden.

#### 4.1.1 *Disk-Diffusion-Test*

Beim Disk-Diffusion-Test, auch Kirby-Bauer-Test genannt, werden die Mikroorganismen auf einer Agarplatte ausgestrichen. Anschliessend legt man kleine Plättchen aus Filterpapier („Disks“) auf die beimpfte\* Platte. Auf diese Disks wiederum pipettiert man den zu testenden Hemmstoff in verschiedenen Konzentrationen. Nach der Inkubation werden die Platten ausgewertet, indem (wenn vorhanden) der Durchmesser des Bereiches gemessen wird, in dem keine Mikroorganismen wachsen konnten (= Hemmhof).

#### 4.1.2 *Well-Diffusion-Test*

Der Well-Diffusion-Test weist grosse Ähnlichkeit mit dem Disk-Diffusion-Test auf. Hier werden jedoch in eine unbeimpfte Platte kleine Löcher („Wells“) gestanzt, in welche man den Hemmstoff in verschiedenen Konzentrationen pipettiert. Den Hemmstoff lässt man anschliessend einziehen, also in die Agarplatte diffundieren. Die Mikroorganismen werden mit Weichagar gemischt und in einem sogenannten „Overlay“ über die Platte gegossen. Die Auswertung erfolgt gleich wie beim Disk-Diffusion-Test.

#### 4.1.3 *Agardilution-Test*

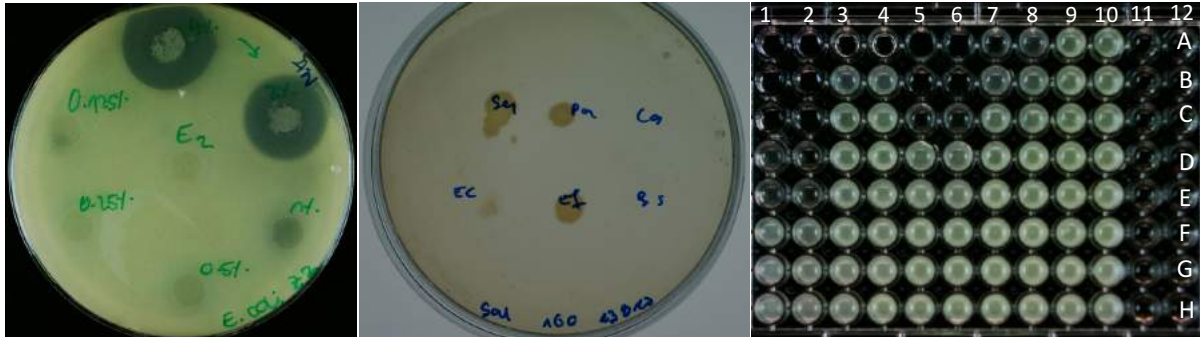
Beim Agardilution-Test wird der Hemmstoff in verschiedenen Konzentrationen mit noch flüssigem Agar vermischt, bevor man das Gemisch in die Petrischalen giesst. Eine bestimmte Anzahl an Mikroorganismen (in meinem Fall sechs) werden auf die festen Platten pipettiert. Zur Auswertung vergleicht man die Platten mit Hemmstoff mit einer hemmstofflosen Kontrollplatte, um den Grad der Hemmung festzustellen.

#### 4.1.4 *Mikrodilution-Test*

Beim Mikrodilution-Test werden Mikrotitrationsplatten verwendet, welche aus 8 x 12 Vertiefungen, sogenannten Wells, zu je 300 µl bestehen. In jeden Well wird flüssiges Nährmedium\* vorgelegt. In die oberste Reihe wird danach der Hemmstoff pipettiert, der mit Hilfe von Mehrkanalpipetten (mit z. B. 12 Pipettenspitzen) verdünnt wird, indem von der Reihe x ein Teil der Lösung in den Wells heraus- und in die Reihe x+1 wieder hineinpipettiert wird. Anschliessend wird die Platte mit dem Mikroorganismus beimpft. Um die Auswertung zu erleichtern, ist es empfehlenswert, Spalten für eine Wachstums- (nur Mikroorganismus mit Nährmedium) und



eine Sterilkontrolle (nur Nährmedium und Emulgator) als Vergleich vorzusehen. Bei der Auswertung kann man von Auge die minimale Hemmstoffkonzentration bestimmen, da die Flüssigkeit in den Wells bei Zellwachstum trüb wird. Auch eine Bestimmung der MHK anhand einer Messung der optischen Dichte (OD)\* der Platte ist möglich.



**Abbildung 10:** Beispiele für Platten der verschiedenen Methoden.

Links: Well-Diffusion-Test-Platte: Die grossen dunklen Kreisflächen sind Hemmhöfe. Der Bakterienrasen ist als hellgrün-milchige Fläche zu erkennen. Disk-Diffusions-Platten sehen bis auf die in der Mitte der Hemmhöfe liegenden Filterpapiere gleich aus.

Mitte: Agardilution-Test-Platte: Oben links und beidreihig in der Mitte sind die Mikroorganismen gewachsen. Unten links ist eine leichte Hemmung zu verzeichnen. Oben und unten rechts wurden die Mikroorganismen komplett gehemmt.

Rechts: Mikrodilution-Test-Platte: Ein Mikroorganismus wurde in den Spalten 1-8 auf vier Öle mit je einer Wiederholung getestet. Eine Trübung (milchig) zeigt Wachstum an. Bei fehlendem Wachstum ist die Lösung klar (im Bild schwarz wegen des schwarzen Hintergrunds). In den Spalten 9+10 befindet sich die Wachstums- und in den Spalten 11+12 die Sterilkontrolle.

In der Reihe a ist eine Ölkonzentration von 16 % vorzufinden. Die Öle wurden jeweils um einen Faktor 2 verdünnt, bis in der untersten Reihe (Reihe h) eine Konzentration von 0.125 % vorzufinden ist.

In den Spalten 1 und 2 liegt die MHK in der Reihe e, d. h. der Mikroorganismus wurde bei 1 % noch gehemmt. In den Spalten 3 und 4 beträgt der MHK-Wert 16 %, u. s. w.

## 4.2 Überblick über meine Labortätigkeit

Um die anspruchsvollen Experimente überhaupt selbständig durchführen zu können, wurde ich von Herrn Dr. G. Dasen, einem Dozenten an der ZHAW in Wädenswil, einen Tag lang im April 2019 in die Labortätigkeit eingeschult. Dies ermöglichte mir, wichtige Fragen in den zweitägigen Vorexperimenten im Mai zu klären. In den Sommerferien führte ich dann während zwei Wochen ganztags meine Hauptexperimente durch und durfte mich bei Fragen und für allfällige Kontrollen an Herrn Dr. Dasen wenden.

## 4.3 Vorexperimente

Eine grosse Schwierigkeit bei der Vermischung und Diffusion ätherischer Öle ist ihre Hydrophobie, weshalb ein Emulgator unerlässlich ist. In meinen Vorexperimenten testete ich vier verschiedene Emulgatoren in Kombination mit zwei Ölen (Teebaum- und Zimtrindenöl) sowie zwei Bakterien (*E. coli* und *S. carnosus*) mit der Disk-Diffusion-, Well-Diffusion- und Mikrodilution-Methode. Den Agardilution-Test verwendete ich nicht, da dieser sich am besten für Experimente eignet, bei dem sehr viele Mikroorganismen nur auf wenige Hemmstoffe getestet

werden. Da ich jedoch mehr Hemmstoffe als Mikroorganismen testete, war diese Methode unpassend.

Die Ziele der Vorexperimente waren:

- 1) Entwickeln einer Methode, die trotz der Hydrophobie der Öle funktioniert und für meine Hypothesen zielführend ist
- 2) Überprüfen, ob die Emulgatoren die Löslichkeit verbessern können
- 3) Erforschen, ob die Emulgatoren keine eigene antibakterielle Wirkung besitzen, da sonst meine Ergebnisse verfälscht würden

Die getesteten Emulgatoren waren Laureth-9 (4 %), eine ethoxylierte und hydrierte Rizinus-ölfraction (4 %), Dimethylsulfoxid (DMSO, 10 %) und Tween-20 (0.5 %). Die beiden erstaufgeführten werden häufig in der Parfümerie eingesetzt und wurden mir von der Firma Essencia zur Verfügung gestellt, die anderen zwei sind häufig verwendete Emulgatoren und wurden in der Studie von Prabuseenivasan, et al. (2006) erwähnt.

Als Emulgator für die Hauptexperimente entschied ich mich für DMSO, da Laureth-9 eine leicht antibakterielle Wirkung zeigte und Tween-20 sehr dickflüssig ist, was die Sterilfiltration\* erschwerte. Weil die Rizinusölfraction nicht wissenschaftlich klassifiziert ist und keine genaue Inhaltsangabe existiert, habe ich mich gegen diesen Emulgator entschieden. DMSO kann zwar in 50 %iger Konzentration eine antimikrobielle Wirkung aufweisen (PharmaWiki, 2019). In tieferen Konzentrationen, wie sie in meinen Experimenten verwendet wurden, konnte jedoch keine solche Wirkung festgestellt werden.

Als Hauptmethode entschied ich mich für den Disk-Diffusion-Test, weil die Ränder der Hemmhöfe im Vergleich zum Well-Diffusion-Test schärfer waren und so eine präzisere Auswertung möglich war. Bei der Mikrodilution fällte das Zimtrindenöl über Nacht wieder aus, was die Auswertung unmöglich machte. Allerdings konnte bei der Mikrodilution für Teebaumöl eine hemmende Wirkung festgestellt werden, während dies bei der Disk- und Well-Diffusion nicht der Fall war. Ich denke, dass dies an der erschwerten Diffusion im Agar lag.

Deshalb entschied ich mich dafür, für die Hauptexperimente den Disk-Diffusion-Test als Hauptmethode zu verwenden, beschloss aber für Öle, welche beim Disk-Diffusion-Test nicht funktionieren, die Experimente mit dem Mikrodilution-Test zu wiederholen.

#### 4.4 Hauptexperimente

Die Hauptexperimente führte ich während zwei Wochen im Juli/August durch, wobei ich in der ersten Woche nur die Disk-Diffusion-Experimente absolvierte, während ich in der zweiten Woche zum Methodenvergleich weitere Methoden testete und Experimente für andere Aspekte (wie Synergien oder Resistenz) durchführte.

Grundsätzlich wurden alle Experimente im Doppel ausgeführt. Aus Sterilitäts- und Sicherheitsgründen arbeitete ich in einer Sicherheitswerkbank. Als Nährmedium wurde immer Mueller-Hinton-Bouillon verwendet, wie dies für Antibiotikatests üblich ist. Die ätherischen Öle wurden mir freundlicherweise von der Firma Essencia zur Verfügung gestellt. Die Experimente führte ich mit folgenden Ölen durch (für Spezifikationen vgl. 13.3):

Geraniumöl, Lavendelöl, Lemongrassöl, Pfefferminzöl, Nelkenblütenöl, Oreganoöl (CT Carvacrol), Salbeiöl, Teebaumöl, Thymianöl (vulgaris CT Thymol), Zimtrindenöl, Citronenöl (messina extra).

Culture Collection of Switzerland (CCOS) stellte mir netterweise meine ausgewählten Mikroorganismen zur Verfügung:

**Tabelle 1:** Übersicht über die verwendeten Mikroorganismen.

Der ATCC-Code ist der Code, den die Mikroorganismen-Datenbank „American Type Culture Collection“ diesen spezifischen Mikroorganismenstämmen zugeteilt hat. Die biologische Schutzstufe ist die Gefährlichkeitseinstufung der Mikroorganismen. Je höher die Risikogruppe ist, desto gefährlicher ist der Mikroorganismus.

Spezies	ATCC Code	Biologische Schutzstufe*
<i>Bacillus subtilis subsp. spizizenii</i>	ATCC 6633	Risikogruppe 1
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	Risikogruppe 2
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	Risikogruppe 2
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Risikogruppe 1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Risikogruppe 2
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 2913	Risikogruppe 2

Die verwendeten Stämme von *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* und *S. aureus* sind die Referenzstämme für die Resistenzprüfung gemäss EN ISO 20776-1\* (Schweizerische Normenvereinigung, 2007).

#### 4.4.1 Disk-Diffusion-Test zur Wirkung der einzelnen Öle

##### Materialvorbereitungen

Zuerst stellte ich der Mueller-Hinton-Agar her, indem ich das Nährmedium Mueller-Hinton-Bouillon mit dem Agar-Agar mischte. Anschliessend wurde der Mueller-Hinton-Agar im Autoklaven 15 Minuten lang bei 121 °C sterilisiert und in die Agarplatten gegossen. Für einen Liter Agar benötigt man 15 g Agar-Agar (Carl Roth), 21 g Mueller-Hinton-Bouillon (Carl Roth) und einen Liter Reinstwasser. Die Disks stanzte ich mit einem Locher aus Filterpapier (Sartorius) aus und autoklavierte sie. Die 10 %ige DMSO-Lösung wurde mit der Vakuumpumpe steril filtriert.

Zu Beginn testete ich sechs verschiedene Ölkonzentrationen: 4 %, 2 %, 1 %, 0.5 %, 0.25 % und 0.125 % von Zimtrinden-, Teebaum-, Oregano- und Thymianöl. Da ich aber bei diesen Experimenten im Vergleich zu den Vorexperimenten viel kleinere Hemmhofdurchmesser erhielt, was auch einer schlechteren Wirkung entspricht, erhöhte ich die Konzentrationen ab dem zweiten Tag. Ich experimentierte folglich mit 16 %, 8 %, 4 %, 2 %, 1 % und 0.5 % (Tabelle 2). Die schlechtere Wirkung rührte wohl daher, dass ich für die Hauptexperimente pathogene Mikroorganismen verwendete, welche wohl auch resistenter waren.

Die Öle müssen steril filtriert werden. Am ersten Tag filtrierte ich die vier Öle mit einem hydrophilen Filter (Corning, SFCA, 0.2 µm), doch da sich Thymian- und Oreganoöl schlecht filtrieren liessen und Öl im Filter hängen blieb, stellte ich die Stammlösung neu her und filtrierte diese mit einem hydrophoben Filter (Corning, NY = Nylon). Dies funktionierte viel besser und hatte tiefere minimale Hemmstoffkonzentrations-Werte zur Folge, weshalb ich alle anderen Öle mit dem hydrophoben Nylon-Filter steril filtrierte. Zudem wiederholte ich die Experimente mit den zwei hydrophil filtrierten Ölen (Zimtrinde und Teebaum) an einem anderen Tag. Ich verwendete jedoch bei der Wiederholung des Experiments mit Teebaumöl das Öl einer anderen Marke (Farfalla), da das bei den Vorexperimenten verwendete Teebaumöl keine Wirkung

zeigte und ich deshalb nicht ausschliessen konnte, dass die mangelnde Wirkung an der Qualität des Öles lag (Tabelle 2).

**Tabelle 2:** Überblick über die verwendeten Öle, den getesteten Konzentrationen und dem verwendeten Filter.

Die Wirkung jedes Öls wurde in sechs Konzentrationsstufen getestet. Ab dem zweiten Tag wurden höhere Konzentrationen verwendet, damit auch schwache Öle eine (eventuelle) Wirkung aufweisen können. Die getesteten Konzentrationsbereiche sind in blau angegeben.

	Öl	Konzentration (in %)						Filter		
		16	8	4	2	1	0.5		0.25	0.125
Tag 1	Zimtrinde									hydrophiler Filter
	Teebaum (Essencia)									hydrophiler Filter
	Oregano									hydrophober Filter
	Thymian									"
Tag 2	Lavendel									"
	Nelkenblüte									"
	Pfefferminze									"
	Rosmarin									"
Tag 3	Geranium									"
	Zitrone									"
	Lemongrass									"
	Salbei									"
	Teebaum (Farfalla)									"
	Zimtrinde									"

Für die am Tag 1 getesteten Öle war die Stammlösung eine 8 %ige Emulsion aus dem entsprechenden Öl und der 10 %igen DMSO-Lösung, für alle anderen Öle war es eine 32 %ige Stammlösung. Diese filtrierte ich mit den oben genannten Filtern steril. Um die Verdünnungsreihe herzustellen, füllte ich sechs Eppendorf Reaktionsgefässe mit je 500 µl 10 %iger DMSO-Lösung und pipettierte anschliessend 500 µl der Stammlösung in das erste Reaktionsgefäss. Nach dem Vermischen pipettierte ich wieder 500 µl heraus und in das nächste Eppendorf-Gefäss hinein, so dass das Öl jeweils im Faktor 2 verdünnt wurde. Diesen Vorgang wiederholte ich, bis die Verdünnungsreihe mit Konzentrationen von 4 %, 2 %, 1 %, 0.5 % und 0.25 % beziehungsweise 16 %, 8 %, 4 %, 2 %, 1 % und 0.5 % komplett war.

### Mikroorganismen und Hemmstoff

Als nächstes stellte ich die optische Dichte\* der Mikroorganismen ein mit Hilfe eines Photometers\* (OD 600) und 0.85 % NaCl-haltiger Verdünnungslösung für alle Bakterien auf 0.25 und für *C. albicans* auf 0.5 mit einem Endvolumen von 4 ml. Die eingestellte OD ist für *C. albicans* höher, weil Hefezellen grösser sind als Bakterienzellen. Für die Berechnung der nötigen Verdünnungslösung (1) und Bakterienlösung (2), um die Bakterienlösung mit der richtigen OD (3) herzustellen, wurde folgende Formel verwendet:

$C_1 \times V_1 + C_2 \times V_2 = C_3 \times V_3$ , wobei C für die OD und V für das Volumen steht.

Anschliessend strich ich einen möglichst lückenlosen Rasen\* mit einem sterilen Wattestäbchen aus. Täglich wurde zudem eine Wachstumskontrollplatte (nur Bakterium) beimpft. Die sechs Filterplättchen (für sechs Konzentrationen) wurden mit einer über offener Flamme sterilisierten Pinzette aufgelegt. Anschliessend pipettierte ich jeweils 8 µl der Öllösung in der passenden Konzentration auf das entsprechende Plättchen.

### **Inkubation und Auswertung**

Alle Bakterien wurden bei 37 °C, der Hefepilz *Candida* bei 25 °C inkubiert\*, und nach 18 h wurden die Platten folgendermassen ausgewertet: Wenn die Mikroorganismen bis zum Filterplättchen sichtbar gewachsen waren, war keine antibiotische Wirkung zu verzeichnen. Wenn ein Kreis um das Filterplättchen sichtbar war, in dem die Mikroorganismen nicht gewachsen waren, erfolgte eine Hemmung. Diesen Kreis nennt man Hemmhof. Je grösser der Durchmesser des Hemmhofes, desto stärker die Wirkung des Hemmstoffs in der entsprechenden Konzentration. Die minimale Hemmstoffkonzentration (MHK) ist demzufolge entweder gleich gross wie die tiefste Konzentration, bei welcher der Mikroorganismus gehemmt wurde, oder liegt zwischen der tiefsten hemmenden und der nächstkleineren. Wenn z.B. bei einer Konzentration von 0.5 % der Mikroorganismus noch gehemmt wurde, bei 0.25 % aber nicht mehr, gilt:  $0.5 \% \geq \text{MHK} > 0.25 \%$ . Der Einfachheit halber gebe ich in meiner Arbeit einfach  $\text{MHK} = 0.5 \%$  an.

Die Disks selber haben einen Durchmesser von 5.5 mm, als Hemmhof wurde jedoch erst ein Durchmesser  $\geq 6.5$  mm gezählt, um zu vermeiden, dass ich einen kleinen Ölrand oder ein leicht verrutschtes Plättchen als Hemmhof werte, besonders, wenn es nur auf einer Seite des Plättchens einen „Hemmhof“ gab. Ich mass die Durchmesser der Hemmhöfe zuerst mit einem Massstab, später nochmals mit der Software „Image J“.

Eine Sterilkontrolle (nur Plättchen auf unbeimpfter Agarplatte) und eine Hemmkontrolle (nur Emulgatorenlösung) wurden am ersten Tag durchgeführt.

Die Platten mit den Mikroorganismen wurden für den nächsten Tag immer von der Ursprungsplatte überimpft\*, um Mutationen zu minimieren.

#### **4.4.2 Well-Diffusion-Test zur Wirkung der einzelnen Öle**

Ich wollte zum Methodenvergleich auch die Experimente mit dem Well-Diffusion-Test durchführen. Ich habe zuerst nur wenige Öle getestet, jedoch sind die Öle in den Wells trotz langer Einwirkzeit (über Nacht) nicht richtig eingezogen und folglich wurden die Öle in den Wells durch den Overlay weggeschwemmt. Um eine Lösung für diese Schwierigkeit zu finden, hätten einige weitere Experimente durchgeführt werden müssen, was aus zeitlichen Gründen leider nicht möglich war.

#### **4.4.3 Agardilution-Test zur Wirkung der einzelnen Öle**

Ich stellte drei Konzentrationen von Ölen her: 100 % (pures Öl), 50 % und 25 % und pipettierte davon jeweils 1 ml auf eine leere Petrischale. Die Öle wurden nicht steril filtriert, weil ich nicht riskieren wollte, dass aufgrund der sehr hohen Ölkonzentrationen ein Grossteil im Filter hängen bleibt. Als Teebaumöl verwendete ich hier aufgrund von Materialknappheit das Öl der Firma Farfalla; für alle anderen Öle setzte ich die Öle von Essencia ein.

Anschliessend gab ich 20 ml Agarlösung (mit dem Nährmedium) in die Petrischale und vermischte das Agar-Öl-Gemisch, indem ich die Petrischale flach in Achterbewegungen führte. Folglich wiesen die Agarplatten eine Endkonzentration von 4.76 %, 2.38 % und 1.19 % auf.

Die optische Dichte (OD) der Bakterienlösung stellte ich für alle Mikroorganismen auf 1 ein und pipettierte von der Lösung jeweils 5  $\mu\text{l}$  auf die Platten. Eine Wachstumskontrollplatte ohne Hemmstoff war für die Auswertung essentiell. Die Inkubation erfolgte gleich wie bei 4.3.1.

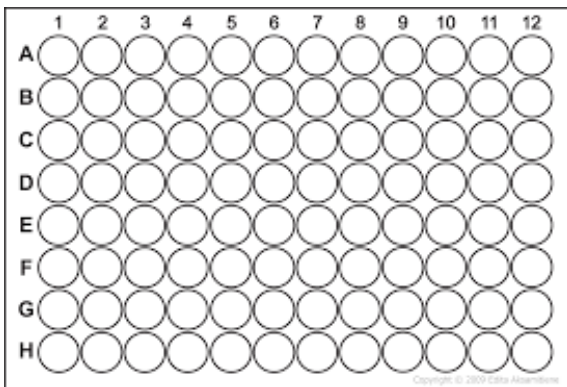
Für die Auswertung vergleicht man das Wachstum der Mikroorganismen auf den Platten, welche Hemmstoff enthalten, mit demjenigen auf der Kontrollplatte. Wenn die Mikroorganismen

ein gleich starkes Wachstum wie auf der Kontrollplatte aufweisen, gelten sie als nicht gehemmt. Wenn einzelne Kolonien oder vergleichsweise nur leichtes Wachstum vorhanden waren, galten die Mikroorganismen nur als leicht gehemmt. Als komplett gehemmt gelten Mikroorganismen, wenn kein Wachstum mehr möglich ist.

#### 4.4.4 Mikrodilution-Test zur Wirkung der einzelnen Öle

##### Experimentdurchführung

Am ersten Tag der zweiten Woche testete ich Thymian-, Geranium-, Teebaum- und Minzenöl und am zweiten Tag Zimtrinden-, Nelkenblüten-, Lemongrass- und Zitronenöl sowie Lavendel-, Salbei-, Rosmarin- und Oreganoöl. Allerdings musste ich die *Candida*-Platten vom zweiten Tag aufgrund einer Fehlmanipulation in Folge mangelnder Routine neu präparieren. Pro Platte wurde ein Mikroorganismus mit vier Ölen mit einfacher Wiederholung getestet. Täglich führte ich eine Wachstumskontrolle und am ersten Tag zudem eine Sterilkontrolle durch.



**Abbildung 11:** Schematische Darstellung einer Mikrotitrationsplatte mit den Reihen A-H und den Spalten 1-12.

In den Reihen A-H wird die Konzentrationsreihe (16 % - 0.125 %) hergestellt.

In den Spalten 1-8 werden Öle mit einfacher Wiederholung getestet, d.h. Öl 1 in 1+2, Öl 2 in 3+4, Öl 3 in 5+6 und Öl 4 in 7+8.

In den Spalten 9+10 befindet sich die Wachstumskontrolle und in den Spalten 11+12 die Sterilkontrolle (falls vorhanden, sonst eine weitere Wachstumskontrolle).

Ich legte in jeden Well 100 µl einer doppelt konzentrierten Mueller-Hinton-Bouillon vor. Danach pipettierte ich 100 µl der entsprechenden ätherischen Öle in die oberste Reihe. Mit der Mehrkanalpipette verdünnte ich die ätherischen Öle um den Faktor 2, indem ich aus der Reihe x immer 100 µl entfernte, dann in die Reihe x+1 pipettierte, die Mueller-Hinton-Bouillon und das Öl vermischte und alles wiederholte. So erhält man Konzentrationen von 16 %, 8 %, 4 %, 2 %, 1 %, 0.5 %, 0.25 % und 0.125 %.

In die Wachstums- und Sterilkontrollspalten pipettierte ich 100 µl der 10 %igen DMSO-Lösung. Die OD der Bakterien stellte ich nach EN ISO 20776-1 auf 0.01 ein, die OD von *C. albicans* auf 0.1. Zum Beimpfen gab ich 5 µl in jeden Well. Die Inkubation erfolgte gleich wie bei 4.3.1. Die Platten aller Bakterien wurden nach 18 h ausgewertet, diejenigen von *C. albicans* nach 42 h.

##### Auswertung

Die Platten können von Auge ausgewertet werden. Vermehrt sich ein Mikroorganismus, wird die Flüssigkeit trüb. Bleibt die Flüssigkeit klar, wurde der Mikroorganismus gehemmt. Wenn die Flüssigkeit in den Wells bei hohen Ölkonzentrationen klar, jedoch bei einer tieferen Konzentration trüb ist, wurde der Mikroorganismus in dieser Konzentration folglich nicht mehr gehemmt. So kann der MHK-Wert bestimmt werden. Ausserdem können die Platten durch OD-Messung ausgewertet werden. Dabei wird die OD der einzelnen Wells gemessen und folglich kann durch den Vergleich der einzelnen Werte die MHK bestimmt werden. Wenn die OD bei hohen Ölkonzentrationen tief ist und dann plötzlich ansteigt, deutet dies darauf hin, dass bei der tieferen Konzentration keine Hemmung zu verzeichnen ist. Falls vorhanden, sind die

Werte der Wachstums- und Sterilitätskontrolle für einen Vergleich hilfreich. Wenn die OD eines Wells nicht klar einer Hemmung oder einem Wachstum zuzuordnen war, stuft ich diese Daten grundsätzlich als Wachstum ein, da ein Mikroorganismus gar nicht wachsen darf, um als gehemmt zu gelten. Eine Ausnahme bildeten nur minim erhöhte OD-Werte, da diese wohl auf ein ausgefälltes Öl hinweisen.

Allerdings fallen alle farbigen Öle, besonders Zimt, Zitrone und Lemongrass, stark aus, weshalb sich die Unterscheidung zwischen einem Öltropfen und einem gefärbten Bakterienpellet praktisch unmöglich gestaltete. Eine Auswertung unter dem Mikroskop war nicht möglich, da sich das Mikroskop aufgrund der Höhe der Platten nicht scharfstellen liess. Deshalb gab ich nachträglich in alle Wells 30 µl einer 0.015 %igen Resazurinlösung\*. Resazurin weist normalerweise eine blaue Farbe auf, wird aber pink, wenn die Zellen noch metabolisch aktiv sind. So konnte ich die Platten trotz Ausfällungen auswerten. Die Platten wurden weiter in einem Gerät inkubiert, das in regelmässigen Zeitabständen fotografisch die Farbveränderungen festhielt.

#### 4.4.5 Synergie-Tests von Ölkombinationen

Ich habe auch drei Ölkombinationen im Verhältnis 1:1 auf mögliche Synergien getestet. Hierfür verwendete ich die Disk-Diffusion, wie in 4.3.1 beschrieben. Unterschiedlich waren lediglich die Konzentrationen und die OD-Einstellung. Die getesteten Konzentrationen betragen 8 %, 4 %, 2 %, 1 %, 0.5 %, 0.25 % und 0.125 %. Die OD von *P. aeruginosa*, *E. coli* und *C. albicans* wurde wie in 4.3.1 beschrieben eingestellt, die OD von *E. faecalis* und *B. subtilis* jedoch neu auf 0.5, weil ihr Wachstum auf der Überimpfungsplatte vom Vortag sehr schwach war. *S. aureus* war leider leicht mit *P. aeruginosa* auf der Überimpfungsplatte kontaminiert. Deshalb musste ich die Testplatten mit den Bakterien der Ursprungsplatte beimpfen und die OD folglich auf 1 einstellen, da die Ursprungsplatte schon älter war und nicht alle Bakterien metabolisch aktiv waren. Die Inkubation und Auswertung erfolgte gleich wie beim Disk-Diffusion-Test (vgl. 4.3.1).

Ich testete folgende Ölkombinationen:

- Oregano- und Thymianöl. Hossain et al. (2016) beobachteten, dass diese Kombination eine synergetische Wirkung bei Schimmelpilzen aufweist.
- Nelkenblüten- und Lavendelöl. Eugenol kommt in Nelkenblütenöl vor und Linalool findet man in Lavendelöl. In Kombination können sie synergetisch wirken (Bassolé, et al., 2010).
- Teebaum- und Zimtrindenöl. Diese Kombination wählte ich nach dem Zufallsprinzip.

Aufgrund von Materialknappheit im Labor musste ich hier einen anderen Filter für die Öle verwenden (Chromatofil, aus PTFE = Teflon). Dieser Filter ist zwar für hydrophile Flüssigkeiten vorgesehen, kann aber sowohl polare als auch apolare Proben filtrieren.

Die Interaktion von Hemmstoffen wird mit der fraktionalen Hemmstoffkonzentration (FHK) indiziert (Chouhan, et al., 2017) (Hyldgaard, et al., 2012).

$FHK = FHK A + FHK B$ , wobei:

$FHK A = MHK (A+B) / MHK A$

$FHK B = MHK (A+B) / MHK B$

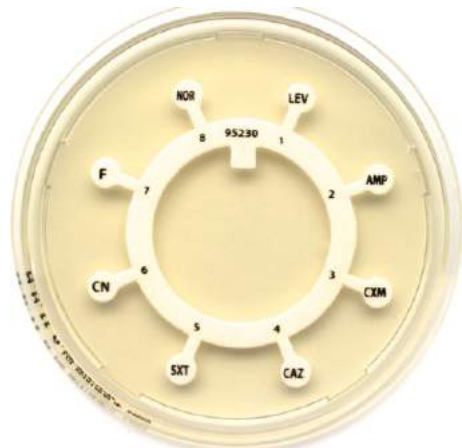
Bei  $FHK < 0.5$  ist die Kombination synergetisch, bei  $0.5 < FHK < 4$  additiv und bei  $FHK > 4$  antagonistisch. Bei einer synergetischen Interaktion wirkt die Kombination der Hemmstoffe bedeutend stärker, bei einer additiven gleich stark und bei einer antagonistischen bedeutend schlechter als die Summe der einzelnen Hemmstoffe. Folglich steigern sich synergetische



Kombinationen in ihrer Wirkung, antagonistische schwächen sich ab, und additive verändern ihre Wirkung nicht.

#### 4.4.6 Antibiotika-Multodisc-Test: Wirkung der Öle im Vergleich mit Antibiotika

Zum Vergleich mit herkömmlichen Antibiotika verwendete ich die „Staph-Multodiscs“ von Liofilchem. Dies sind Ringe aus Filterpapier, die mit acht Disks mit verschiedenen Antibiotika verbunden sind. Die Multodiscs sind dafür konzipiert, Antibiotikaresistenzen bei *Staphylococce*n zu testen, können jedoch auch gut für andere Bakterien verwendet werden. Die Antibiotika auf dem Staph-Multodisc sind Cefoxitin (FOX, 30 µg), Levofloxacin (LEV, 5 µg), Netilmicin (NET, 10 µg), Tetracyclin (TE, 30 µg), Erythromycin (ERY, 15 µg), Gentamicin (CN, 10 µg), Rifampicin (RD, 5µg) und Linezolid (LNZ, 10 µg).



**Abbildung 12:** Multodisc von Liofilchem, welcher am besten für Resistenzprüfungen an urinalen Enterobakterien geeignet ist.

Für dieses Experiment wurde die OD der Bakterien gleich wie in 4.3.5 eingestellt und anschliessend, wie für die Disk-Diffusion üblich, mit einem Wattestäbchen zu einem Rasen ausgestrichen. Ich legte die Multodiscs mit einer sterilen Pinzette auf. Die Inkubation erfolgte gleich wie bei 4.3.1. Die Durchmesser der Hemmhöfe wurden nach 18 Stunden mit einem Massstab ausgemessen. Hier kann jedoch die MHK nicht bestimmt werden, sondern es kann nur durch einen Vergleich zwischen den Hemmhofdurchmessern eingeschätzt werden, wie stark sich der Mikroorganismus durch ein Antibiotikum im Vergleich zu den ätherischen Ölen hemmen liess.

#### 4.4.7 *Staphylococcus pseudintermedius*

Um die erhaltenen Werte mit einem multiresistenten Erreger, *S. pseudintermedius* (Code: ST71), vergleichen zu können, verwendete ich die Disk-Diffusion und deren Auswertung, wie beim Disk-Diffusion-Test (vgl. 4.3.1) beschrieben. Ich testete Nelkenblüten-, Zimtrinden-, Origan- und Thymianöl in den Konzentrationen 16 %, 8 %, 4 %, 2 %, 1 % und 0.5 %. Auch hier wurden die neuen Filter von Corning (vgl. 4.3.5) verwendet. Die OD von *S. pseudintermedius* stellte ich auf 0.25 ein.



## 5 Resultate

Das Ziel meiner Arbeit war, für ausgewählte ätherische Öle und Mikroorganismen die minimalen Hemmstoffkonzentrations-Werte (MHK)\* zu eruieren. Zusätzlich zum Disk-Diffusion-, Agardilution- und Mikrodilution-Test führte ich auch Experimente zu Synergien durch und stellte einen Vergleich mit herkömmlichen Antibiotika her. Zudem testete ich die Wirkung der ätherischen Öle an einem multiresistenten Erreger. Die Reihenfolge der Aufführung der Resultate ist dieselbe wie in Kapitel 4, Material und Methoden. Die Diagramme (Abb. 13-23) verschaffen einen Überblick über die MHK-Werte.

Die Datenreihen mit den Hemmhofdurchmessern, eine Übersicht über alle Werte der minimalen Hemmstoffkonzentration (MHK) sowie Fotos der relevanten Platten sind im Anhang (vgl. Kapitel 13) eingereiht.

### 5.1 Resultate der einzelnen Öle mit dem Disk-Diffusion-Test

#### Kategorisierung der Werte

- „**starke Hemmung**“ (**grün**) bei einem MHK-Wert von **0.125–2 %**. Wenn der MHK-Wert bei der tiefsten ausgetesteten Konzentration lag, fügte ich einen Pfeil nach unten ein, da der effektive MHK-Wert auch darunterliegen könnte. Dies gilt auch für alle weiteren Diagramme (bei der Agardilution ist die tiefste ausgetestete Konzentration 1.19 %).
- „**mittlere Hemmung**“ (**gelb**) bei einem MHK-Wert von **4– 8 %**.
- „**schlechte oder keine Hemmung**“ (**rot**) bei einem MHK-Wert von **≥ 16 %** (d. h. wenn gar keine Hemmung zu verzeichnen war). Obwohl ein MHK von 16 % als hemmend gilt, stufte ich diese Konzentration trotzdem als schlecht ein, da diese zu hoch ist, um in Konsumentenprodukten eine Anwendung zu finden.  
Wenn der MHK-Wert bei > 16 % lag, fügte ich einen Pfeil nach oben hin ein, um aufzuzeigen, dass der MHK-Wert zwischen > 16 % und 100 % liegen könnte. Es kann aber auch sein, dass dieses Öl gar nicht hemmte. Dies gilt auch für alle weiteren Diagramme (bei der Agardilution ist die höchste ausgetestete Konzentration 4.76 %).

Weil ich alle Experimente wiederholte, erhielt ich zum Teil zwei verschiedene MHK-Werte. Deshalb sind teilweise pro Öl zwei Datenpunkte aufgeführt.

#### Hemmhofdurchmesser

Obwohl ich grundsätzlich nur einen Hemmhof von  $\geq 6.5$  mm als „hemmend“ bewertete, gab es einige wenige Ausnahmen (vgl. 13.1.1, Tabelle 9): Bei den Experimentplatten, auf denen Geraniumöl gegen *P. aeruginosa*, Nelke gegen *P. aeruginosa* sowie Nelke gegen *E. faecalis* getestet wurden, gab es bei höheren Konzentrationen einen oder zwei Hemmhöfe, welche knapp unter 6.5 mm lagen (Tabelle 3). In den tieferen Konzentrationen lag der Hemmhofdurchmesser dann aber wieder bei  $\geq 6.5$  mm. Deshalb gehe ich davon aus, dass kein verrutschtes Plättchen, sondern tatsächlich eine Hemmung vorlag, sonst wäre die Hemmreihe nicht nachvollziehbar.

Ausserdem betrug der Hemmhofdurchmesser für Thymian bei *P. aeruginosa* mehrere Male 6.4 mm (vgl. 13.1.1, Tabelle 9). Da es sehr unwahrscheinlich ist, dass das Plättchen jedes Mal verrutscht ist, und der Unterschied von 6.4 zu 6.5 mm sehr gering ist, zählte ich dies trotzdem als Hemmung.

**Tabelle 3:** Hemmhofdurchmesser von *E. faecalis* bei den verschiedenen Nelkenöl-Konzentrationen. Die fettgedruckten Werte liegen unter 6.5 mm, womit sie eigentlich nicht als Hemmhof zu werten wären. Um eine einleuchtende Hemmhofdurchmesser-Reihe zu gewährleisten und weil die Abweichung zu 6.5 mm sehr gering ist, wurden sie trotzdem gezählt.

Konzentration	16%	8%	4%	2%	1%	0.5%
Hemmhofdurchmesser (in mm)	<b>6.4</b>	6.7	<b>6.3</b>	6.8	6.5	7
Auswertung (Hemmung vorhanden „v.“)	v.	v.	v.	v.	v.	v.

### Resultatbeschreibung

Aufgrund der mit dem Disk-Diffusion-Test erhaltenen MHK-Werte (Abb. 13-14, vgl. 13.1.1, Tabelle 9) konnte ich die Öle in folgende Kategorien aufteilen:

Oregano-, Thymian-, Nelkenblüten- und Zimtrindenöl gehörten zu den stark hemmenden Ölen, da sie stets eine gute oder mittlere Hemmung aufwiesen.

Die mittelstark hemmenden Öle, welche sowohl eine gute als auch mittlere und schlechte Hemmung zeigten, waren Zitronen-, Lemongrass- und Geranienöl.

Zu den schwach hemmenden Ölen, welche stets eine schlechte oder sogar keine Hemmung aufwiesen, gehörten Salbei-, Rosmarin-, Lavendel-, Teebaum- (sowohl Essencia als auch Farfalla) und Minzenöl.

## 5.2 Resultate der einzelnen Öle mit dem Agardilution-Test

Ich teilte die Resultate des Agardilution-Tests nach einem ähnlichen Prinzip wie bei der Disk-Diffusion in drei Kategorien ein:

### Kategorisierung der Werte

- „gut“ (grün) bei einem MHK  $\leq 1.19$  %
- „mittel“ (gelb) bei einem MHK **2.38 – 4.76** %
- „schlecht“ (rot) bei einem MHK  $> 4.76$  %, d. h. wenn keine Hemmung zu verzeichnen war. Da 4.76 % die höchste mit der Agardilution getestete Konzentration war, konnte keine Aussage darüber gemacht werden, ob bei einer höheren Konzentration (wie z.B. 8 % beim Disk-Diffusion-Test) eine Hemmung zu verzeichnen wäre oder ob der Wert analog zum Disk-Diffusion-Test bei  $> 16$  % liegen würde (d.h. gar keine Hemmung). Allerdings konnte ich einen Zusammenhang zwischen denjenigen Ölen herstellen, die beim Agardilution-Test einen MHK-Wert von  $> 4.76$  % und beim Disk-Diffusion-Test  $> 16$  % erzielten, weshalb ich  $> 4.76$  % nicht als „mittel“, sondern als „schlecht“ einstuft.

### Resultatbeschreibung

Ich erhielt ähnliche Resultate wie beim Disk-Diffusion-Test, jedoch zeigten Öle, die beim Disk-Diffusion-Test nicht gehemmt hatten, beim Agardilution-Test eine Wirkung (Abb. 15-16, vgl. 13.1.2). Lavendel- und Teebaumöl befanden sich sogar zweimal in der Kategorie „gut“ (bei *B. subtilis* und *C. albicans*). Zitronenöl war das einzige Öl, das bei keinem einzigen Mikroorganismus eine Hemmung zeigte.

Oregano-, Thymian-, Nelkenblüten- und Zimtrindenöl besaßen auch mit dieser Methode die stärkste Wirkung, wobei Nelkenblüten- und Zimtrindenöl immer bereits in der tiefsten Konzentration hemmten.

### Kontamination

Am Tag der Auswertung stellte ich eine leichte Kontamination der Überimpfungsplatte\* von *S. aureus* mit *P. aeruginosa* fest. Dies war dank der Fluoreszenz von *P. aeruginosa* leicht zu erkennen.

Die auszuwertenden Platten zeigten jedoch an diesem Tag keine Kontamination. Allerdings bemerkte ich am darauffolgenden Tag auch eine leichte Kontamination von *S. aureus* und *E. faecalis* mit *P. aeruginosa* auf den am Vortag ausgewerteten Platten. Da sich diese Kontamination jedoch erst am Folgetag zeigte, bin ich der Meinung, dass die Resultate der Agardilution für diese beiden Mikroorganismen trotzdem aussagekräftig sind.

### 5.3 Resultate der einzelnen Öle mit dem Mikrodilution-Test

#### Kategorisierung der Werte und Diagrammbeschreibung

Die Einteilung der Resultate in die Kategorien „starke“, „mittlere“ und „schlechte Hemmung“ erfolgte gleich wie beim Disk-Diffusion-Test.

Zum Teil gibt es auf den Diagrammen drei verschiedene Datenpunkte pro Öl. Dies rührt daher, dass die Platten manchmal nur mit der OD-Messung, nur mit Resazurin\* oder dann mit beiden Methoden ausgewertet werden konnten. Der Farbcode bedeutet:

- **dunkelgrau**: Die Platte wurde mit der OD-Messung und mit Resazurin ausgewertet und die beiden Datenpunkte stimmen überein.
- **blau**: Die Platte wurde nur mit der OD-Messung ausgewertet.
- **orange**: Die Platte wurde nur mit Resazurin ausgewertet.
- **blau** und **orange**: Die Platte wurde mit beiden Methoden ausgewertet, aber die Datenpunkte weichen voneinander ab.

#### Resultatbeschreibung (Abb. 17-18, vgl. 13.1.3)

Oregano-, Nelkenblüten und Zimtrindenöl wiesen stets eine starke Hemmung auf, Thymianöl hingegen zeigte neben einer starken auch eine mittlere und schwache Hemmung.

Zudem konnte ich hier, wie auch schon beim Agardilution-Test, feststellen, dass es bei Ölen, die beim Disk-Diffusion-Test nur schwache oder gar keine Hemmung zeigten, öfters gute Resultate gab. Auffallend war dies bei *E. coli*, den auch Salbei-, Rosmarin-, Lavendel-, Teebaum- und Minzenöl mittelstark hemmen konnten. Besonders Salbei-, Rosmarin- und Lavendelöl konnten auch andere Mikroorganismen mittel bis stark hemmen. Auch Teebaumöl hemmte nebst *E. coli* auch *E. faecalis* und *P. aeruginosa* mittelstark.

#### Besonderheiten

Bei der Betrachtung der Mikrodilutionsresultate sind folgende Besonderheiten zu beachten:

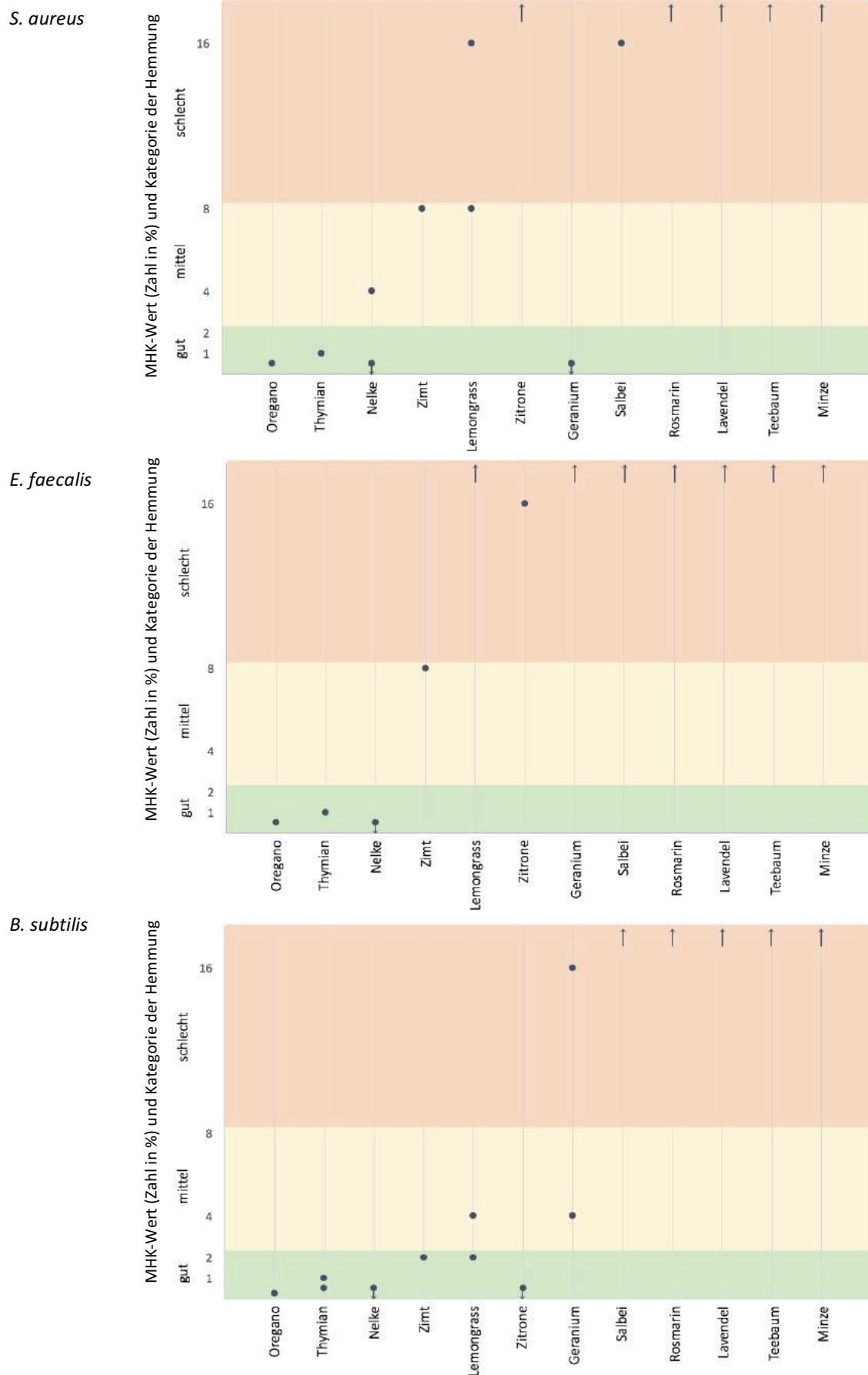
- Beim Lemongrassöl gibt es bei *S. aureus* und *P. aeruginosa* keine Angaben, weil sich die Öl-Resazurin-Mischung bei allen Mikroorganismen bei 16 % und 8 % atypisch verfärbte. Bei diesen beiden Mikroorganismen konnte ich nicht zwischen Verfärbung und eigentlicher Resazurinauswertung unterscheiden, weshalb ich keinen Wert eruieren konnte (vgl. 13.1.3, Abbildung 32).
- Es gibt auch keine Angaben zu *B. subtilis* und *C. albicans* beim Thymian-, Geranien-, Teebaum- und Minzenöl, da diese Mikroorganismen in diesen Platten auch nach längerer Inkubation\* (auch in den Wachstumskontrollen) nicht wuchsen.
- Ich konnte die Platten derselben Öle auch nicht mit Resazurin auswerten, da ich die Platten am ersten Tag erstellte, mir aber erst gegen Ende der Woche die Auswertungsmethode

mit Resazurin gezeigt werden konnte. Deswegen hätte eine Auswertung mit dem Farbstoff keinen Sinn gemacht, da sich die Mikroorganismen, wenn sie einige Tage gelagert werden, nicht mehr vermehren (und deshalb bei einer Auswertung als gehemmt gelten würden) oder sogar absterben.

- Zu *C. albicans* gibt es keine OD-Messwerte, weil ich die Platten aufgrund einer Fehlmanipulation einen Tag später nochmals neu präparieren musste. Ich hätte die Platten folglich gleich am darauffolgenden Tag auswerten müssen (am Wochenende waren die Labore geschlossen). *C. albicans* wuchs jedoch sehr langsam, sodass eine rasche Auswertung wenig Sinn ergab, weil man bei nur wenig Wachstum keine fundierte Aussage über eine mögliche Hemmung machen kann.

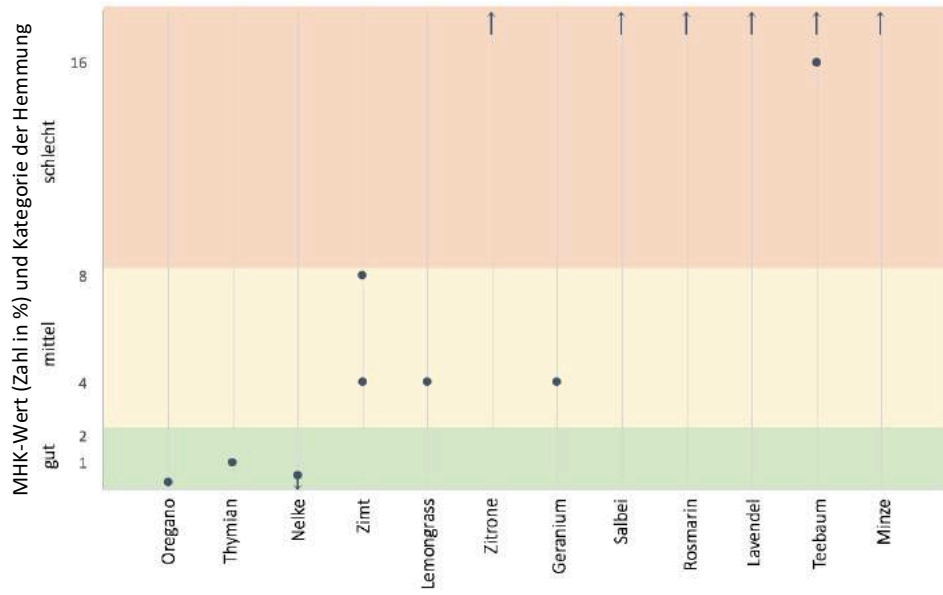
Aufgrund der Korrektur der Fehlmanipulation erfolgte die Resazurin-Auswertung der *C. albicans*-Platten über das Wochenende und nicht wie üblich über eine Nacht, d. h. die Auswertungszeit war wesentlich länger. Dies muss bei der Betrachtung der Resultate berücksichtigt werden.

- Ausserdem gab es bei den Platten zum Oregano-, Salbei-, Rosmarin- und Lavendelöl in der ersten Wachstumskontrollreihe gewisse atypische Resultate (vgl. 13.1.3, Abbildung 33).

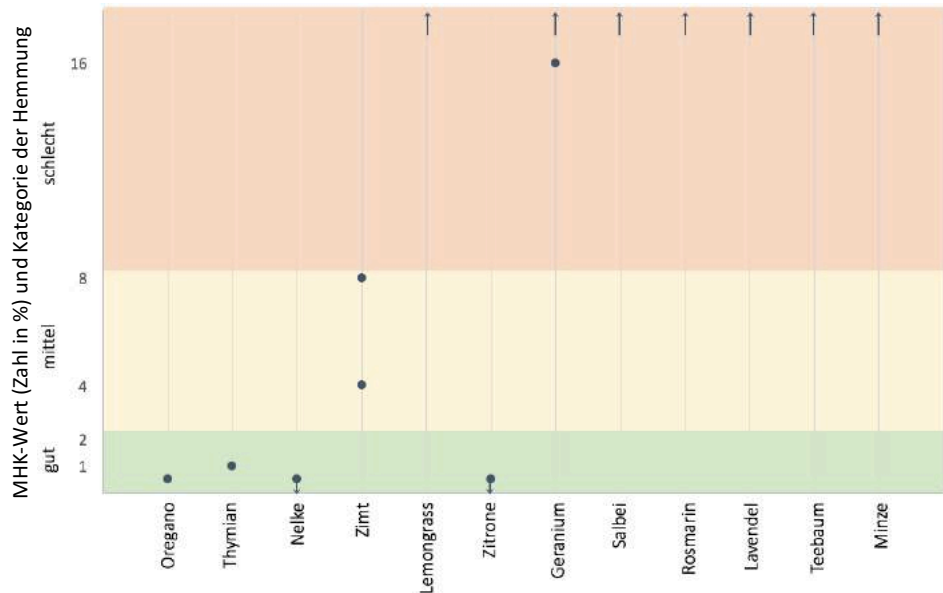


**Abbildung 13:** MHK-Werte für *S. aureus*, *E. faecalis* und *B. subtilis* bei den zwölf Ölen mit dem Disk-Diffusion-Test.

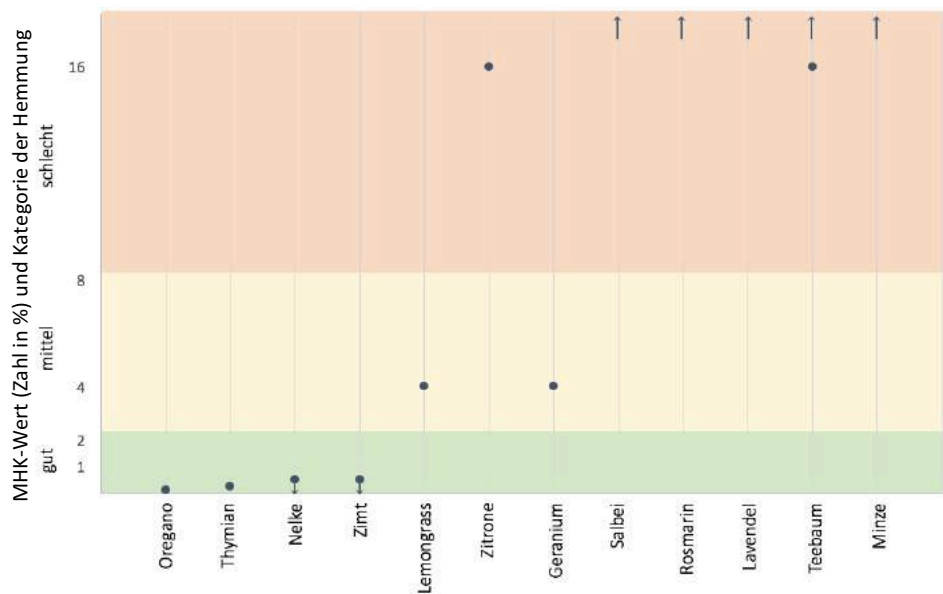
*E. coli*



*P. aeruginosa*

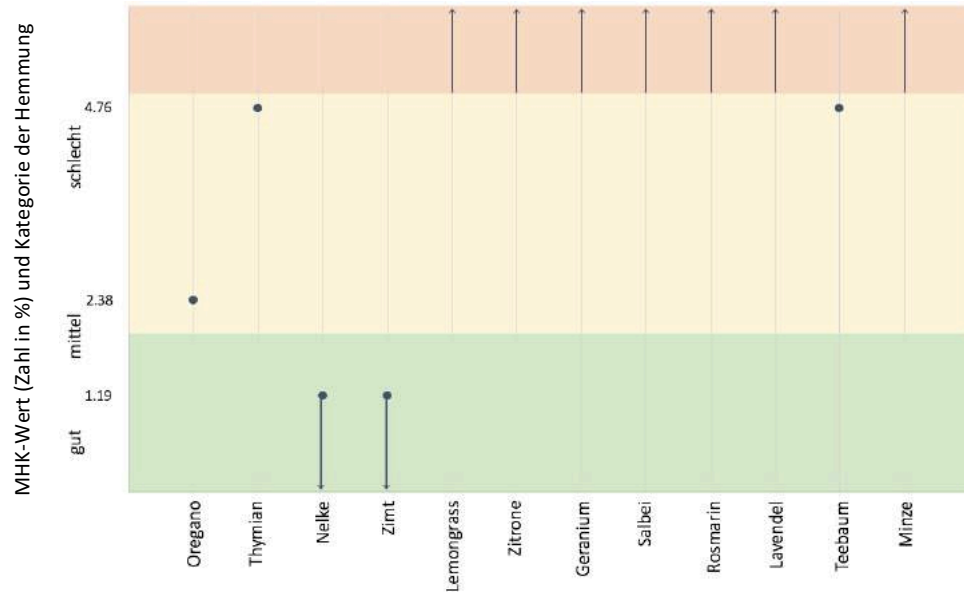


*C. albicans*

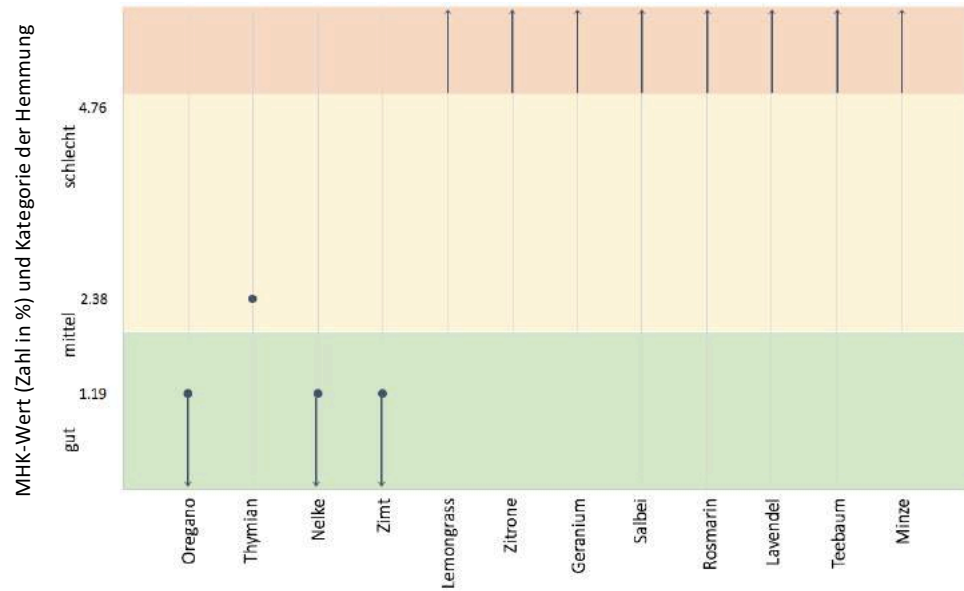


**Abbildung 14:** MHK-Werte für *E. coli*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* bei den zwölf Ölen mit dem Disk-Diffusion-Test.

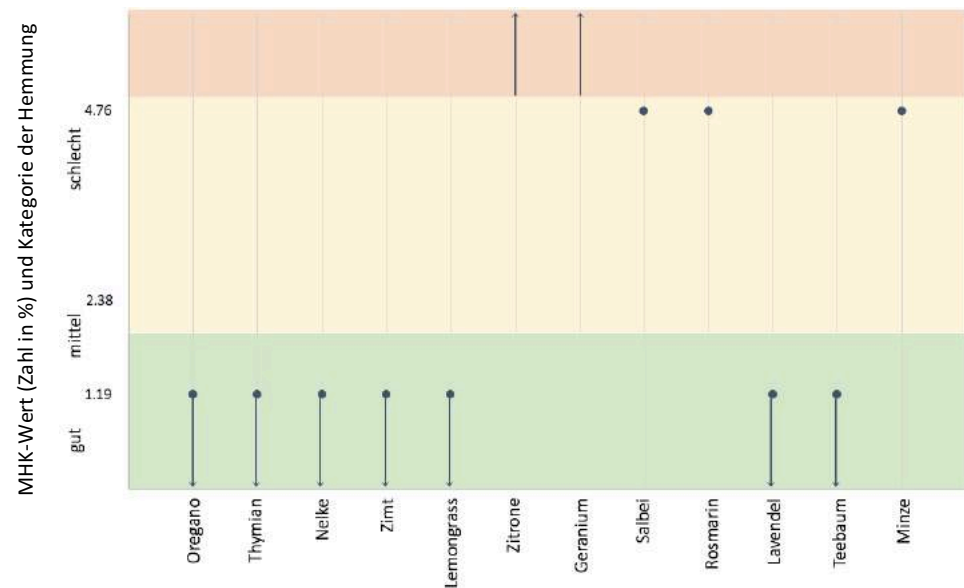
*S. aureus*



*E. faecalis*

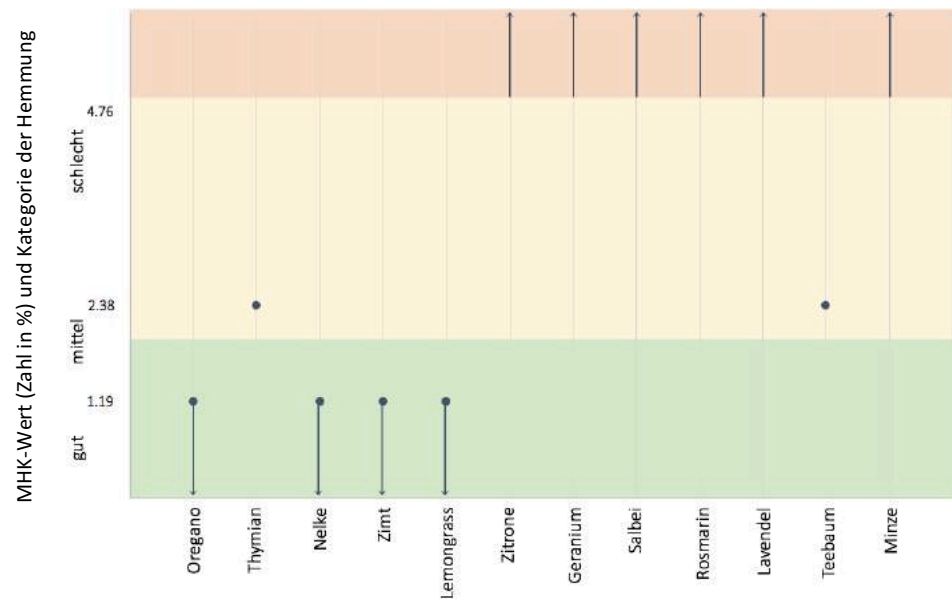


*B. subtilis*

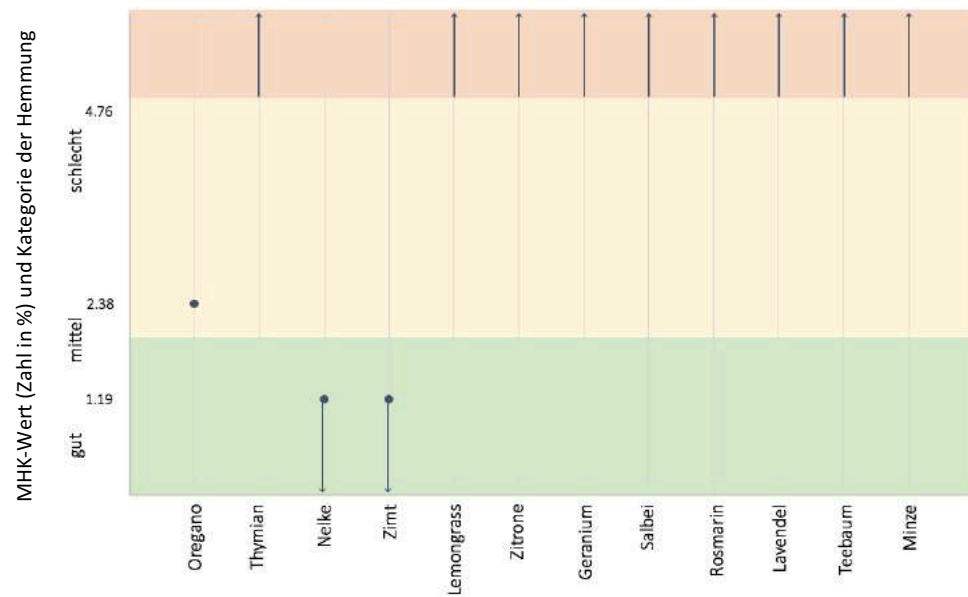


**Abbildung 15:** MHK-Werte für *S. aureus*, *E. faecalis* und *B. subtilis* bei den zwölf Ölen mit dem Agardilution-Test.

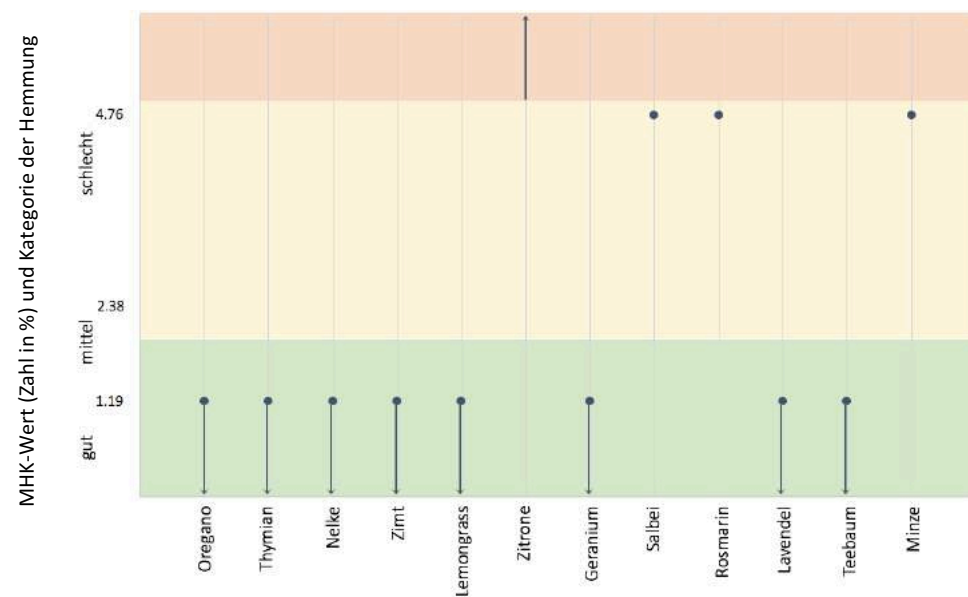
*E. coli*



*P. aeruginosa*



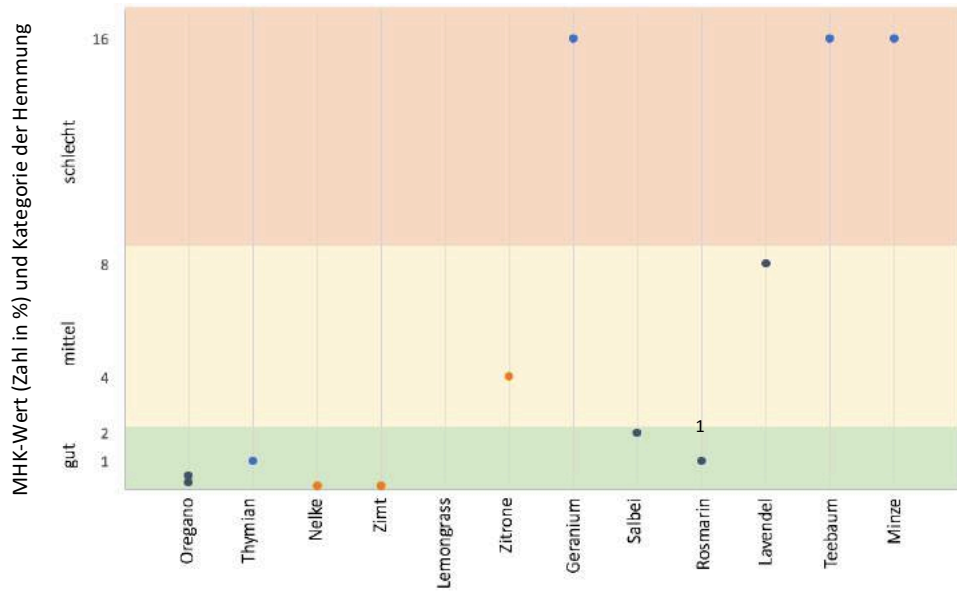
*C. albicans*



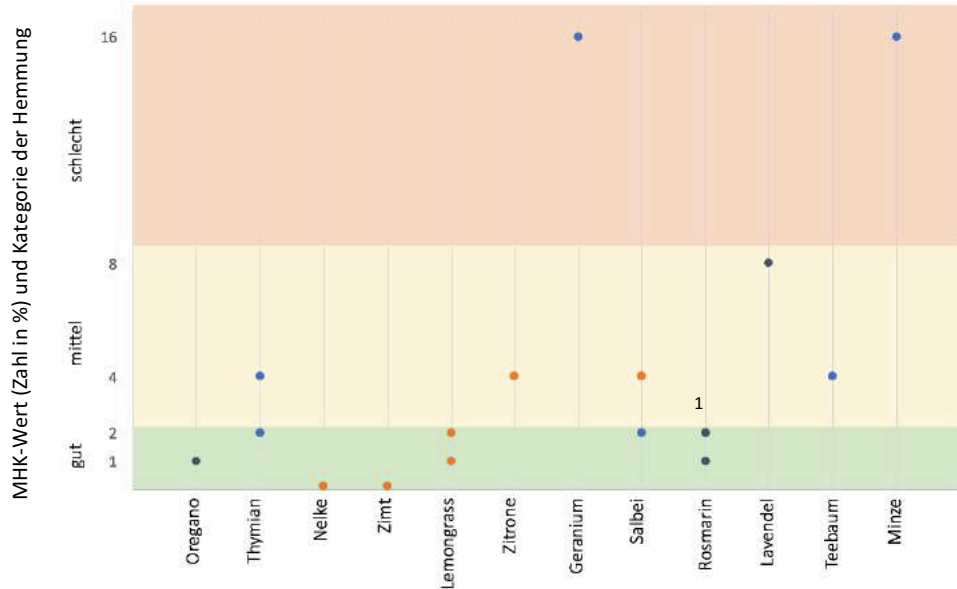
**Abbildung 16:** MHK-Werte für *E. coli*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* bei den zwölf Ölen mit dem Agardilution-Test.



*S. aureus*



*E. faecalis*



*B. subtilis*

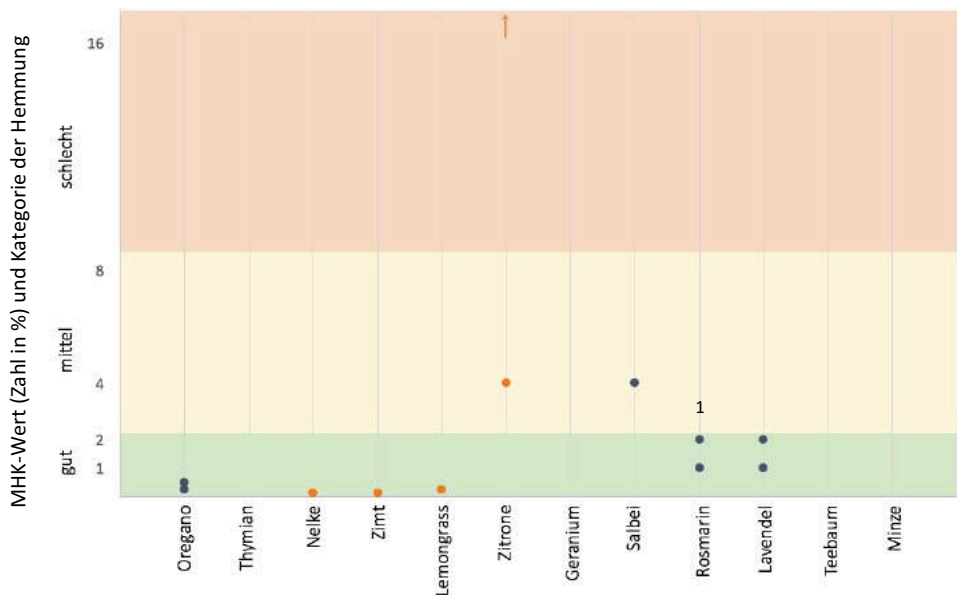
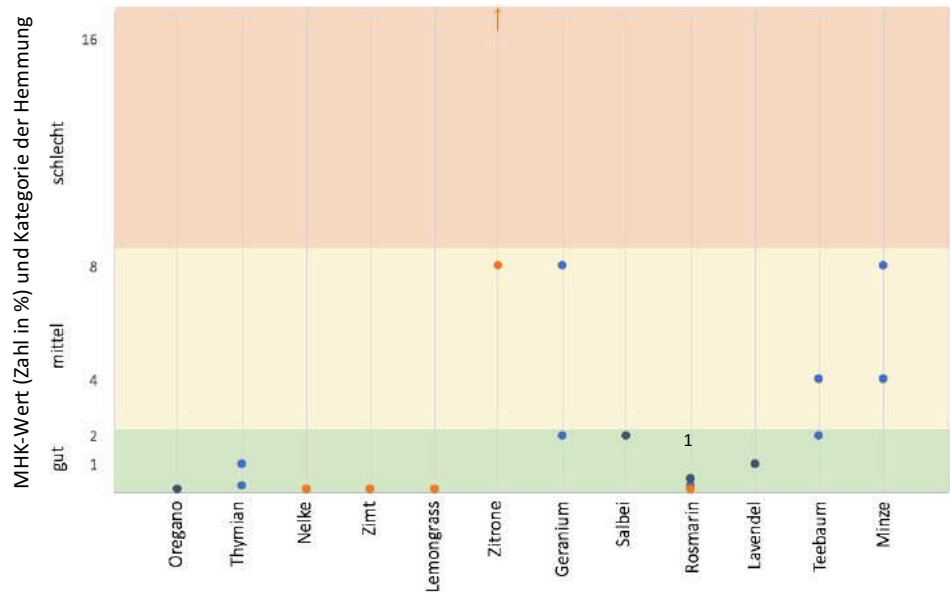
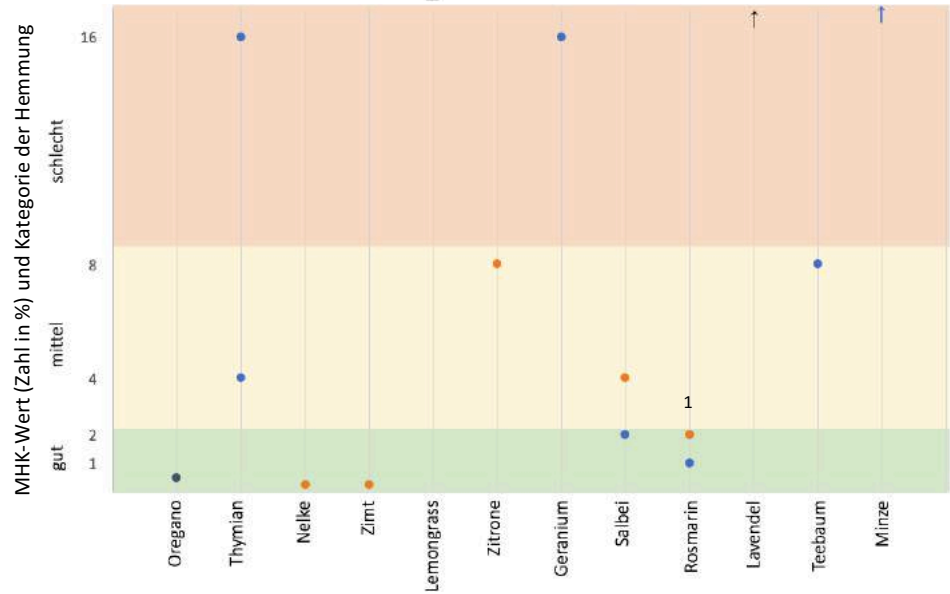


Abbildung 17: MHK-Werte für *S. aureus*, *E. faecalis* und *B. subtilis* bei den zwölf Ölen mit dem Mikrodilution-Test. <sup>1</sup> Die Resultate zu Rosmarin sind wohl verzerrt (Erklärung vgl. 6.6).

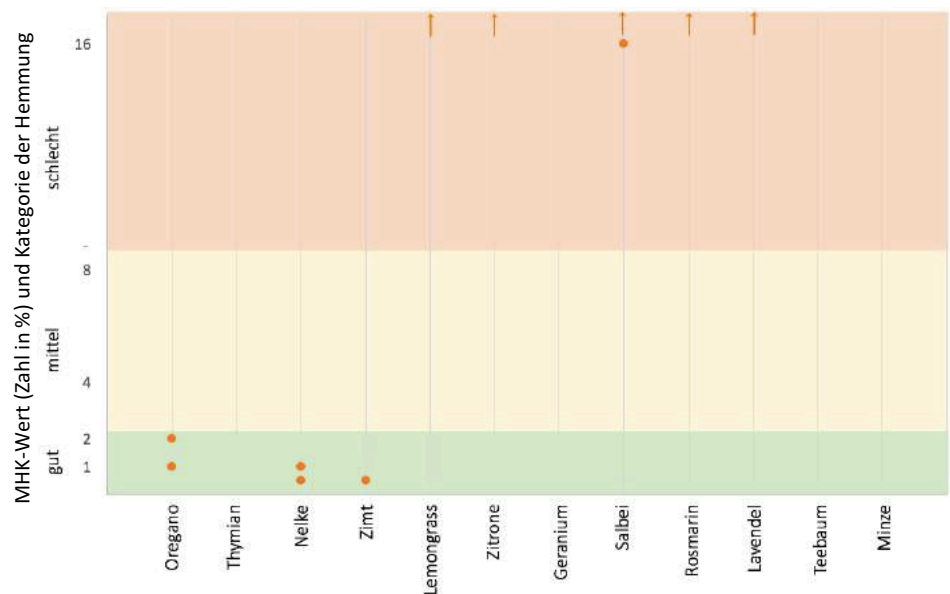
*E. coli*



*P. aeruginosa*



*C. albicans*



**Abbildung 18:** MHK-Werte für *E. coli*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* bei den zwölf Ölen mit dem Mikrodilution-Test. <sup>1</sup> Die Resultate zu Rosmarin sind wohl verzerrt (Erklärung vgl. 6.6).

## 5.4 Resultate der Synergie-Tests von Ölkombinationen

### Diagramme und Kategorisierung

Um eine Synergie festzustellen, ist ein Vergleich zwischen den Resultaten des Disk-Diffusion-Tests der einzelnen Öle (vgl. 5.1) und der Kombination dieser Öle notwendig. Die Einteilung in die Kategorien „starke“, „mittlere“ und „schlechte Hemmung“ erfolgte gleich wie bei der Disk-Diffusion.

**Tabelle 4:** Übersichtstabellen zur Deutung möglicher Synergien von Kombinationen ätherischer Öle. Aus den MHK-Werten (in %) für die sechs getesteten Mikroorganismen bei den einzelnen Ölen und deren Kombination (Oregano- und Thymianöl (Or. und Thy.), Lavendel- und Nelkenöl (Lav. und Nel.) sowie Teebaum- und Zimtrindenöl (Tb. und Zimt)) lassen sich die FHK-Werte berechnen. Bei  $FHK < 0.5$  wirkt die Kombination synergetisch, bei  $0.5 < FHK < 4$  additiv und bei  $FHK > 4$  antagonistisch. Die mehrfachen Resultate rühren von doppelten Datenpunkten bei der Bestimmung der MHK-Werte. Gewisse FHK-Werte lassen sich nicht präzise berechnen, weil der MHK-Wert nicht definiert ist (z. B.  $> 16\%$  oder  $> 8\%$  bei den Kombinationen). Die Berechnungen wurden folglich mit  $16\%$  resp.  $8\%$  durchgeführt und die entsprechenden Resultate wurden mit einem Kreis  $^\circ$  markiert.

Mikroorganismen	MHK Or.	MHK Thy.	MHK Or. + Thy.	FHK	Deutung FHK
<i>S. aureus</i>	0.5	1	4, 8	12, 24	antagonistisch
<i>E. faecalis</i>	0.5	1	4	12	antagonistisch
<i>B. subtilis</i>	0.25	0.5, 1	2, 4	10, 12, 18, 24	antagonistisch
<i>E. coli</i>	0.25	1	2	10	antagonistisch
<i>P. aeruginosa</i>	0.5	1	8	40	antagonistisch
<i>C. albicans</i>	$< 0.125$	0.25	2	24	antagonistisch

Mikroorganismen	MHK Lav.	MHK Nel.	MHK Lav. + Nel.	FHK	Deutung FHK
<i>S. aureus</i>	$> 16$	$< 0.5, 4$	8	$16.5^\circ, 2.5^\circ$	antagonistisch, additiv
<i>E. faecalis</i>	$> 16$	$< 0.5$	$> 8$	$16.5^\circ$	antagonistisch
<i>B. subtilis</i>	$> 16$	$< 0.5$	8	$16.5^\circ$	antagonistisch
<i>E. coli</i>	$> 16$	$< 0.5$	8	$16.5^\circ$	antagonistisch
<i>P. aeruginosa</i>	$> 16$	$< 0.5$	8, $> 8$	$16.5^\circ$	antagonistisch
<i>C. albicans</i>	$> 16$	$< 0.5$	4, 8	$8.25^\circ, 16.5^\circ$	antagonistisch

Mikroorganismen	MHK Tb.	MHK Zimt	MHK Tb. + Zimt	FHK	Deutung FHK
<i>S. aureus</i>	$> 16$	8	8	$1.5^\circ$	additiv
<i>E. faecalis</i>	$> 16$	8	8, $> 8$	$1.5^\circ$	additiv
<i>B. subtilis</i>	$> 16$	2	8	$4.5^\circ$	antagonistisch
<i>E. coli</i>	16, $> 16$	4, 8	8	1.5, 2.5	additiv
<i>P. aeruginosa</i>	$> 16$	4, 8	8	$1.5^\circ, 2.5^\circ$	additiv
<i>C. albicans</i>	16, $> 16$	$< 0.5$	4	8.25	antagonistisch

### Resultatbeschreibung (Abb. 19-20, vgl. 13.1.4)

Die Kombination Oregano- und Thymianöl wies immer einen höheren MHK-Wert auf als derjenige der einzelnen Öle, weshalb die Kombination bei allen Mikroorganismen als antagonistisch gilt (Abb. 19-20, Tabelle 4).

Bei der Kombination Lavendel- und Nelkenöl konnte ich nicht definieren, ob sie additiv oder antagonistisch ist, weil Lavendelöl alleine immer einen MHK-Wert von  $> 16\%$  aufwies. Wenn man den genauen Wert nicht kennt, ist eine präzise Berechnung unmöglich. Bei einer

Berechnung mit 16 % wäre die Kombination für alle Mikroorganismen antagonistisch, ausser für *S. aureus* (mit dem MHK-Wert von 4 % für Nelkenöl), wo die Kombination additiv wäre (Tabelle 4).

Bei der Kombination Teebaum- und Zimtrindenöl ist die Berechnung der FHK-Werte auch aufgrund der undefinierten MHK-Werte (> 16 %) nicht möglich. Einzig bei *E. coli* und *C. albicans* wies Teebaumöl einen MHK-Wert von 16 % auf. Die Kombination wäre für *E. coli* additiv, für *C. albicans* jedoch antagonistisch (Tabelle 4).

### Kontamination

Ich stellte eine Kontamination der Agardilutionsplatten von *S. aureus* und *E. faecalis* mit *P. aeruginosa* (s. 5.2) einen Tag nach deren Auswertung, also am Tag der Auswertung der Synergie-Platten, fest. Deshalb sind die Resultate zu *E. faecalis*, dessen Platten auch bei den Synergieplatten leicht kontaminiert waren, wohl verfälscht und folglich mit Vorsicht zu interpretieren. Die Resultate zu *S. aureus* stellen jedoch kein Problem dar, da ich die Kontamination der Überimpfungsplatte schon vorher festgestellt hatte und deshalb für die Herstellung der Synergie-Platten den unkontaminierten *S. aureus* auf der Ursprungsplatte verwenden konnte.

## 5.5 Wirkung der Öle im Vergleich mit Antibiotika

Die Stärke der Hemmung kann nicht nur am MHK-Wert, sondern auch am Durchmesser des Hemmhofes abgelesen werden. Mit dem Durchmesser des Hemmhofes kann man folglich auch feststellen, ob ein Mikroorganismus empfindlich oder resistent gegen ein Antibiotikum ist, indem man den erhaltenen Wert mit dem Breakpoint\* auf der Internetseite des europäischen Komitees für das Testen antimikrobieller Empfindlichkeit (EUCAST\*) vergleicht. Dieses Experiment eignet sich auch gut, um einen Vergleich zwischen den Hemmhöfen von Antibiotika und ätherischen Ölen herzustellen und folglich auch ihre Wirkungsgrade zu betrachten.

### Diagrammbeschreibung

Die Multodiscs enthalten acht verschiedene Antibiotika. Die Hemmhöfe der einzelnen Antibiotika sowie deren Durchschnitt werden in den Diagrammen mit dem Durchschnitt aller Hemmhöfe von ätherischen Ölen für diese Mikroorganismen verglichen. Zudem führte ich jeweils den Hemmhofdurchmesser von denjenigen ätherischen Ölen auf, welche den grössten Hemmhof aufwiesen. Die Prozentzahl zeigt die Konzentration an, bei welcher dieser Wert gemessen wurde.

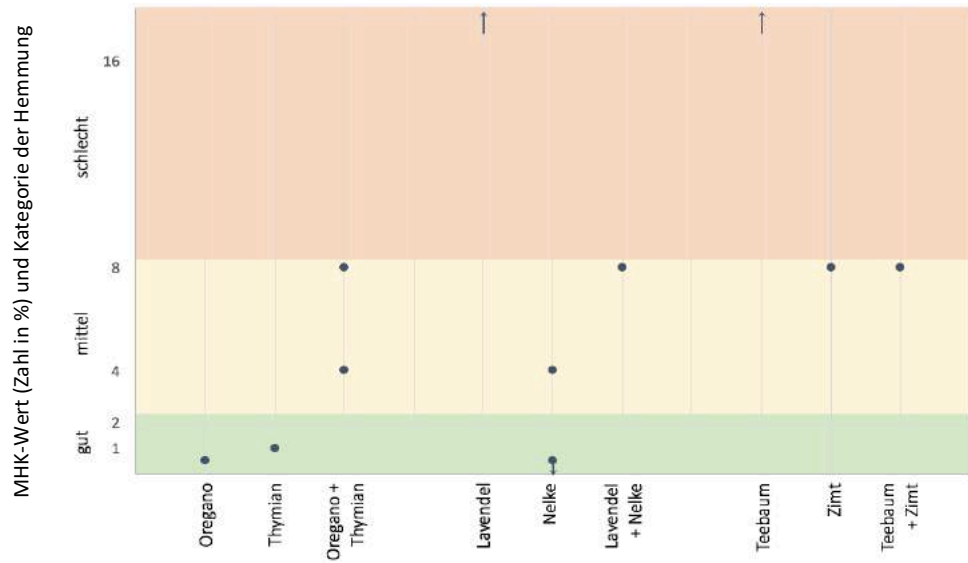
Die blauen Balken zeigen eine komplette, die orangen nur eine leichte Hemmung resp. einen Hemmhof mit einigen Subpopulationen an. Als Subpopulationen bezeichnet man im Zusammenhang mit Antibiotikaresistenz-Tests an Mikroorganismen einzelne resistente Kolonien eines Stamms, der eigentlich nicht resistent ist.

Wenn ein Balken blau und orange ist, bedeutet dies, dass dieses Antibiotikum bis zu einem bestimmten Durchmesser komplett, jedoch darüber hinaus nur noch leicht hemmte. Die Durchschnittsberechnung erfolgte, indem ich zuerst den Durchschnittsdurchmesser aller kompletten Hemmhöfe (blau) und dann den Durchschnittsdurchmesser aller kompletten und leichten Hemmhöfe (blau und orange) berechnete.

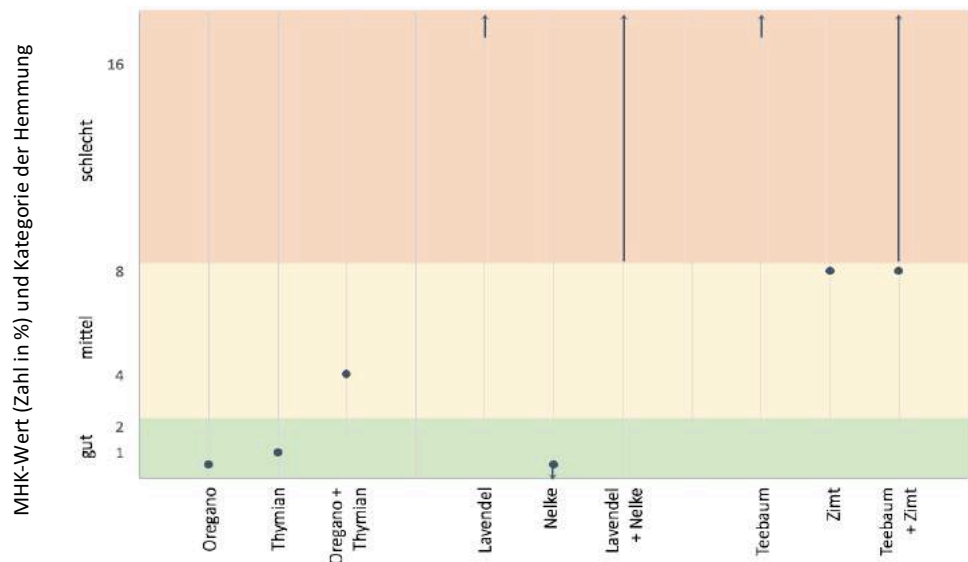
**Resultatbeschreibung**

Alle Antibiotika ausser Cefoxitin (FOX), Erythromycin (ERY) und Linezolid (LNZ) waren gegen die getesteten Bakterien wirksam (Abb. 21-22, vgl. 13.1.5, Tabelle 14 und 13.2.4, Abb. 34). Cefoxitin, Erythromycin und Linezolid hemmten, wenn überhaupt, nur sehr leicht. Ausserdem war der Hefepilz *C. albicans* gegen alle acht Antibiotika resistent. Obwohl sich Zimtrindenöl nicht als dasjenige Öl herausstellte, das auch noch bis in die tiefsten Konzentrationen hemmte, hatte es dennoch meistens mit Abstand den grössten Hemmhof. Bei der Verlässlichkeit der Resultate verhält es sich gleich wie bei den Synergien (5.4): Die Platten von *E. faecalis* sind wohl kontaminiert und die Resultate daher ungenau.

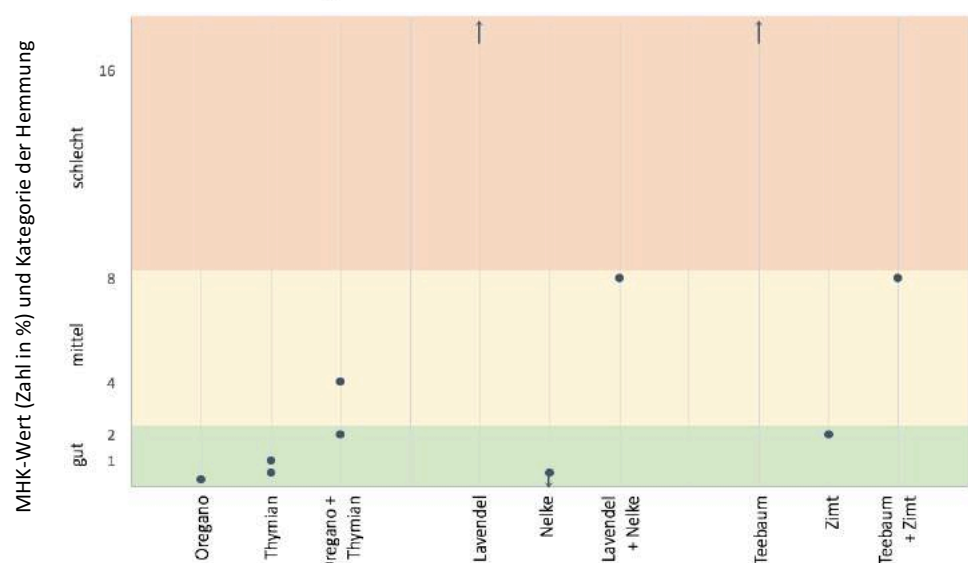
*S. aureus*



*E. faecalis* \*



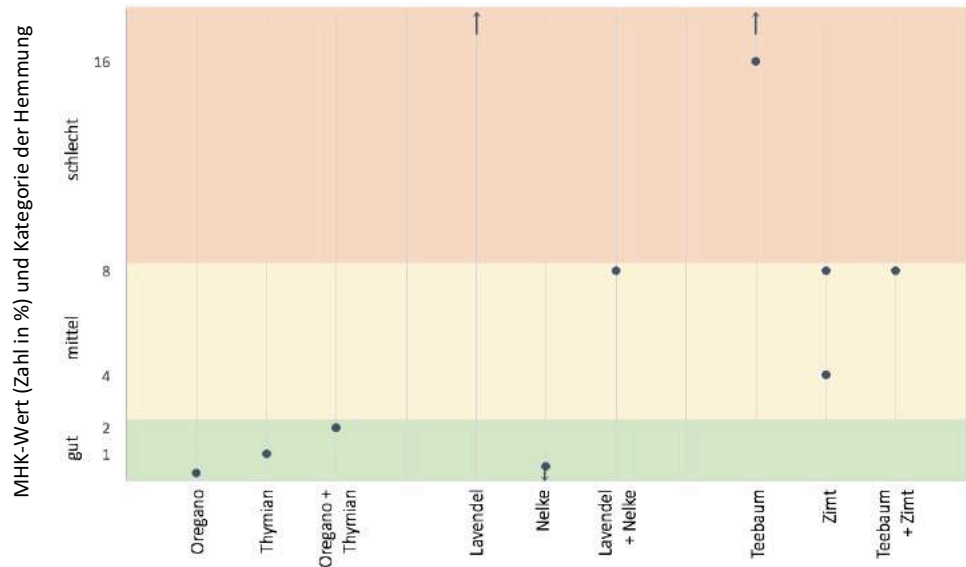
*B. subtilis*



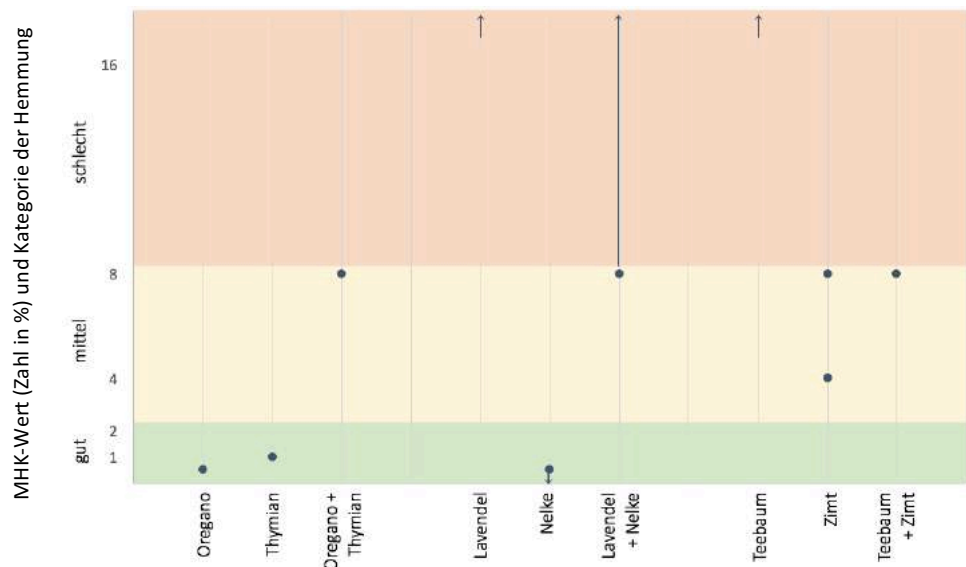
**Abbildung 19:** MHK-Werte für *S. aureus*, *E. faecalis* und *B. subtilis* bei den einzelnen Ölen und deren Kombination mit dem Disk-Diffusion-Test.

\* Die Resultate für *E. faecalis* bei den Ölkombinationen sind aufgrund von Kontaminationen verfälscht.

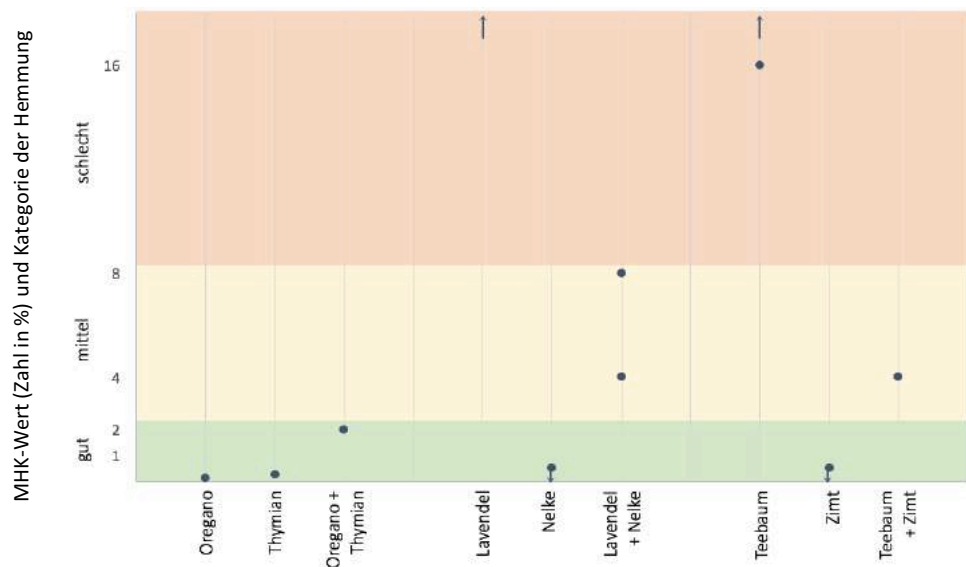
*E. coli*



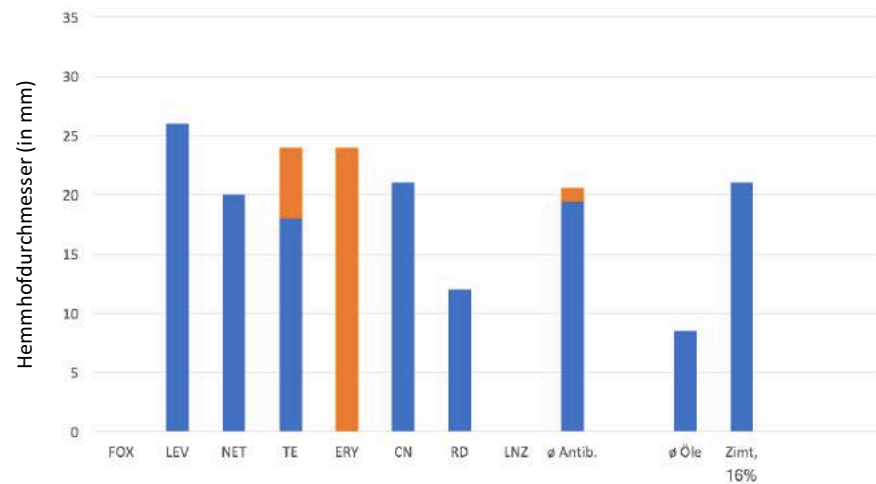
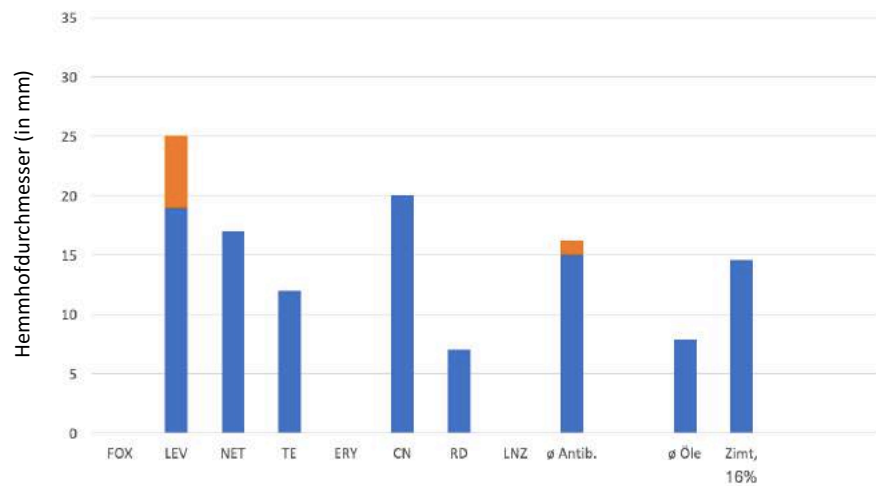
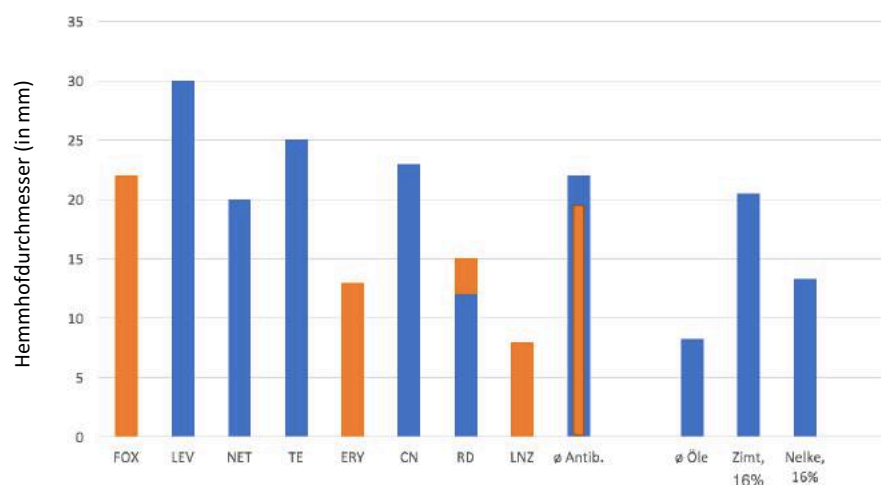
*P. aeruginosa*



*C. albicans*



**Abbildung 20:** MHK-Werte für *E. coli*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* der einzelnen Öle und deren Kombination mit dem Disk-Diffusion-Test.

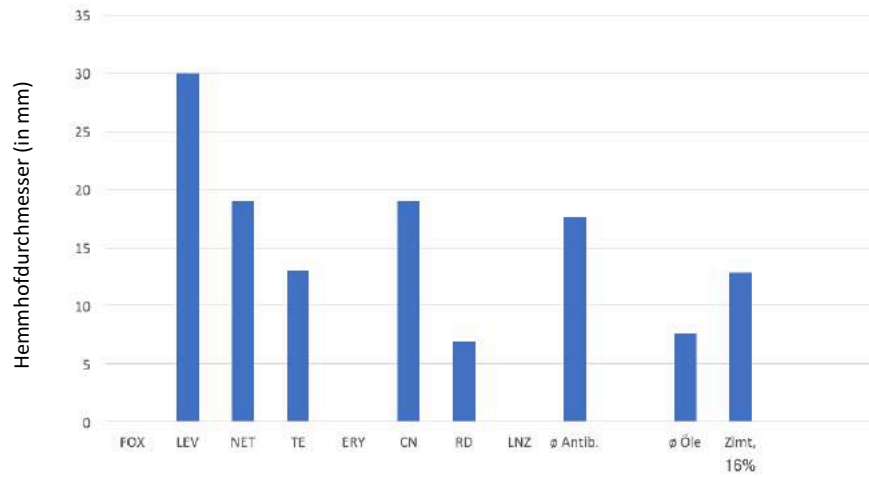
*S. aureus**E. faecalis* \**B. subtilis*

**Abbildung 21:** Hemmhof-Durchmesser für *S. aureus*, *E. faecalis* und *B. subtilis* unter Antibiotikawirkung und deren Durchschnitt im Vergleich zu ätherischen Ölen. Bei *B. subtilis* ist der Durchschnitt der leichten Hemmhöfe (z. B. mit Subpopulationen) kleiner als der Durchschnitt der kompletten Hemmhöfe, weshalb sich der orange Balken vor dem blauen befindet.

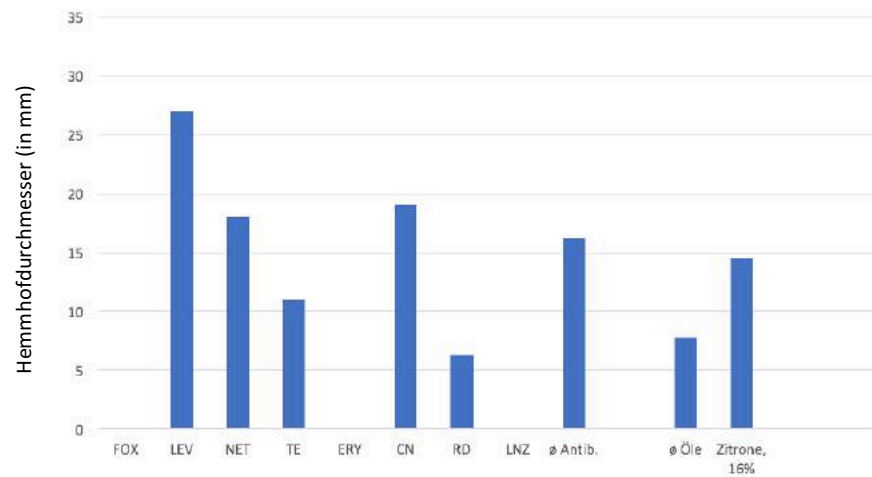
\* Die Resultate für *E. faecalis* sind aufgrund von Kontaminationen verfälscht.



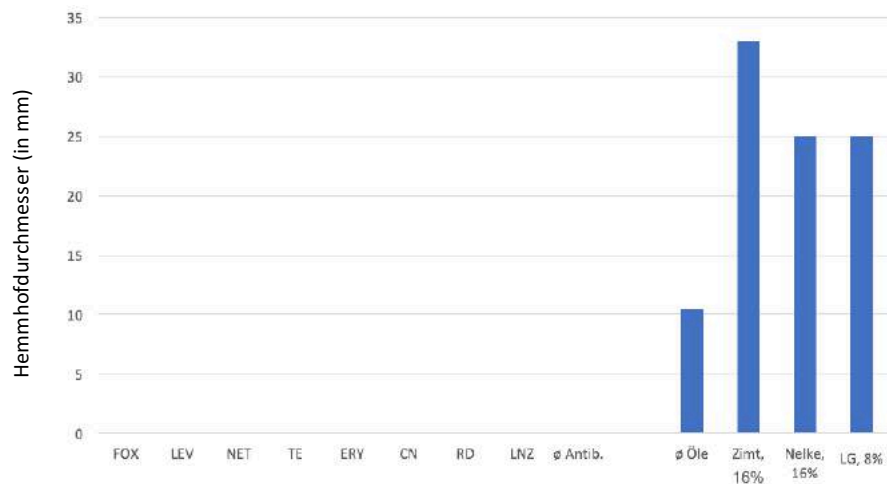
*E. coli*



*P. aeruginosa*



*C. albicans*



**Abbildung 22:** Hemmhof-Durchmesser für *E. coli*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* unter Antibiotikawirkung und deren Durchschnitt im Vergleich zu ätherischen Ölen.

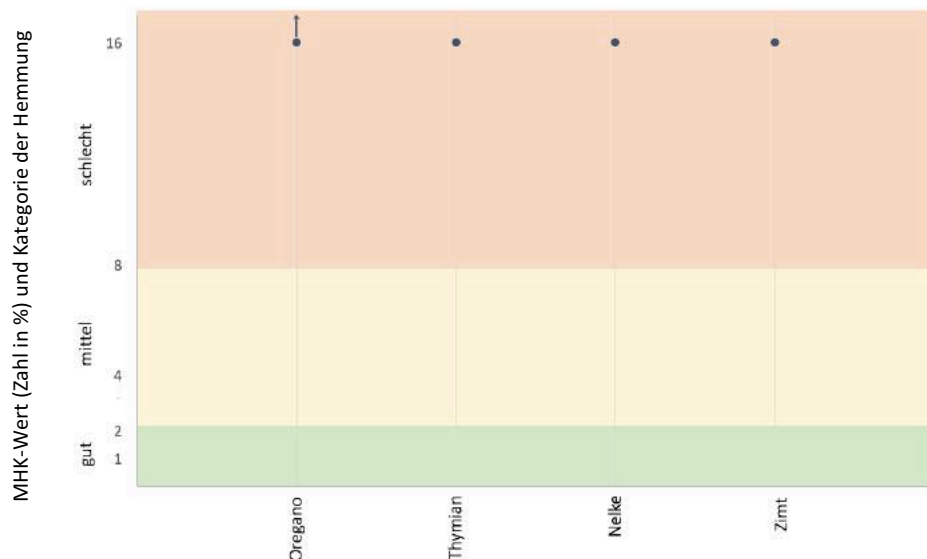
## 5.6 Staphylococcus pseudintermedius

### Kategorisierung

Diese Experimente zeigen die Wirkung der vier stärksten ätherischen Öle gegen einen multiresistenten Erreger. Wie beim Disk-Diffusions-Test gelten MHK-Werte zwischen 0.5 % und 2 % als starke Hemmung (grün), MHK-Werte zwischen 4 % und 8 % als mittlere Hemmung (gelb) und MHK-Werte  $\geq 16$  % als schwache Hemmung (rot).

### Resultatbeschreibung

Die ätherischen Öle hemmten den multiresistenten Erreger nur schwach (Abb. 23, vgl. 13.1.6), weil jeweils erst bei 16 % eine Wirkung zu verzeichnen war. Oreganoöl wies in einer Serie sogar gar keine Hemmung auf. Allerdings muss hierbei noch erwähnt werden, dass die Hemmhöfe z. T. einen grossen Durchmesser aufwiesen. Zimtrindenöl hatte einen Hemmhof von 15 mm, Thymianöl sogar von 19.5 mm. Eine Ausnahme bildet Oreganoöl, welches (wenn überhaupt) mit einem kleinen Hemmhof (6.7 mm) hemmte. (vgl. 13.1.6, Tabelle 15)



**Abbildung 23:** MHK-Werte für den multiresistenten *S. pseudintermedius* bei den vier Ölen, mit dem Disk-Diffusion-Test eruiert.

### 5.7 Zusammenfassung der Resultate

In den vorhergehenden Kapiteln wurden die verschiedenen MHK-Werte der Mikroorganismen bei den zwölf ätherischen Ölen kategorisiert und einer Farbe (starke Hemmung = grün, mittlere Hemmung = gelb und schwache Hemmung = rot) zugeordnet.

Die Resultate des Disk-Diffusion-, Agardilution- und Mikrodilution-Tests der einzelnen Öle wurden in einer Übersicht dargestellt (vgl. 13.1.7, Tabelle 16). Bei doppelten Datenpunkten, die sich in zwei verschiedenen Kategorien befanden, wählte ich jeweils die höhere (schlechtere) Kategorie.

**Berechnung der Durchschnitte**

Aus den drei Farbcodes der Werte von Disk-Diffusion, Agardilution und Mikrodilution berechnete ich den Durchschnitt (Gewichtung: grün = 2, gelb = 1 und rot = 0). Anschliessend rundete ich die Durchschnitte arithmetisch und konnte somit wieder die drei Kategorien „starke Hemmung“ (grün, Durchschnitt  $\cong 2$ ), „mittlere Hemmung“ (gelb, Durchschnitt  $\cong 1$ ) und „schwache Hemmung“ (rot, Durchschnitt  $\cong 0$ ) herstellen. Diese starke Vereinfachung ist bei der Betrachtung dieser Tabelle immer im Hinterkopf zu behalten; sie ermöglicht jedoch einen einfacheren Vergleich zwischen den Ölen und Mikroorganismen.

**Tabelle 5:** Durchschnittswert-Übersicht über die erhaltenen Resultate zum Disk-Diffusion-, Agardilution- und Mikrodilution-Test der einzelnen Öle gegen alle Mikroorganismen. Die Farbe grün entspricht einer starken, gelb einer mittleren und rot einer schwachen Hemmung.

	Grampositive Bakterien			Gramnegative Bakterien		Hefepilz
	<i>S.a.</i>	<i>E.f.</i>	<i>B.s.</i>	<i>E.c.</i>	<i>P.a.</i>	<i>C.a.</i>
ätherische Öle	Oregano	Grün	Grün	Grün	Grün	Grün
	Thymian	Grün	Gelb	Grün	Grün	Gelb
	Nelke	Grün	Grün	Grün	Grün	Grün
	Zimt	Grün	Grün	Grün	Grün	Grün
	Lemongrass	Rot	Gelb	Grün	Grün	Rot
	Zitrone	Rot	Rot	Gelb	Rot	Rot
	Geranium	Gelb	Rot	Rot	Gelb	Rot
	Salbei	Gelb	Rot	Gelb	Gelb	Rot
	Rosmarin	Gelb	Gelb	Gelb	Gelb	Rot
	Lavendel	Rot	Rot	Gelb	Gelb	Rot
	Teebaum	Rot	Rot	Gelb	Gelb	Rot
	Minze	Rot	Rot	Gelb	Rot	Rot

## 6 Diskussion

### 6.1 Vergleich der Resultate mit der Hypothese 1

#### **Hypothese 1: Die meisten ätherischen Öle weisen eine antibakterielle Wirkung auf.**

Meine erste Hypothese konnte ich mit meinen Experimenten belegen. Jedes der getesteten Öle zeigte mindestens einmal eine antibakterielle (oder antimykotische) Wirkung. Mehrere Öle hemmten sogar in der tiefsten ausgetesteten Konzentration.

Ich kategorisierte die Öle mit Hilfe der Durchschnittswerttabelle (vgl. 5.7, Tabelle 5) nach ihrer Wirkung folgendermassen:

Stärkste Hemmung: Nelkenblüten-, Oregano-, Zimtrinden- und Thymianöl

Mittlere Hemmung: Lemongrass-, Geranien- und Rosmarinöl

Schwächste Hemmung: Salbei-, Lavendel-, Teebaum-, Zitronen- und Minzenöl

Ich konnte ausserdem eine Korrelation zwischen der Farbe (durchsichtig oder gelb) und der Löslichkeit einerseits und zwischen der Farbe und der Wirkung eines Öls andererseits feststellen. Die gelben („farbigen“) Öle sind Oregano-, Thymian-, Nelken-, Zimtrinden-, Lemongrass- und Zitronenöl, wobei Lemongrassöl die stärkste Färbung zeigte. Bei der Agardilution fiel mir auf, dass sich alle farbigen Öle schlechter im Agar verteilen liessen und kleine Tröpfchen bildeten (vgl. 13.2.2, Abb. 31).

Ausserdem bemerkte ich, dass alle stark hemmenden Öle farbig waren, aber wiederum hemmten nicht alle farbigen gut. Deshalb kann man nicht wirklich von einem Zusammenhang sprechen, doch die Farbigkeit scheint eine Voraussetzung für eine gute Wirkung zu sein (Abb. 24). Es könnte jedoch bedeuten, dass eine schlechte Löslichkeit eine Voraussetzung für eine gute Wirkung ist, denn schliesslich binden ätherische Öle an fettlösliche Bestandteile der Zellmembran (Cox, et al., 2000). Man könnte daraus folgern, dass je fettlöslicher die Öle, desto stärker die Disruption der Membran. Allerdings stellt sich die Frage, weshalb die stark hemmenden, farbigen Öle die stärkste Wirkung beim Disk-Diffusion-Test aufwiesen, obwohl sie sich am schlechtesten lösten. Vielleicht liegt es daran, dass eine gute Löslichkeit eine starke Verbreitung zur Folge hat, weshalb die Konzentration des Öls im Agar in der (grossen) verbreiteten Diffusionszone klein ist. Wenn die Konzentration des Öls in der Diffusionszone kleiner ist, hemmt das Öl auch schwächer, was kleinere Hemmhöfe zur Folge hat. Dies könnte eine Erklärung dafür sein, weshalb gut lösliche Öle schlechter hemmten. Analog hemmen wohl schlecht lösliche Öle deshalb gut, weil sie sich nicht stark verbreiten und die Konzentration in der Diffusionszone im Agar folglich hoch bleibt. Es gab jedoch auch schlecht lösliche Öle wie Zimt, welche einen grossen Hemmhof aufwiesen. Um einen molekularen Erklärungsansatz für die Vermutungen zu finden, verglich ich die Löslichkeit der Bestandteile (vgl. 13.3, Spezifikationen der Öle) auf PubChem. Tatsächlich weisen die farbigsten Öle (Lemongrass- und Zitronenöl) die schlechteste Löslichkeit auf. Ich konnte jedoch keine Korrelation zwischen der Stärke der Hemmung und der Farbe feststellen. Nelkenblüten-, Oregano-, Zimtrinden- und Thymianöl weisen (auf molekularer Ebene) sogar



**Abb. 24:** Mengendiagramm zur Übersicht über die hemmende Wirkung von farbigen ätherischen Ölen. In der gelben Menge befinden sich die farbigen Öle, in der blauen Menge die stark hemmenden. Aufgrund der Schnittmenge scheint es, dass die Farbigkeit eine Voraussetzung für eine starke Hemmung ist.

eine eher gute Löslichkeit auf. Vielleicht rührt ihre stark antimikrobielle Wirkung nicht daher, dass ihre vergleichsweise stärkere Hydrophobie eine stärkere Membrandisruption zur Folge hat, sondern dass sie ein optimales Mittelmaß an Hydrophobie besitzen. Somit führen sie einerseits zu einer starken Disruption der Membran, können jedoch auch, weil sie verhältnismässig gut löslich sind, besser an hydrophile Substanzen binden und ins Zellinnere gelangen. Ihnen stehen somit mehr Möglichkeiten zur Zellschädigung offen. Jedoch gibt es ähnlich gut lösliche Öle wie Rosmarin- oder Salbeiöl, welche keine starke Wirkung besitzen. Ich gehe deshalb davon aus, dass der entscheidende Faktor die Moleküle an sich sind, aus denen die Öle bestehen, und dass die Kategorisierung in „besonders hydrophob/besser löslich“ eine eher untergeordnete Rolle spielt.

Die schlechte Löslichkeit der oben genannten Öle bei den Experimenten liegt vielleicht an weiteren Faktoren wie intermolekularen Wechselwirkungen zwischen den Bestandteilen.

## 6.2 Vergleich der Resultate mit der Hypothese 2

### **Hypothese 2: Gewisse ätherische Öle können auch das Wachstum von Erregern hemmen, welche gegen herkömmliche Antibiotika resistent sind.**

Die vier getesteten Öle hemmten *S. pseudintermedius* mit eher grossen Hemmhöfen, wenn auch nur in der Höchstkonzentration. Trotzdem konnte ich diese Hypothese mit meinen Experimenten nicht bestätigen, da ich die Experimente aus Zeit- und Sicherheitsgründen nur mit einem Stamm eines multiresistenten Bakteriums durchführen konnte. Dies genügt jedoch nicht, um die Hypothese zu belegen. Deshalb wären noch weitere Experimente in diesem Bereich mit mehr Bakterien(stämmen) nötig.

## 6.3 Vergleich der Resultate mit der Hypothese 3

### **Hypothese 3: Ätherische Öle wirken besser gegen grampositive Bakterien als gegen gramnegative.**

Ich konnte keinen direkten Zusammenhang zwischen der Gramfärbung und der Empfindlichkeit eines Bakteriums nachweisen. Viel mehr konnte ich bei der Betrachtung der vereinfachten und unvereinfachten Tabelle (vgl. 5.7, Tabelle 5 und 13.1.7, Tabelle 16) eine Korrelation zwischen der Gefährlichkeit des Bakteriums und seiner Empfindlichkeit feststellen. Die Bakterien aus der Risikogruppe (RG) 2 der biologischen Schutzstufe\* (*P. aeruginosa*, *E. faecalis* und *S. aureus*) liessen sich schlechter hemmen als diejenigen aus der Stufe 1 (*E. coli* und *B. subtilis*). Wenn man die Bakterien von der schwächsten bis zur stärksten Empfindlichkeit auf Antibiotika ordnet, ergibt sich folgende Reihenfolge:

*P. aeruginosa* → *E. faecalis* → *S. aureus* → *E. coli* → *B. subtilis*  
 (RG 2)                    (RG 2)                    (RG 2)                    (RG 1)                    (RG 1)

Im Vergleich der EN ISO 20776-1\* mit den EUCAST\* Clinical Breakpoint\* Tables sieht man, dass die Bakterien aus der Stufe 2 mehr Resistenzen besitzen als *E. coli* aus der Stufe 1. Für *B. subtilis* gibt es keinen Referenzstamm, da Antibiotikatests wegen seiner Harmlosigkeit unüblich sind.

Der verwendete *P. aeruginosa*-Stamm ist möglicherweise gegen Antibiotika (Ciprofloxacin, Levofloxacin, Netilmicin und Ticarcillin) resistent. *E. faecalis* weist primäre Resistenzen gegen Aminoglykoside auf (Amikacin, Gentamicin, Netilmicin und Tobramycin). *S. aureus* weist vielleicht gegen drei Antibiotika (Chloramphenicol, Oritavancin (sicher) und Telavancin), *E. coli*

jedoch möglicherweise nur gegen ein Antibiotikum (Amoxicillin) eine Resistenz auf. Dass ich bei *P. aeruginosa*, *S. aureus* und *E. coli* nicht mit Sicherheit sagen kann, ob sie gegen die genannten Antibiotika eine Resistenz aufweisen, liegt daran, dass (ausser bei Oritavancin bei *S. aureus*) der Breakpoint von EUCAST mitten im Toleranzbereich der ISO-Norm liegt. Da ich keine Tests zur Bestimmung des MHK-Werts dieser Antibiotika durchgeführt habe, ist unklar, ob das Bakterium empfindlich oder resistent ist.

Ob die Bakterien der RG 2 deshalb so gefährlich sind, weil sie so viele Abwehrmechanismen und Resistenzen besitzen, oder ob sie so viele Abwehrmechanismen besitzen, weil sie so gefährlich sind und deshalb öfter in Kontakt mit Antibiotika kommen, kann nicht schlüssig beantwortet werden. Auch eine Kombination beider Faktoren wäre denkbar.

Es überrascht deshalb nicht, dass die pathogenen Bakterien aus der Stufe 2 die meisten Resistenzen besitzen und folglich auch die geringste Empfindlichkeit auf ätherische Öle aufweisen. Dass *E. faecalis* und *S. aureus* erst nach *P. aeruginosa* eingereiht sind, könnte daran liegen, dass die beiden ersteren auch als Kommensalen in oder auf dem menschlichen Körper vorkommen und deshalb in den Experimenten nicht gleich anfällig waren.

*B. subtilis* hingegen ist kein pathogener, jedoch ein sehr widerstandsfähiger Keim, weil er in den Endosporen-Zustand verfallen kann. Dass er trotzdem das anfälligste Bakterium war, deutet jedoch nicht auf einen Widerspruch hin. Schliesslich testete ich mit meinen Experimenten nur die Hemmung, nicht aber die Abtötung der Bakterien. Wenn er in den Endosporen-Zustand verfällt, teilt er sich nicht mehr und gilt folglich als gehemmt. Hätte ich aber die bakterizide Wirkung der ätherischen Öle getestet, wäre *B. subtilis* vielleicht resistenter gewesen als beim Testen der hemmenden Wirkung, weil er aus seinem Endosporen-Zustand aufwachen kann.

Der Hefepilz *C. albicans* (RG 2) ist auf derselben Empfindlichkeits-Stufe wie *E. coli* einzuordnen: Er liess sich eher gut hemmen. Dies ist ein auffallendes Resultat, weil die Bakterien der RG 2 sich bei meinen Experimenten sonst nicht gut hemmen liessen. Die Abweichung könnte daran liegen, dass *C. albicans* ein Eukaryot ist. Ob sich dieses Muster generell zeigt oder eine Ausnahme darstellt, müsste mit weiteren Experimenten an verschiedenen Hefepilzen der Kategorie RG 1 und RG 2 belegt werden.

Um meine dritte Hypothese fundiert belegen resp. widerlegen zu können, hätte ich eine noch grössere Bandbreite an Bakterienarten und -stämmen austesten müssen. Im Rahmen meiner Experimente hätte lediglich eine Tendenz festgestellt werden können, was jedoch nicht zutrif.

## 6.4 Vergleich der Resultate mit der Hypothese 4

### **Hypothese 4: Thymianöl und Zimtrindenöl hemmen im Vergleich zu den anderen getesteten Ölen am stärksten.**

Meine vierte Hypothese kann ich nicht bestätigen. Thymianöl gehörte zwar zur Kategorie der Öle mit einer starken Wirkung, wies aber weder die tiefsten MHK-Werte noch die grössten Hemmhofdurchmesser auf. Deshalb hemmte Thymianöl nicht am stärksten.

Zimtrindenöl hingegen zeigte beim Disk-Diffusion-Test meist den grössten Hemmhofdurchmesser und gehörte beim Agar- und Mikrodilution-Test zu denjenigen Ölen, welche in den tiefsten Konzentrationen hemmten. Dies war jedoch beim Disk-Diffusion-Test nicht der Fall.

Aufgrund der heterogenen Resultate der einzelnen Methoden ist auch Zimtrindenöl nicht dasjenige Öl, welches immer am stärksten hemmte. Nelkenblütenöl ist das am stärksten hemmende Öl, gefolgt von Zimtrinden- und Oreganoöl (circa ex aequo). (Tabelle 6)

**Tabelle 6:** Überblick über die Hemmstärke der vier besten Öle: Nelkenblüten-, Zimtrinden-, Oregano- und Thymianöl. Die Durchschnitte der MHK-Werte der Öle bei den verschiedenen Methoden wurden in einer Rangfolge zusammengefasst. Die totale Rangfolge („Insgesamt“) wurde erstellt, indem die Durchschnitte aller Methoden verglichen wurden. Grün steht für die stärkste, gelb für die zweitstärkste, orange für die drittstärkste und rot für die schwächste Hemmung.

Rangfolge	Test-Methode			Insgesamt
	Disk-Diffusion	Agardilution	Mikrodilution	
1.	Oregano	Nelkenblüte und	Zimtrinde	Nelkenblüte
2.	Nelkenblüte	Zimtrinde	Nelkenblüte	Zimtrinde und
3.	Thymian	Oregano	Oregano	Oregano
4.	Zimtrinde	Thymian	Thymian	Thymian

## 6.5 Disk-Diffusion-Test im Vergleich zu anderen Methoden und dem Antibiotika-Multodisc-Test

Mir fiel auf, dass ich mit dem Disk-Diffusion-Test grundsätzlich die schlechtesten Resultate erhielt, d. h. dass Öle, welche beim Agar- und Mikrodilution-Test hemmten, beim Disk-Diffusion-Test keine Hemmung zeigten. Dies könnte daran liegen, dass beim Disk-Diffusion-Test das Öl in das Nährmedium\* diffundieren muss, bevor es mit den Mikroorganismen in Kontakt kommt. Beim Agar- und Mikrodilution-Test hingegen sind das Öl und die Mikroorganismen in unmittelbarem Kontakt. Allerdings waren die Öle beim Agardilution-Test teilweise nicht sehr homogen vermischt, was wohl erklärt, weshalb ich grundsätzlich die besten Resultate mit dem Mikrodilution-Test erzielen konnte.

Die Schwierigkeit der Diffusion könnte auch erklären, weshalb die Öle in tieferen Konzentrationen einen höheren Hemmhofdurchmesser aufwiesen. Schliesslich ist die Diffusion in den Agar umso einfacher, je tiefer der Ölanteil in der Emulsion ist, weil der Agar in den Platten wasserlöslich ist.

Ein weiterer Grund, weshalb die Öle mit dem Disk-Diffusion-Test eine schlechtere Wirkung aufwiesen, könnte die verwendete Hemmstoffmenge sein. Die beim Disk-Diffusion-Test aufgetragene Menge an ätherischen Ölen beträgt bei der Höchstkonzentration von 16 % weniger als 1.3 µg. Beim Mikrodilution-Test wurden bei 16 % ungefähr 16 µg und beim Agardilution-Test, wo die höchste getestete Konzentration bei 4.76 % liegt, sogar ungefähr 48 µg aufgetragen. Beim Agardilution-Test ist der Hemmstoff jedoch im ganzen Agar verteilt. Die Menge an ätherischen Ölen, welche bei der Agardilution wirklich mit den Mikroorganismen in Kontakt kommt, ist folglich kleiner als bei der Mikrodilution.

Ausserdem muss beim Disk-Diffusion-Test der Hemmstoff noch in den Agar diffundieren, und je weiter er sich verbreitet, desto tiefer ist schliesslich die Endkonzentration in der Diffusionszone, welche tatsächlich mit den Bakterien in Berührung kommt.

Die Öle zeigten eine antibakterielle (und antimykotische) Wirkung, diese war jedoch in Bezug auf die Hemmhofdurchmesser nicht gleich stark wie die Wirkung des getesteten Antibiotika. Der Durchschnitt aller Hemmhöfe von allen Ölen war sehr tief, jedoch zeigten einzelne Öle wie Zimtrindenöl einen grossen Hemmhof. Eine mögliche Erklärung dafür wäre die Hydrophobie der Öle, welche leider trotz der eingesetzten Emulgatoren nicht zu unterdrücken war – dies ist in Bezug auf die Diffusion ein klarer Nachteil zu den hydrophilen Antibiotika. Allerdings lösten sich Tetracyclin und Rifampicin nur schlecht in Wasser, und beide hemmten meistens, wenn auch nicht mit den grössten Hemmhöfen. Ich sehe den Grund viel eher darin,

dass die Antibiotikadisks hochaufgereinigte, d. h. wirksamere Wirkstoffe beinhalten und die Hemmstoffmenge mit 5-30 µg grösser ist als beim Disk-Diffusion-Test. Ausserdem könnte die schlechtere Wirkung von ätherischen Ölen in ihrer starken Flüchtigkeit begründet liegen, wodurch ein Teil ihrer Wirkstoffe während der Experimente verdunsten.

## 6.6 Besonderheiten beim Mikrodilution-Test

Beim Mikrodilution-Test sind einige Besonderheiten aufgetreten, die einer Erklärung bedürfen:

Die Lemongrassöl-Resazurin\*-Mischung verfärbte sich als einzige atypisch, was wahrscheinlich daran liegt, dass Lemongrassöl dasjenige Öl ist, das mit Abstand die stärkste Gelbfärbung aufweist (vgl. 13.1.3, Abbildung 32).

Bei Resazurinauswertungen der Platten für Oregano-, Salbei-, Rosmarin- und Lavendelöl gab es geringe Unregelmässigkeiten (leicht violett-blau anstatt satt pink gefärbte Bakterienlösung) in der ersten oder sogar den ersten beiden Wachstumskontrollreihen (vgl. 13.2.3, Abbildung 33). Diese kann man auch in den OD-Messreihen feststellen (vgl. 13.1.3, Tabelle 11).

Weil es teilweise nur in zwei Reihen dieser beiden Spalten eine Unregelmässigkeit gab, kann ein Fehler mit der Pipette nicht der Grund dafür sein, weil ich während des Beimpfungsprozesses\* die Pipetten nicht gewechselt hatte und eine Platte in einem Durchgang mit dem Mikroorganismus beimpfte. Zudem müssten in diesem Fall auch die Platten für Nelken-, Zimtrinden-, Lemongrass- und Zitronenöl, die ich am selben Tag präparierte, dieselben Besonderheiten aufweisen, was jedoch nicht der Fall war.

Eine weitere Möglichkeit wäre, dass das stark hemmende Oreganoöl sogar in kleinsten Mengen über die Luft in die benachbarten Reihen gelangte, weil die Platten nicht 100 % dicht sind und somit die Bakterien in den direkt benachbarten Wachstumskontrollreihen leicht hemmen konnte, was zu Unregelmässigkeiten führte. Dafür spricht, dass in den Wachstumskontrollreihen mit zunehmendem Abstand eindeutig weniger Unregelmässigkeiten beobachtet wurden. Diese Hypothese wird auch dadurch unterstützt, dass die Rosmarinölreihen, welche sich auf der anderen Seite der Oreganoölreihen befanden, im Gegensatz zum Disk-Diffusion- und Agardilution-Test überdurchschnittlich gute Hemmresultate aufwiesen. Jedoch sind die Resultate der beiden Rosmarinreihen sehr ähnlich zueinander, und beim Vergleich der Rosmarinreihen mit den Wachstumskontrollreihen stellt man zwar einen ähnlichen Trend, jedoch keine Übereinstimmung fest. Dies könnte jedoch an einer möglichen Interaktion zwischen dem Oregano- und dem Rosmarinöl liegen, was noch weiter untersucht werden müsste. Dennoch ist es besser, bei der Betrachtung/Interpretation von unklaren Resultaten Vorsicht walten zu lassen (vgl. 5.3, Abb. 17-18).

Die Resazurinauswertung bei *C. albicans* zeigte z. T. im Vergleich zu den anderen Mikroorganismen hohe MHK-Werte, was überraschend ist, weil der Hefepilz bei den anderen Methoden zu denjenigen Mikroorganismen gehörte, welche sich meist (sehr) gut hemmen liessen.

Beim Zitronen-, Lemongrass-, Salbei-, Rosmarin- und Lavendelöl lag der MHK-Wert bei > 16 %, was keiner Hemmung entspricht (bei Salbei auch bei 16 %). Dies liegt wohl daran, dass diese Platten übers Wochenende und nicht über Nacht ausgewertet wurden. Vielleicht verdunsteten die Öle langsam über das Wochenende oder entwickelten sich aufgrund ihrer Instabilität weiter zu wirkungslosen Bestandteilen. Schliesslich sind ätherische Öle nur unter kontrollierten Bedingungen – bei abgedunkelter und kühler Lagerung – langfristig stabil (Chouhan, et al.,



2017). Im Inkubator\* ist es jedoch viel wärmer und hell wegen der Fotos, die gemacht werden, weshalb die Öle widrigeren Bedingungen ausgesetzt waren. Zudem kamen sie mit mehr chemischen und biologischen Stoffen in Kontakt, z. B. Emulgatoren, Nährmedien, Stoffwechselprodukte der Bakterien. Ich vermute, dass die Zellen anfangs gehemmt wurden (und die Hefe *C. albicans* vermehrte sich langsamer als die Bakterienzellen), doch dass aufgrund des Verdunstens oder der weiter gehenden Reaktion die hemmende Wirkung der Öle nachliess und die Zellen wieder wachsen konnten. Demzufolge wären diese Öle nur fungistatisch, jedoch nicht fungizid.

Beim Oregano-, Zimtrinden- und Nelkenöl hingegen befand sich der Resazurinwert in der Kategorie „gute Hemmung“. Diese drei Öle gehören grundsätzlich zu den am stärksten hemmenden Ölen. Trotz längerer Inkubation konnten die Mikroorganismen nicht gut wachsen und blieben inaktiv. Dafür gibt es zwei mögliche Erklärungen:

- 1) Die Öle wiesen eine gute Wirkung auf, weil sie so stabil sind, dass sie nicht zerfielen. Eine hohe Stabilität ist natürlich auch bei anderen Testmethoden von Vorteil, was sicherlich auch als Faktor in ihre rundum stark hemmende Wirkung einfließen kann.
- 2) Die Öle zerfielen, doch ihre antimykotische Wirkung war so stark, dass sie die Zellen vielleicht sogar abtöteten. Folglich konnten sie sich, auch nachdem das Öl sich verflüchtigt hatte oder zerfallen war, nicht mehr vermehren. Diese Öle wären folglich sogar fungizid. Für stark hemmende Öle wie diese könnte man folglich sagen, dass eine längere Auswertung (wie hier mit Resazurin) sich dafür eignet, die minimale fungizide (bzw. bakterizide für Bakterien) Konzentration zu bestimmen, während eine Auswertung mit kürzerer Auswertungszeit (z. B. OD-Messungen, wären solche für diesen Mikroorganismus vorhanden gewesen) eher die minimale Hemmstoffkonzentration (also fungi- oder bakteriostatisch) anzeigen kann.

## 6.7 Interpretation der Resultate des Antibiotika-Multodisk-Tests

Anhand der Breakpoints \* von EUCAST \* können die Resultate, die ich mit dem Antibiotika-Multodisk-Test erhielt, interpretiert werden, wodurch den Bakterien eine Resistenz oder Empfindlichkeit zugeordnet werden kann, welche sie tatsächlich in den Experimenten aufwiesen (Tabelle 6). Zudem kann anhand der MHK\*-Toleranzbereiche der EN ISO 20776-1 im Vergleich mit den MHK-Breakpoints auf EUCAST eine Aussage über die Resistenz oder Empfindlichkeit des Bakteriums gemacht werden, die sie eigentlich „theoretisch“ aufweisen müssten (Schweizerische Normen-Vereinigung, 2007) (EUCAST, 2019). Durch den Vergleich der beiden Interpretationen kann auf die Zuverlässigkeit meiner Experimente geschlossen werden, da die Experimente der theoretischen Resistenz/Empfindlichkeit entsprechen sollten.

Es waren lediglich Daten für drei meiner getesteten Mikroorganismen verfügbar und somit ein Vergleich nur mit diesen möglich. Zudem sind in der ISO-Norm und auf EUCAST einige Datenpunkte für die Antibiotika nicht verfügbar, weshalb eine Interpretation nicht möglich ist und ein Vergleich der Interpretationen folglich auch nicht.

**Tabelle 7:** Übersichtstabellen über meine Resultate der Antibiotika-Multodisk-Tests und deren Interpretation für *S. aureus*, *E. coli* und *P. aeruginosa* bei den acht getesteten Antibiotika (Hemmstoffmengenangabe in  $\mu\text{g}$ ). Zu den anderen getesteten Mikroorganismen konnte ich keine Tabelle erstellen, weil *E. faecalis* kontaminiert war (vgl. 5.5), es zu *B. subtilis* weder Daten auf EUCAST noch in der ISO-Norm gibt und *C. albicans* gegen alle Antibiotika resistent ist. Die erhaltenen Hemmhofdurchmesser-Werte (HH- $\emptyset$ , in mm) werden mit den Hemmhofdurchmesser-Breakpoints von EUCAST (HH- $\emptyset$  BP, in mm) verglichen, wobei  $E \geq$  den Durchmesser anzeigt, bei dem (oder über dem) ein Bakterium als empfindlich gilt, und  $R <$  den Durchmesser, unter dem es als resistent gilt. Beim Vergleich des gemessenen

Hemmhofs und der EUCAST Breakpoints kann auf die Resistenz oder Empfindlichkeit des Bakteriums geschlossen werden. (EUCAST, 2019)

Zudem wird der MHK-Toleranzbereich (Tol.ber., in mg/L) der EN ISO 20776-1 angegeben und mit dem MHK-Breakpoint (MHK-BP, in mg/L) von EUCAST verglichen.  $E \leq$  zeigt den MHK-Wert an, bei oder unter dem das Bakterium als empfindlich gilt, und  $R >$  den MHK-Wert, über dem das Bakterium als resistent gilt. Beim Vergleich der Toleranzbereiche und der MHK-Breakpoints ergibt sich die Interpretation (Int. MHK) der Resistenz/Empfindlichkeit des Bakteriums, welche es laut EN ISO 20776-1 und EUCAST aufweisen müsste. Wenn eine genaue Zuteilung nicht möglich war, führte ich sie in der Tabelle als „unklar“ auf.

Die beiden Interpretationen (anhand des Hemmhofs und anhand der MHK) werden verglichen: „✓“ entspricht einer Übereinstimmung und „x“ einer Abweichung. „?“ steht für eine Unklarheit.

<b><i>S. aureus</i></b>									
Antibiotika	HH- $\phi$	HH- $\phi$ BP		Int. HH	Tol.ber.	MHK-BP		Int. MHK	✓ / x
		E $\geq$	R <			E $\leq$	R >		
Cefoxitin (30 $\mu$ g)	0	22	22	resistent	1 – 4	–	–	–	–
Levofloxacin (5 $\mu$ g)	26	22	22	empfindlich	0.06-0.5	1	1	empfindlich	✓
Netilmicin (10 $\mu$ g)	20	18	18	empfindlich	$\leq 0.25$	1	1	empfindlich	✓
Tetracyclin (30 $\mu$ g)	18	22	19	unklar	0.12 – 1	1	2	empfindlich	?
Erythromycin (15 $\mu$ g)	(24)	21	18	unklar	0.25 – 1	1	2	empfindlich	?
Gentamicin (10 $\mu$ g)	21	18	18	empfindlich	0.12 – 1	1	1	empfindlich	✓
Rifampicin (5 $\mu$ g)	12	–	–	–	0.004 – 0.15	–	–	–	–
Linezolid (10 $\mu$ g)	0	21	21	resistent	1 – 4	4	4	empfindlich	x

<b><i>E. coli</i></b>									
Antibiotika	HH- $\phi$	HH- $\phi$ BP		Int. HH	Tol.ber.	MHK-BP		Int. MHK	✓ / x
		E $\geq$	R <			E $\leq$	R >		
Cefoxitin (30 $\mu$ g)	0	19	19	resistent	2 – 8	–	–	–	–
Levofloxacin (5 $\mu$ g)	30	23	19	empfindlich	0.008 – 0.06	0.5	1	empfindlich	✓
Netilmicin (10 $\mu$ g)	19	15	12	empfindlich	$\leq 0.5$ – 1	2	4	empfindlich	✓
Tetracyclin (30 $\mu$ g)	13	–	–	–	0.5 – 2	–	–	–	–
Erythromycin (15 $\mu$ g)	0	–	–	–	–	–	–	–	–
Gentamicin (10 $\mu$ g)	19	17	14	empfindlich	0.25 – 1	2	4	empfindlich	✓
Rifampicin (5 $\mu$ g)	7	–	–	–	4 – 16	–	–	–	–
Linezolid (10 $\mu$ g)	0	–	–	–	–	–	–	–	–

<b><i>P. aeruginosa</i></b>									
Antibiotika	HH- $\phi$	HH- $\phi$ BP		Int. HH	Tol.ber.	MHK-BP		Int. MHK	✓ / x
		E $\geq$	R <			E $\leq$	R >		
Cefoxitin (30 $\mu$ g)	0	–	–	–	–	–	–	–	–
Levofloxacin (5 $\mu$ g)	27	22	22	empfindlich	0.5 – 4	1	1	unklar	?
Netilmicin (10 $\mu$ g)	18	12	12	empfindlich	0.5 – 8	4	4	unklar	?
Tetracyclin (30 $\mu$ g)	11	–	–	–	8 – 32	–	–	–	–
Erythromycin (15 $\mu$ g)	0	–	–	–	–	–	–	–	–
Gentamicin (10 $\mu$ g)	19	15	15	empfindlich	0.5 – 2	4	4	empfindlich	✓
Rifampicin (5 $\mu$ g)	6.3	–	–	–	16 – 64	–	–	–	–
Linezolid (10 $\mu$ g)	0	–	–	–	–	–	–	–	–

Sieben der zwölf möglichen Interpretationen stimmten überein (Empfindlichkeit von *S. aureus* gegenüber Levofloxacin, Netilmicin und Gentamicin, von *E. coli* gegenüber Levofloxacin, Netilmicin und Gentamicin und von *P. aeruginosa* gegenüber Gentamicin). Vier Interpretationsmöglichkeiten sind „unklar“: *S. aureus* wäre gegenüber Tetracyclin und Erythromycin empfindlich, wenn auch eine leichte Hemmung als Hemmhof zählt. Wenn dies nicht der Fall ist, gilt *S. aureus* als resistent. Da EUCAST rät, bei unscharfen Hemmhofrändern *S. aureus* als empfindlich einzustufen, gehe ich eher davon aus, dass trotz der nur leichten Hemmung der Hemmhof ganz zählt, *S. aureus* also empfindlich ist und die Interpretationen übereinstimmen. Die Interpretation der MHK für *P. aeruginosa* bei Levofloxacin und Netimicin ist „unklar“, weil der Breakpoint mitten im Toleranzbereich liegt und deshalb keine klare Aussage über eine mögliche Resistenz gemacht werden kann.

Die Interpretation von *S. aureus* für Linezolid stimmten nicht überein. Vielleicht liegt die verminderte antibiotische Wirkung an einem Qualitätmangel des Produktes, doch dies ist bei pharmazeutischen Produkten, die streng kontrolliert werden, sehr unwahrscheinlich. Viel eher liegt es wohl daran, dass die obere Grenze des Toleranzbereichs dem Breakpoint entspricht, sodass es möglich ist, dass ich beim Überimpfen\* und Beimpfen\* jeweils ausserordentlich resistente Kolonien wählte und der Breakpoint folglich überschritten wurde und sich *S. aureus* bei meinen Experimenten resistent gegenüber den beiden Antibiotika zeigte.

*C. albicans* hingegen liess sich durch keines der getesteten Antibiotika hemmen (vgl. 5.5, Abb. 22; vgl. 13.2.4, Abb. 34). Dies war zu erwarten, denn *C. albicans* ist ein eukaryotischer Mikroorganismus, die getesteten Antibiotika sind jedoch nur gegen Bakterien wirksam. Solche (oralen) Antibiotika dürfen ausnahmslos gegen Prokaryoten wirken, weil sie sonst auch menschlichen Zellen schaden könnten. Ätherische Öle hingegen wiesen sowohl gegen eukaryotische als auch prokaryotische Zellen eine hemmende Wirkung auf. Dies steht auch mit weiteren Studien im Einklang, die zeigen, dass ätherische Öle v. a. die Zellmembran angreifen (Bajpai, et al., 2013) (Lv, et al., 2011). Eine Zellmembran ist bei beiden Zelltypen vorhanden. Sie attackieren primär keine für die Eukaryoten oder Prokaryoten spezifischen Zellstrukturen wie den Zellkern oder die prokaryotische Zellwand und können vielleicht genau deshalb gegen beide Zelltypen wirken. Bei *C. albicans* konnte auch gezeigt werden, dass ätherische Öle die Ergosterolproduktion\* hemmen (Ahmad, et al., 2010). Dies zeigt, dass die breite Wirkung der ätherischen Öle vielleicht auch daher rührt, dass sie verschiedene Wirkmechanismen besitzen.

Es müsste jedoch weiter untersucht werden, ob ätherische Öle wirklich keine hemmende Wirkung auf menschliche Zellen besitzen. Allerdings unterscheidet sich der Aufbau einer Hefepilz- und einer menschlichen Zelle stark, obwohl beides eukaryotische Zellen sind. Zudem beeinträchtigen ätherische Öle die Ergosterol-Synthese bei Hefepilzen, ein Stoff, der bei menschlichen Zellen nicht existiert. Dafür spricht, dass die Wirkung des Grossteils der oral einnehmbaren Antimykotika auf der Beeinträchtigung der Ergosterolproduktion basieren (Heinzl, 2012).

## 6.8 Synergien

Die Kombination Teebaum- und Zimtrindenöl wählte ich nach dem Zufallsprinzip, die anderen beiden aufgrund eigener Recherchen. Laut Hossain et al. (2016) weist die Kombination von Oregano- und Thymianöl eine synergetische Wirkung gegen Schimmelpilze auf und die Kombination von Bestandteilen des Lavendel- und Nelkenöls ist laut Bassolé et al. (2010) synergetisch. Dass diese beiden Kombinationen in meinen Experimenten nicht synergetisch

wirkten, könnte daran liegen, dass ich nicht dieselben Mikroorganismen bzw. Stämme verwendete (bei der Kombination von Oregano- und Thymianöl testete ich keine Schimmelpilze). Ausserdem kannte ich das von ihnen verwendet Verhältnis nicht, so dass ich sie 1:1 mischte. Allerdings sind die Hauptbestandteile der Öle (Carvacrol und Thymol) Isomere und haben eine so ähnliche Struktur, dass ein Antagonismus für mein Dafürhalten unwahrscheinlich ist. Ich gehe davon aus, dass die schlechteren Resultate eher daher rühren, dass ich für die Synergieexperimente aufgrund eines Lieferengpasses einen anderen Filter verwenden musste. Dieser Filter ist nicht primär für hydrophobe Substanzen gedacht. Dies ist wohl auch für die Kombination von Lavendel- und Nelkenöl der Fall.

Allerdings wären noch viele weitere Experimente zu diesem Thema notwendig, um eine fundierte Aussage über Synergien zwischen ätherischen Ölen zu machen.

## 6.9 Literaturvergleich

Ich stellte mit den Werten von Hammer et al. (1999) einen Vergleich an (Tabelle 7). Hammer et al. verwendeten für *C. albicans* denselben Stamm wie ich für ihre Experimente mit einigen Ölen derselben Pflanzenart (mit der Agar- und Mikrodilution).

**Tabelle 8:** Vergleich zwischen den MHK-Werten von Hammer und meinen MHK-Werten, welche ich mit dem Agardilution- (MHK AD) und Mikrodilution-Test (MHK MD) erhielt. „Res“ steht für die Resazurinauswertung. Grün hinterlegte Werte stimmen mit dem Wert von Hammer überein, gelb hinterlegte liegen in einem ähnlichen Bereich, aber rot hinterlegte stimmen überhaupt nicht überein.

Ätherisches Öl	MHK Hammer	MHK AD	MHK MD (Res)
Geranium	0.13	< 1.19	–
Lemongrass	0.06	< 1.19	> 16
Minze (Pfeffer-)	2	4.76	–
Nelke	0.13	< 1.19	0.5, 1
Oregano	0.13	< 1.19	1, 2
Rosmarin	1	4.76	> 16
Salbei	0.5	4.76	16, > 16
Thymian	0.13	< 1.19	–
Teebaum	0.5	< 1.19	–
Zitrone	2	> 4.76	> 16

Weil die tiefste getestete Konzentration für die Agardilution bei 1.19 % liegt, kenne ich den genauen MHK-Wert für die Öle mit < 1.19 % nicht. Hammer hingegen testete viel tiefere Konzentrationen. Deshalb kann keine definitive Aussage darüber gemacht werden, ob meine erhaltenen Werte mit den Werten Hammers übereinstimmen. Eine Übereinstimmung wäre jedoch gut möglich. Deshalb gehe ich davon aus, dass sie mit dem Wert von Hammer übereinstimmen könnten, aber dies lässt sich nicht mit Sicherheit bestätigen.

Abweichungen in einem gewissen Rahmen kommen häufig vor. Auch in der EN ISO 20776-1 wird z. T. ein sehr grosser Bereich angegeben (z.B. von 1 – 8 % oder 8 – 64 %), in dem der gemessene MHK-Wert liegen muss, damit das Experiment als verlässlich gilt. Deshalb sind die leichten Abweichungen, wie sie z. T. auch zwischen zwei meiner Serien vorkommen, völlig normal. Auch in diesem Vergleich gibt es Abweichungen, welche ich noch als akzeptabel einstufe.

Aufgrund der Wachstumsprobleme fehlen Angaben von vier Ölen bei der Mikrodilution für *C. albicans*. Ausserdem sind die Resazurinwerte eher hoch (vgl. 6.6), weshalb die meisten Werte bei der Mikrodilution nicht übereinstimmen.

Die starken Abweichungen liegen vielleicht auch daran, dass die (Auswertungs-)Methoden nicht ganz übereinstimmen oder dass nicht genau dieselben Öle verwendet wurden, was wegen der unterschiedlichen Zusammensetzung eine Rolle spielen kann.

Für meine Experimente verwendete ich für *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* und *S. aureus* die Referenzstämme, wie dies für die Resistenzprüfungen gemäss EN ISO 20776-1 üblich ist. Leider verwendete keine der Studien, die ich gelesen hatte, Referenzstämme (und nur Hammer et al. (1999) benutzten für *C. albicans* denselben Stamm wie ich). Deshalb sind jene Studien nicht gleich aussagekräftig, weshalb ein Literaturvergleich mit ihnen nicht sinnvoll ist. Experimente sind nur dann vergleichbar, wenn derselbe Stamm verwendet wurde, weil die Resistenzmuster verschiedener Stämme derselben Art stark variieren können. Ausserdem müssen die verwendeten Methoden dieselben sein, damit die Studien vergleichbar sind. Studien sind aber auch beim gleichen Stamm und bei ungefähr derselben Methode kaum vergleichbar, weil es keine standardisierten Tests für Resistenzprüfungen mit ätherischen Ölen gibt. Ausserdem sind die Experimente der Studien oft nur schwer reproduzierbar, weil nicht immer alle Angaben zur Experimentdurchführung angegeben sind.

## 6.10 Kontamination

Die Kontamination von *S. aureus* und *E. faecalis* mit *P. aeruginosa* entstand wahrscheinlich bei der Überimpfung, weil ich mehrmals Bakterien von der Platte abkratzen musste, um die benötigte Trübung der Bakterienlösung einzustellen. Vielleicht erfolgte dies versehentlich mit bereits kontaminiertem Material.

Da ich vor Beginn der Laborarbeit eine Methode zur Fehlervermeidung entwickelt hatte, ist die theoretisch mögliche Erklärung, dass ich aus Versehen zwei Mal dieselbe Platte an- bzw. überimpfte, unwahrscheinlich. Eine Kontamination der Originalkultur ist ebenfalls unwahrscheinlich, weil es strenge Qualitätskontrollen gibt und sonst alle Mikroorganismen-Kulturen kontaminiert gewesen wären. Eine Kontamination der Verdünnungslösung ist ebenfalls unwahrscheinlich bzw. unmöglich, weil sonst alle Bakterien mit *P. aeruginosa* kontaminiert gewesen wären. Dass die Agarplatten nicht steril waren, kann mit grosser Wahrscheinlichkeit ebenfalls ausgeschlossen werden, weil ich Sterilkontrollen durchgeführt hatte und es ein grosser Zufall wäre, dass genau *P. aeruginosa* das kontaminierende Bakterium auf der Platte war. Eine Verwechslung der beiden Bakterien ist auch nicht möglich, da ich im Mikroskop eine Mischkultur nachweisen konnte.

## 6.11 Methodenkritik

Ich verwendete eine Vielzahl an Methoden für meine Experimente, weshalb sich die Ergebnisse auch zum Methodenvergleich eignen (vgl. 6.5). Die Resultate differieren je nach Methode mehr oder weniger stark, und für jedes Öl existiert eine optimale Methode, mit der man das tiefstmögliche Resultat erzielen kann. Leichte Abweichungen sind jedoch normal (vgl. 6.9). Auch in den EUCAST Breakpoint-Tabellen steht, dass „sogar unter den besten Bedingungen ein MHK-Wert von 1 (mg/L) als ein Wert zwischen 0.5 und 2 betrachtet werden sollte (EUCAST, 2019).“

Meine Resultate sind im Rahmen der Möglichkeiten einer Maturitätsarbeit zuverlässig. Ich führte drei mögliche Kontrollen durch (Wachstums-, Steril- und Hemmkontrollen) und kontrollierte die Mikroorganismen auch regelmässig mikroskopisch, besonders bei Verdacht auf Kontamination. Dennoch gab es gewisse Unregelmässigkeiten, kein Wachstum oder Fehler wie Kontaminationen. Diese erwähnte ich oben und sie sind bei der Betrachtung dieser Resultate zu berücksichtigen.

Der Umfang der Laborarbeiten war enorm und nur unter grossem Zeitdruck in den mir zur Verfügung stehenden zwei Wochen im Labor der ZHAW durchzuführen. Obwohl ich jeweils frühmorgens bis spätabends im Labor arbeitete, schloss das kurze Zeitfenster leider eine Optimierung der Methoden und einen Zeitpuffer zur Wiederholung mehrerer Experimente bei Schwierigkeiten aus.

Dennoch bin ich mit den Resultaten meiner Arbeit sehr zufrieden. Der Leitspruch der mikrobiologischen Forschung ist, nie aufzugeben, denn bei mikrobiologischen Experimenten ist es normal, diese jahrelang wiederholen zu müssen, bis man Resultate mit wissenschaftlichem Befund erzielt. Ich bin deshalb sehr froh, dass ich bereits bei meinen ersten Experimenten eine z. T. hervorragende hemmende Wirkung feststellen konnte. Zudem ist, besonders, weil man mit Lebewesen arbeitet, immer mit einer gewissen Unberechenbarkeit und Unsicherheit zu rechnen. Sich nie entmutigen zu lassen und die Experimente zu wiederholen, ist folglich sehr wichtig.

Obwohl ich mit dem Disk-Diffusion-Test die schlechtesten Resultate erzielte, hat die Methode an sich kein grosses Verbesserungspotential. Falls die schlechteren Resultate wirklich an der Diffusion liegen, empfehle ich, noch weitere Emulgatoren zu testen. Dafür würden aber noch weitere Vorexperimente benötigt. Da der Disk-Diffusion-Test aber die aufwändigste Methode war und die komplizierteste Auswertung benötigt, würde ich sie nicht wiederholen.

Die Agardilutions-Methode könnte man verbessern, indem man eine homogenere Mischung der Öle mit dem Agar herstellt. Die Technik mit den Achterbewegungen führte, besonders bei den farbigen Ölen, oft nur zu Tröpfchen. Man könnte das Öl separat mit einem Vortexmischer in den Agar mischen, allerdings ist die Bildung von Luftbläschen kaum zu vermeiden. Dies wäre nicht optimal, weil die Konzentrationen somit nicht mehr stimmen würden.

Beim Mikrodilution-Test konnte ich das Problem der Auswertung von farbigen Ölen durch die Resazurinmethode ein Stück weit beheben. Allerdings müsste die Auswertungsmethode mit Resazurin auf diese Anwendung geprüft werden. Da Resazurin ein Redoxindikator ist, kann es sein, dass Öle auch an der Redoxreaktion teilnehmen und die Auswertung davon beeinflusst werden kann. Allerdings stimmten (wenn vorhanden) die OD-Messungen mit den Resazurinauswertungen mehr oder weniger überein, weshalb dies eher unwahrscheinlich ist.

Beim Mikrodilution-Test wäre zudem wichtig, eine Methode zu finden, um die Öle länger im emulgierten Zustand zu belassen. Vielleicht wären die Resultate dann genauer. Es bedarf jedoch noch weiterer Vorexperimente, um diese Fragen zu klären.

Die Mikrodilution-Methode ist sehr zeitsparend, weil sie in gleicher Zeit mehr Wiederholungen und Varianten eines Experiments ermöglicht, bedarf aber Übung, besonders wegen der speziellen Geräte. Deshalb kam es bei ihr, auch aufgrund der zeitlichen Einschränkungen, am häufigsten zu Komplikationen.

Wenn ich die Experimente wiederholen und die oben genannten Fragen klären könnte, würde ich mich vor allem auf den Mikrodilution-Test stützen, weil die ätherischen Öle mit dieser Methode die beste Wirkung aufwiesen, der Test eine einfachere Auswertung ermöglicht und zudem zeitsparend ist. Zum Vergleich würde ich die Experimente jedoch auch mit dem Agardilution-Test als zweite Methode durchführen.

## 7 Anwendung ätherischer Öle als antibiotisch wirksame Substanzen

### 7.1 Vorteile, Einschränkungen und Herausforderungen

Mögliche praktische antibakterielle Anwendungen von ätherischen Ölen wurden in verschiedenen Studien schon erforscht, jedoch sind noch viel mehr anwendungsspezifische Studien, besonders zur Einnahme, nötig.

Einzelne ätherische Öle zeigen grundsätzlich grosses Potenzial, herkömmliche Desinfektionsmittel und Antibiotika in gewissen Bereichen zu ergänzen oder sogar zu ersetzen, sofern eine Anwendung/Einnahme unbedenklich ist. Ausserdem priorisieren viele Menschen in der heutigen Zeit Naturstoffe und versuchen, synthetische Substanzen zu vermeiden, weil diese oft mit gesundheitsschädigenden Stoffen in Verbindung gebracht werden. Ein Beispiel dafür wäre die für gewisse Anwendungen verbotene antimikrobielle Substanz Triclosan, welche Allergien auslösen, das Hormonsystem schädigen und im schlimmsten Fall sogar krebserregend wirken kann (Wikipedia, 2019). Zudem gerieten Antibiotika in Verruf, weil sie sowohl pathogene als auch harmlose Bakterien töten und dadurch unsere Mikrobiome\* zerstören. Dazu muss aber bedacht werden, dass ätherische Öle trotz ihres natürlichen Ursprungs nicht nur pathogene Bakterien abtöten. Im Rahmen meiner Arbeit konnte ich feststellen, dass je harmloser das Bakterium ist, desto besser ist seine Hemmung mit Ölen. Bei der weiteren Forschung müsste folglich ein spezielles Augenmerk auf den Schutz und eventuellen Wiederaufbau (mit Probiotika\*) der Mikrobiome gelegt werden.

Ein weiterer Vorteil ätherischer Öle ist, dass sie sowohl gegen pro- als auch eukaryotische Pathogene eingesetzt werden können. Sie zeigen auch gegen resistente Bakterien Wirkung, was in Anbetracht einer drohenden Post-Antibiotika-Ära äusserst wichtig ist.

Allerdings hängt die Wirksamkeit ätherischer Öle vom verwendeten Mikroorganismus ab (Chouhan, et al., 2017). Obwohl es ätherische Öle mit einer gewissen „Breitbandwirkung“ gibt, denke ich, dass in den meisten Fällen eine Analyse des Bakteriums notwendig wäre, um die optimale Dosierung einzustellen und bestmögliche Therapieresultate zu erzielen. Dies wäre jedoch sehr aufwändig.

Ätherische Öle sind zudem laut Chouhan et al. (2017) „empfindlich auf Sauerstoff, Licht, Feuchtigkeit und Hitze.“ Ihrer Instabilität kann jedoch mit Mikroverkapselung entgegenge wirkt werden (Soltani, et al., 2015), wodurch sich wohl auch ihre Wirksamkeit erhöht. Bei der Mikroverkapselung werden kleinste Öltröpfchen „von einer Polymerschale umschlossen und stabilisiert“ (Last, o. J.). Sie werden dann wieder kontrolliert freigesetzt (z.B. durch mechanische Einflüsse oder bei Änderung des pH-Wertes oder der Temperatur). Die Mikroverkapselung wird schon länger von der Waschmittelindustrie eingesetzt, um einen langanhaltenden Frischduft zu gewährleisten. (Last, o. J.)

Die Zerfalls- und Oxidationsprodukte, besonders von Teebaum- und Sandelholzöl, können zu allergischen Reaktionen führen. Zudem wird schwangeren und stillenden Frauen sowie Asthmatikern stark von der Einnahme von ätherischen Ölen abgeraten. Auch für Kleinkinder gibt es nur eine kleine Liste von unbedenklichen Ölen auf [www.smpg.ch](http://www.smpg.ch). Vor einer oralen Einnahme sollte zudem immer ein(e) Aromatherapeut(in) konsultiert werden. (Frei, 2018)

Um allergische Reaktionen oder die Aufnahme von unerwünschten Stoffen wie Pestiziden zu vermeiden, ist es zudem unerlässlich, bei einer Anwendung im oder am Körper qualitativ



hochwertige und natürliche Öle aus biologischem Anbau zu verwenden (Frei, 2018). Diese sind jedoch oft sehr teuer.

Zudem hegen viele Menschen Vorurteile gegen alternative Methoden (zu denen auch Behandlungen mit ätherischen Ölen gehören), weil sie meist nicht naturwissenschaftlich belegbar sind, und schenken diesen oft kaum Glauben. Bevor ätherische Öle als antibiotisch wirksame Substanzen auch in breiteren Schichten Anklang finden könnten, müsste ein Umdenken stattfinden. Die Anwendung ätherischer Öle ist sicherlich sinnvoll, weil ihre Wirkung wissenschaftlich belegbar ist.

## 7.2 Mögliche Einsatzgebiete

### 7.2.1 Nahrungsmittelindustrie

Ätherische Öle haben in der Nahrungsmittelindustrie ein grosses Potential bei der Verhinderung von Schimmelbefall (Stevic, et al., 2014) und der Minimierung bzw. Verhinderung der Verbreitung von Lebensmittelpathogenen (Hyldgaard, et al., 2012). Zudem könnten damit Nahrungsmittelabfälle minimiert werden, weil die Lebensmittel weniger schnell verderben (NanoPack, 2019).

Eine Anwendung direkt in oder auf den Lebensmitteln ist nicht optimal, weil die ätherischen Öle z. T. mit Makronährstoffen wie Fett, Proteinen und Stärke negativ interagieren können, weshalb viel höhere Konzentrationen notwendig wären (Cava-Roda, et al., 2010) (Rattanchaikunsopon, et al., 2010) (Gutierrez, et al., 2008) (Cerrutti, et al., 1996) (Kyung, 2012). Zudem wären der Geruch resp. der Geschmack zu aufdringlich (Lv, et al., 2011).

Ätherische Öle sollten viel eher in der Verpackung zum Einsatz kommen. Die Forscher des NanoPack-Projekts haben eine neue Verpackung entwickelt, bei der Nanoröhrchen aus dem Mineral Hallyosit in Plastikfilme verteilt und fixiert werden. Diese Röhrchen sind mit ätherischen Ölen gefüllt, die langsam freigesetzt werden und ihre antimikrobielle Wirkung im Verpackungsraum entfalten können. (NanoPack, 2019)

Eine weitere Möglichkeit wäre, Lebensmittel mit biologisch abbaubaren Filmen aus Chitosan einzupacken. Chitosan ist ein Biopolymer, in das ätherische Öle dispergiert werden können. So kann man z. B. Schimmelbefall hinauszögern oder sogar verhindern. (Pelissari, et al., 2009) (Perdones, et al., 2012).

### 7.2.2 Pflegemittel

Ätherische Öle könnten vermehrt im Alltag in Deos, Seifen, Handdesinfektionsmitteln und Putzmitteln zum Einsatz kommen. Ein gutes Beispiel ist z. B. „Undex Spray fresh PLUS“, ein handelsübliches Fuss spray von Melisana, das sowohl bakterizid als auch fungizid wirkt. Es beinhaltet auch Bestandteile von ätherischen Ölen, darunter Linaool, Limonene, Geraniol und Eugenol (Abb. 25).

Weitere Anwendungsmöglichkeiten wären Putzmittel zum Abtöten von Bakterien auf privaten und öffentlichen Toiletten – der angenehme Geruch von ätherischen Ölen wäre ein positiver Nebeneffekt – oder in Spitälern als Desinfektionsmittel. Dies war z. B. schon in einem Spital in Iseo (Italien) der Fall, wo laut Frei (2018) das Wachstum von Bakterien, Hefen und Pilzen auf Tischen und anderen Oberflächen um circa 90 % verringert werden konnte. Dadurch mussten weniger Antibiotika und Medikamente für die Lungen verabreicht werden.



**Abb. 25:** Undex Spray fresh PLUS

### 7.2.3 Antibiotika und Antimykotika

Studien über die Einnahme von ätherischen Ölen als Antibiotika oder Antimykotika sind mir nicht bekannt. Ich habe jedoch auf Amazon Oreganoölkapseln gesehen (Abb. 26). Ob diese jedoch sicher sind und wirklich im Körper antibiotisch wirken, ist unklar. Ich gehe davon aus, dass die Wirkung nicht gleich stark wie jene von herkömmliche Antibiotika ist, weil die Aufnahme in die Blutbahn und die Verteilung im Körper wegen der Hydrophobie erschwert ist. Ausserdem rechne ich damit, dass sich ätherische Öle aufgrund ihrer Instabilität schnell verändern oder abgebaut werden, was vielleicht ungewünschte Nebeneffekte zur Folge haben könnte und was sicherlich einer hohen Wirksamkeit im Wege steht. Dadurch wird eine genaue Dosierung erschwert. Diese darf aber auch nicht zu hoch sein, weil die Öle sonst empfindliches Gewebe reizen könnten. Doch dies sind nur Mutmassungen, deren Klärung weiterer Forschung bedarf.

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit von ätherischen Ölen sehe ich als Beigabe zu herkömmlichen Antibiotika. Sie können mit diesen synergetisch wirken und bei resistenten Bakterien Resistenzmechanismen inaktivieren (Lorenzi, et al., 2009) (Palaniappan, et al., 2010) (Zhang, et al., 2011) (Rosato, et al., 2010) (D'Arrigo, et al., 2010). Doch auch hier könnten sich die oben genannten Schwierigkeiten stellen.

### 7.2.4 Weitere medizinische Anwendungen

Zudem bieten sich laut Frei (2018) noch viele weitere Anwendungsmöglichkeiten in vivo an:

- Lotionen mit ätherischen Ölen bei Hautinfektionen. Solche können auch bei der Wundheilung eingesetzt werden (Fotinos-Graf, 2014).
- Inhalationen mit ätherischen Ölen bei Atemwegserkrankungen wie Erkältungen oder Husten. Nasobol, Brausetabletten zur Inhalation von Sanofi, beinhalten Rosmarin- und Thymianöl und Bestandteile von Eukalyptus- und Minzenöl.
- Mundspülungen mit ätherischen Ölen bei Zahnfleischentzündungen.
- Vaginalzäpfchen mit ätherischen Ölen bei Vaginosen. (Ich denke aber, dass es hier sehr wichtig wäre, nach einer solchen Behandlung Probiotika zu verabreichen, um eine gesunde Flora wiederherzustellen.)
- Sitzbäder mit ätherischen Ölen bei Harnwegsinfektionen. Diese Bäder konnten auch bei Infektionen mit resistenten Bakterien Erfolge verzeichnen.

Ätherische Öle könnten folglich in vielseitigen Anwendungen ihre antibakterielle oder antimykotische Wirkung entfalten. Hierbei gehe ich jedoch davon aus, dass man bessere Erfolge verzeichnen kann, wenn die Öle in direktem Kontakt mit der kontaminierten bzw. infizierten Stelle sind (vgl. 6.5). Die antibakterielle Wirkung ätherischer Öle ist definitiv ein vielversprechendes Gebiet und es lohnt sich auf jeden Fall, in diese Richtung weiter zu forschen!



**Abb. 26:** Oreganoölkapseln.



**Abb. 27:** Das Arzneimittel Nasobol zur Inhalation gegen Atemwegserkrankungen.

## 8 Danksagung

Ich danke zuallererst ganz herzlich meinem Betreuer, Herrn Thomas Hauser, der mir immer sehr geduldig und verständnisvoll mit wertvollen Ratschlägen zur Seite stand. Er hat mich auch gelehrt, mich wissenschaftlich und präzise auszudrücken, was mir sicherlich auch bei zukünftigen Arbeiten helfen wird.

Einen ganz besonderen Dank möchte ich auch an Herrn Dr. Gottfried Dasen und an die ZHAW in Wädenswil richten. Die ZHAW hat mir während mehr als zwei Wochen die Labore zur Verfügung gestellt und grosszügigerweise alle anfallenden Kosten übernommen.

Herr Dr. Dasen hat mich in die Arbeit im Labor eingeführt und mir die verschiedenen Methoden vorgestellt. Er war sehr geduldig und hilfsbereit und ich konnte mich bei Problemen immer an ihn wenden. Ausserdem stellte er mir als Inhaber der Culture Collection of Switzerland alle Mikroorganismen kostenlos zur Verfügung.

Auch wenn die Arbeit im Labor sehr anstrengend war, war sie eine unglaublich spannende Erfahrung. Ich konnte einen tollen Einblick in die mikrobiologische Forschung erlangen, was meine Freude an den Naturwissenschaften noch mehr stärkte.

Ich möchte mich ausserdem vielmals bei Herrn Richard Illi von Essencia bedanken, der mir kostenlos alle ätherischen Öle zur Verfügung gestellt hat. Er war immer sehr hilfsbereit und flexibel und brachte mir z. T. noch am gleichen Tag neue Öle, als sie mir ausgingen!

Ausserdem möchte ich Alessandra Rossetti herzlich danken, einer Kollegin aus dem Wing-Tsun-Training, die in der ZHAW die Ausbildung zur Biotechnologielaborantin absolviert. Sie vermittelte mir den Kontakt zur ZHAW und zu Herrn Dr. Dasen und ermöglichte somit meine praktische Arbeit.

Zudem bedanke ich mich bei meinen Eltern, welche mich beide sowohl emotional in dieser hektischen Zeit als auch bei der Korrekturlesung unterstützt haben. Zudem wäre ich ohne meine Mutter wohl gar nie auf dieses Thema gestossen, denn sie war es, welche mir den Artikel von Frei (2018) in der Zürichsee-Zeitung zum Lesen gab.

Zu guter Letzt möchte ich auch Nadia Hofmann, einer Schulfreundin, danken, welche mir ihr iPad zur Verfügung gestellt hat, auf dem ich die Abbildungen zeichnen konnte.

Ich bin so vielen netten Menschen bei meiner Arbeit begegnet und bin allen für ihren Beitrag unendlich dankbar!

## 9 Glossar

### Beimpfen

Beim Beimpfen, auch Inokkulation genannt, fügt man einer Platte die Mikroorganismen zu.

### Biologische Schutzstufe

Die biologische Schutzstufe (kurz BSL, engl. biosafety level) ist die Gefährlichkeitseinstufung von Mikroorganismen und anderen biologischen Stoffen. Die Mikroorganismen werden in vier Risikogruppen eingestuft. Je höher die Risikogruppe ist, desto gefährlicher ist der Mikroorganismus (Tabelle 8).

**Tabelle 9:** Übersichtstabelle über die Einstufung von Mikroorganismen in die vier Risikogruppen. Folgende Kriterien spielen eine Rolle: Verursacht der Mikroorganismus eine Krankheit und stellt er eine Gefahr dar für den Betroffenen (Krankheit/Gefahr)? Besteht die Gefahr einer Verbreitung in der Bevölkerung (Verbreitung)? Ist eine Vorbeugung oder Behandlung möglich (Vorbeugung/ Behandlung)? (Bundesministerium für Justiz und für Verbraucherschutz)

Risikogruppe	Krankheit/Gefahr	Verbreitung	Vorbeugung / Behandlung
RG 1	Unwahrscheinlich	Keine	Nicht nötig
RG 2	Möglich	Unwahrscheinlich	Normalerweise möglich
RG 3	Gut möglich	Gefahr besteht	Normalerweise möglich
RG 4	Höchstwahrscheinlich	Grosse Gefahr	Nicht möglich

### Breakpoint

siehe EUCAST

### Ergosterol

„Ergosterol ist Bestandteil der Membranen niederer Eukaryoten wie vieler Hefen und Pilze. Dort übernimmt es Funktionen, die das Cholesterol bei Tieren erfüllt (Stabilisierung der Zellmembran (Purucker, 2010)). Die meisten Wirkstoffe, die gegen von Hefen und Pilzen verursachte Erkrankungen von Menschen (Antimykotika), aber auch im Pflanzenschutz (Fungizide) eingesetzt werden, beruhen auf der selektiven Störung der Ergosterol-Biosynthese.“ (Kolter, et al., 2007)

### EUCAST

EUCAST steht für „European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing“, Englisch für „Europäisches Komitee für das Testen antimikrobieller Empfindlichkeit“. Auf ihrer Website befindet sich u. a. das Dokument „Breakpoints for interpretation of MICs and zone diameters“ (dt. „Grenzkonzentrationen für die Interpretation von MHK-Werten und Hemmhofdurchmesser“). Dort sind gängige Antibiotika und Desinfektionsmittel mit dem entsprechende MHK-Wert sowie dem Hemmhofdurchmesser, nach Bakteriengattung aufgeteilt, aufgelistet. Bei oder über/unter diesem (Hemmhofdurchmesser oder MHK-Wert) ist ein Bakterium dieser Gattung als empfindlich oder resistent einzustufen. (EUCAST, 2019)

Beim Vergleich der MHK-Breakpoints mit den Toleranzbereichen der EN-ISO 20776-1 können die Resistenzen der einzelnen Stämme bestimmt werden. Beispielsweise liegt der Toleranzbereich der MHK-Werte auf der ISO-Norm für Oritavancin für *S. aureus* zwischen 0.5 und 2 mg/L. Der Breakpoint liegt laut EUCAST bei 0.125 mg/L, d.h. wenn der MHK-Wert  $\leq 0.125$  mg/L ist,

gilt der Stamm dieser Staphylokokkenart als empfindlich; darüber ist er als resistent einzustufen. Deshalb ist dieser *S. aureus*-Stamm resistent gegen Oritavancin.

Bei den Hemmhofdurchmessern verhält es sich genau anders herum: Wenn der gemessene Hemmhof über dem Breakpoint liegt, gilt der Mikroorganismus als empfindlich. Liegt der gemessene Hemmhof darunter, ist er als resistent einzustufen.

### **Inkubation/inkubieren**

Die Platten mit den Mikroorganismen werden in einem Inkubationsschrank/Inkubator bei konstanter Temperatur über mehrere Stunden gelagert und gewärmt (inkubiert), um ein optimales Wachstum der Bakterien auf den Platten zu ermöglichen.

### **ISO-Norm (EN-ISO 20776-1)**

Die EN-ISO 20776-1 ist die Europäische Norm für Empfindlichkeitsprüfungen von Infektionserregern und umfasst u. a. die Beschreibung der Referenzmethode (Mikrodilution) zum Durchführen von Tests zur Wirkung antimikrobieller Substanzen gegen schnell wachsende aerobe pathogene Bakterien (Schweizerische Normen-Vereinigung, 2007). Ein Experiment ist nur dann wirklich verlässlich, wenn seine Durchführung standardisierte Bedingungen erfüllt, was v. a. für klinische Studien unerlässlich ist. Deshalb beschreibt die Norm z. B. auch, mit welchen Mitteln die Antibiotika zu lösen und zu verdünnen sind.

Für klinisch relevante Studien wird zudem eine Qualitätskontrolle mit Referenzstämmen durchgeführt. Man führt dieselben Experimente mit vorgegebenen Bakterienstämmen durch, deren Resistenzen genau in der Norm erfasst sind. Die erhaltenen MHK-Werte vergleicht man mit dem Toleranzbereich, in welchem der Testwert laut ISO-Norm liegen muss, damit der Test als verlässlich gilt.

### **Minimale Hemmstoffkonzentration (MHK)**

Die minimale Hemmstoffkonzentration (kurz MHK) ist die tiefste Konzentration eines Hemmstoffes, bei welcher das Wachstum von Mikroorganismen gehemmt wird. Der englische Begriff ist minimum inhibitory concentration (MIC).

### **Mikrobiom**

„Ein Mikrobiom ist eine Gruppe von symbiotischen, kommensalen und pathogenen Mikroorganismen, die einen Makroorganismus (Mensch, Tier, Pflanze) besiedeln. Mikrobiome können u. a. das Immunsystem, den Stoffwechsel und das Hormonsystem ihres Wirtes beeinflussen.“ Im Menschen existiert beispielsweise das Darm-, Nasen-, Haut- oder Vaginalmikrobiom. (Antwerpes, et al., 2019)

### **Nährmedium**

Ein Nährmedium ist eine sterilisierte Mischung aus verschiedenen Zusatzstoffen, welche bei mikrobiologischen Experimenten das optimale Wachstum der gewünschten Mikroorganismen ermöglicht. Man unterscheidet zwischen flüssigen Nährmedien, auch Bouillons genannt, welche für Bakterienlösungen verwendet werden, und festen Nährmedien, welche zu Platten gegossen werden. (Antwerpes, 2019)

Die Nährmedien setzen sich meist aus Wasser, Nährstoffen und Mineralien zusammen. Zudem können sie Wachstumshilfsstoffe (z. B. Vitamine), Biomaterialien (z. B. Blut) und bei festen Medien auch Agar-Agar, welcher das Nährmedium verdickt, enthalten. (Antwerpes, 2019)

Für meine Experimente habe ich als Nährmedium die Mueller-Hinton-Bouillon verwendet, welche häufig für Antibiotika-Tests eingesetzt wird. Diese besteht aus 2 g Rinder-Infus, 1.5 g Maisstärke und 17.5 g Pepton aus Casein (pro Liter Nährmedium). (Carl Roth GmbH, 2017)

### Opportunistischer Erreger

Ein opportunistischer Erreger führt meist nur bei angeschlagenen und nur sehr selten bei gesunden Menschen zu Infektionen (Konemann, 2003).

### Optische Dichte

siehe Photometer

### Photometer

Ein Photometer misst die optische Dichte, auch Extinktion genannt, indem er die Bakterienlösung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge bestrahlt und die Intensität des austretenden Lichts misst. Für die Bestimmung der Zellzahl beträgt die Wellenlänge 600 nm (= OD(600)). Die optische Dichte ist der Logarithmus des Verhältnisses zwischen der Intensität des einfallenden ( $I_0$ ) und des austretenden Lichts ( $I$ ). (Freudig, 1999)

$$OD = \log_{10}(I_0 / I)$$

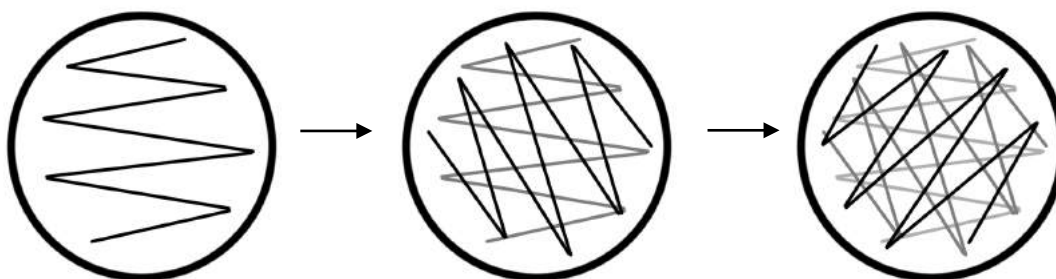
Je grösser die OD, desto höher die Zellzahl in der Lösung, weil mehr Licht durch die Zellen absorbiert wird und die Intensität des austretenden Lichtes folglich kleiner ist.

### Probiotika

Probiotika sind gutartige, meist lebendige Mikroorganismen (v. a. Bakterien). Diese kann man als Nahrungsergänzungsmittel oder Medikamente zu sich nehmen, um ein gestörtes Mikrobiom wieder ins Gleichgewicht zu bringen, indem das Wachstum der gutartigen Bakterien gefördert wird und somit pathogene Mikroorganismen verdrängt werden. Probiotika werden oft nach einer Durchfallerkrankung oder nach einer Antibiotikabehandlung eingesetzt. (PharmaWiki, 2018)

### Rasen

Der Rasenausstrich ist eine Beimpfungsmethode. Dabei streicht man mit einem Wattestäbchen die Bakterienlösung zu einer möglichst lückenlosen Bakterenschicht auf der Agarplatte aus. Man streicht die Bakterien dreimal aus, wobei jedes Mal das Wattestäbchen neu in die Bakterienlösung getunkt und die Ausstrichrichtung um 60° gedreht wird (Abb. 27).



**Abb. 28:** Schematische Darstellung eines Rasenausstrichs in drei Schritten. Nach jedem Ausstrich wird die Ausstrich-Richtung um 60° gedreht. Aus darstellungstechnischen Gründen wurde auf eine komplette Lückenlosigkeit des Rasenausstrichs verzichtet, bei einem richtigen Ausstrich müssten eigentlich keine Leerflächen mehr sichtbar sein.

### Resazurin

Resazurin ist ein Redoxindikator und zeigt folglich die Stoffwechselaktivität einer Zelle an, weil die allermeisten metabolischen Prozesse Redoxreaktionen sind. Durch die Stoffwechselaktivität ist es auch möglich, auf die Zellviabilität (Zelllebensfähigkeit oder Lebendzellanteil) der Zellen einer Kolonie zuzuschließen. (Wikipedia, 2019)

Resazurin ist blau, wird jedoch bei metabolischer Aktivität irreversibel zum pinken Resorufin reduziert. Dieses wiederum kann sich reversibel in das farblose Dihydroresorufin verwandeln. (Abb. 28) (Wikipedia, 2019)



**Abb. 29:** Resazurin, Resorufin und Dihydroresorufin. Der blaue Redoxindikator Resazurin wird bei metabolisch aktiven Zellen irreversibel zum pinken Resorufin reduziert, wodurch auch auf die Zellviabilität geschlossen werden kann. Resorufin kann reversibel zum farblosen Dihydroresorufin reduziert werden.

### Sterilfiltration

Bei der Sterilfiltration werden Lösungen von Mikroorganismen gereinigt. Der Sterilfilter besitzt Poren von meist 0.2  $\mu\text{m}$  Durchmesser, welche genügend gross sind, um die chemischen Stoffe der Lösung passieren zu lassen, aber klein genug, um die Mikroorganismen herauszufiltrieren zu können.

### Überimpfen

Beim Überimpfen überträgt man die Mikroorganismen von einer älteren Mikroorganismenplatte (z.B. Ursprungsplatte mit Originalstamm) mit einer Impföse auf eine neue Platte, um von dieser neuen Platte sehr aktive Mikroorganismen für das Beimpfen von Experimentplatten zu erhalten. Damit man (nach der Inkubation der Platte) einzelne Kolonien erhält, streicht man im rechten Winkel mit einer neuen Impföse durch einen Teil der schon ausgestrichenen Bakterien und streicht mit der Impföse noch zweimal das in der Impföse angesammelte Mikroorganismenmaterial auf der Platte aus. Diesen Schritt wiederholt man. Am Schluss streicht man mit der Impföse noch so oft die Mikroorganismen aus, wie der Platz es erlaubt. (Abb. 29)



**Abb. 30:** Schematische Darstellung des Überimpfungsprozesses in drei Schritten. Ziel ist es, beim Übertragen der Mikroorganismen auf der neuen Platte einzelne Kolonien zu erhalten. Deshalb streicht man jeweils mit neuen Impfösen einen Teil der schon ausgestrichenen Mikroorganismen nochmals neu aus und verteilt diese noch so oft, wie es der Platz auf der Agarplatte erlaubt.

## 10 Literaturverzeichnis

- aerzteblatt.de. 2014.** *Resistenzen: WHO warnt vor Post-Antibiotika-Ära*  
[www.aerzteblatt.de/nachrichten/58507/Resistenzen-WHO-warnt-vor-Post-Antibiotika-Aera](http://www.aerzteblatt.de/nachrichten/58507/Resistenzen-WHO-warnt-vor-Post-Antibiotika-Aera)  
(Zugriff: 6.. Juli 2019)
- Ahmad, A., et al. 2010.** *Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against Candida.* European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 30/2010, S. 41-50.
- Antwerpes, F. 2019.** *Nährmedium.* flexikon.doccheck.com/de/Nährmedium (Zugriff: 23. November 2019)
- Antwerpes, F., et al. 2015.** *Reserveantibiotikum.*  
flexikon.doccheck.com/de/Reserveantibiotikum (Zugriff: 24. Oktober 2019)
- Antwerpes, F., et al. 2016.** *Biofilm.*  
flexikon.doccheck.com/de/Biofilm?utm\_source=www.doccheck.flexikon&utm\_medium=web&utm\_campaign=DC%2BSearch (Zugriff: 22. November 2019)
- Antwerpes, F., et al. 2019.** *Mikrobiom.* flexikon.doccheck.com/de/Mikrobiom (Zugriff: 23. November 2019)
- Aumeeruddy-Elalfi, Z., et. al. 2015.** *Antimicrobial, antibiotic potentiating activity and phytochemical profile of essential oils from exotic and endemic medicinal plants of Mauritius.* Industrial Crops and Products, 71/2015, S. 197-204.
- Azhdarzadeh, F. und Hojjati, M. 2015.** *Chemical composition an antimicrobial activity of leaf, ripe and unripe peel of bitter orange (Citrus aurantium) essential oils.* Nutrition and Food Sciences Research, 3/2015, S. 43-50.
- Bajpai, V.K., et al. 2013.** *Antibacterial mode of action of Cudrania tricuspidata fruit essential oil, affecting membrane permeability and surface characteristics of food borne pathogens.* Food Control, 32/2013, S. 582-590.
- Bassolé, I.H.N., et al. 2010.** *Composition and antimicrobial activities of Lippia multiflora Moldenke, Mentha piperita L. and Ocimum basilicum L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination.* Molecules, 15/2010.
- Bhuiyan, N. I., et al. 2010.** *Constituents of the essential oil from leaves and buds of clove (Syzigium caryophyllatum (L.) Alston).* African Journal of Plant Science, 4/2010, S. 451-454.
- Brown, S., et al. 2014.** *Wall Teichoic Acids of Gram-Positive Bacteria.*  
[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3883102/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3883102/) (Zugriff: 14. Juli 2019).
- Bundesministerium für Justiz und für Verbraucherschutz.** *Verordnung über Sicherheit und Gesundheitsschutz bei Tätigen mit Biologischen Arbeitsstoffen (Biostoffverordnung – BioStoffV) § 3 Einstufung von Biostoffen in Risikogruppen.* [www.gesetze-im-internet.de/biostoffv\\_2013/\\_\\_3.html](http://www.gesetze-im-internet.de/biostoffv_2013/__3.html) (Zugriff: 22. November 2019)
- Caballero, B., et al. 2003.** *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition.* Academic Press, 2003.
- Carl Roth GmbH. 2017.** *Produkt-Datenblatt Mueller-Hinton-Bouillon*  
[www.carlroth.com/downloads/ba/en/X/BA\\_X927\\_EN.pdf](http://www.carlroth.com/downloads/ba/en/X/BA_X927_EN.pdf) (Zugriff: 23. November 2019)
- Cava-Roda, R. M., et al. 2010.** *Antimicrobial Activity of Vanillin and Mixtures with Cinnamon and Clove Essential Oils in Controlling Listeria monocytogenes and Escherichia coli O157:H7 in Milk.* Food and Bioprocess Technology, 5/2012, S. 2120-2131.
- Cerrutti, P. und Alzamora, S. M. 1996.** *Inhibitory effects of vanillin on some food spoilage yeasts in laboratory media and fruit purées.* International Journal of Food Microbiology, 29/1996, S. 379-386.



- Chouhan, S., et al. 2017.** *Antimicrobial Activity of Some Essential Oils - Present Status and Future Perspectives.* medicines, 4/2017, S. 58 ff.
- Cox, S.D., et al. 2000.** *The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil).* Journal of Applied Microbiology, 88/2000, S. 170-175.
- Cui, H., et al. 2015.** *Antimicrobial activity and mechanisms of Salvia sclarea essential oil.* Botanical Studies, 56/2015.
- Dantas, G. und Sommer, M. O.A. 2015.** *Die vielen Wege zur Antibiotikaresistenz.* Spektrum der Wissenschaft. März 2015.
- D'Arrigo, M., et al. 2010.** *Synergism and post antibiotic effect of tobramycin and Melaleuca alternifolia (tea tree) oil against Staphylococcus aureus and Escherichia coli.* Phytomedicin, 17/2010, S. 317-322.
- Deans, S.G. und Ritchie, G. 1987.** *Antibacterial properties of plant essential oils.* International Journal of Food Microbiology, 5/1987, S. 165-180.
- Dorman, H.J.D. und Deans, S.G. 2000.** *Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils.* Journal of Applied Microbiology, 88/2000, S. 308-316.
- EUCAST. 2019.** *Breakpoint Tables for interpretation of MICs and zone diameters.* www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\_files/Breakpoint\_tables/v\_9.0\_Breakpoint\_Tables.pdf (Zugriff: 23. November 2019)
- Fischer, L. 2015.** *Warum gibt es so wenig neue Antibiotika?* scilogs.spektrum.de/fischblog/warum-gibt-es-so-wenig-neue-antibiotika/ (Zugriff: 20. Oktober 2019)
- Fotinos-Graf, K. 2014.** *Ätherische Öle in der Wundheilung und Entwicklung geeigneter Rezepturen.* www.smgp.ch/smgp/homeindex/faehigkeitsprogf/zertifikatsarbeiten/Fotinos-GrafKaroline.pdf (Zugriff: 15. Oktober 2019)
- Frei, M. 2018.** *Mit Düften heilen.* Zürichsee-Zeitung. 24. Dezember 2018., S. 9
- Freudig, D. 1999.** *Extinktion.* www.spektrum.de/lexikon/biologie/extinktion/23363 (Zugriff: 23. November 2019)
- Gänzle, M. 2004.** *Escherichia coli.* roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-05-01711 (Zugriff: 9. Juli 2019)
- **2004.** *Pseudomonas aeruginosa.* roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-16-04791 (Zugriff: 9. Juli 2019)
- Gänzle, M. und Lange, S. 2006.** *Candida.* roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-03-00289 (Zugriff: 20. August 2019)
- Gutierrez, J., et al. 2008.** *The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients.* International Journal of Food Microbiology, 124/2008, S. 91-97.
- Hammer, K.A., et al. 1999.** *Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts.* Journal of Applied Microbiology, 86/1999, S. 985-990.
- Harkenthal, M., et al. 1999.** *Comparative study on the in vitro antibacterial activity of Australian tea tree oil, cajuput oil, niaouli oil, manuko oil, kanuka oil, and eucalyptus oil.* Europe PMC, 54/1999, S. 460-463.
- Hartmann-Schreier, J. 2003.** *Aromatherapie.* roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-01-03290 (Zugriff: 3. September 2019)
- **2007.** *Ätherische Öle.* roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-01-04781 (Zugriff: 9. Juli 2019)
- Heinzl, S. 2012.** *Lebensrettende Arzneistoffe.* www.pharmazeutische-zeitung.de/ausgabe-392012/lebensrettende-arzneistoffe/ (Zugriff: 19. November 2019)

- Henn-Sax, M. o.J.** *Wachstum von Bakterien*. [www.abiweb.de/biologie-molekularbiologie/hessen-gen/dna-grundlage-der-vererbung/genexpressio/bakteriengen/wachstum-bak.html](http://www.abiweb.de/biologie-molekularbiologie/hessen-gen/dna-grundlage-der-vererbung/genexpressio/bakteriengen/wachstum-bak.html) (Zugriff: 7. Juli 2019)
- Horsch, W. L. 2009.** *Candida*. [academic.eb.com/levels/collegiate/article/candida/471967](http://academic.eb.com/levels/collegiate/article/candida/471967) (Zugriff: 20. August 2019)
- Hossain, F., et al. 2016.** *Evidence for synergistic activity of plant-derived essential oils against fungal pathogens of food*. *Food Microbiology*, 53/2016, S. 24-30.
- Huang, D.F., et al. 2014.** *Chemical constituents, antibacterial activity and mechanism of action of the essential oil from Cinnamomum cassia bark against four food related bacteria*. *Microbiology*, 83/2014, S. 357-365.
- Hyldgaard, M., et al. 2012.** *Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies and interactions with food matrix components*. *Frontiers in Microbiology*, 3/2012.
- Inouye, S., et al. 2001.** *Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47/2001, S. 565-573.
- Jaksic-Born, C. 2007.** *Natura, Grundlagen der Biologie für Schweizer Maturitätsschulen*. Klett und Balmer Verlag, Zug, S. 311.
- Kalemba, D. und Kunicka, A. 2003.** *Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils*. Bentham Science Publishers, 10/2003, S. 813-829.
- Kaspar, L. 2018.** *Toxisches Schock-Syndrom*. [www.netdoktor.at/krankheit/toxisches-schocksyndrom-7249](http://www.netdoktor.at/krankheit/toxisches-schocksyndrom-7249) (Zugriff: 22. November 2019)
- Kau, A. L., et al. 2005.** *Enterococcus faecalis Tropism for the Kidneys in the Urinary Tract of C57BL/6J Mice*. *American Society for Microbiology*, 73/2005, S. 2461-2468.
- Kolter, T. und Gänzle, M. 2007.** *Ergosterol*. [roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-05-01560](http://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-05-01560) (Zugriff: 3. September 2019)
- Konemann, E. W. 2003.** *Am anderen Ende des Mikroskops*. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Berlin.
- Krätz, L. 2010.** *Wasserdampfdestillation*. [roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-23-00290](http://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-23-00290) (Zugriff: 3. September 2019)
- Kyung, K. H. 2012.** *Antimicrobial properties of allium species*. *Current Opinion in Biotechnology*, 23/2012, S. 142-147.
- Last, K. o.J.** *Mikroverkapselung, die clevere Methode, Additive und Wirkstoffe gezielt einzusetzen*. [www.chemie.de/whitepaper/126521/mikroverkapselung-die-clevere-methode-additive-und-wirkstoffe-gezielt-einzusetzen.html](http://www.chemie.de/whitepaper/126521/mikroverkapselung-die-clevere-methode-additive-und-wirkstoffe-gezielt-einzusetzen.html) (Zugriff: 22. November 2019)
- La Stora, A., et al. 2010.** *Atomic force microscopy analysis shows surface structure changes in carvacrol-treated bacterial cells*. *Research in Microbiology*, 162/2010, S. 164-172.
- Lakehal, S., et al. 2016.** *Essential oil composition and antimicrobial activity of Artemisia herba-alba Asso grown in Algeria*. *Medical chemistry*, 6/2016, S. 435-439.
- Liofilchem. 2015.** *Multodisc with eight antimicrobial agents*. [www.liofilchem.net/en/pdf/multodisc.pdf](http://www.liofilchem.net/en/pdf/multodisc.pdf) (Zugriff: 17. November 2019.)
- Lorenzi, V., et al. 2009.** *Geraniol restores antibiotic activities against multidrug-resistant isolates from gram-negatives species*. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 2009.
- Lv, F., et al. 2011.** *In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food relate microorganisms*. *Food Research International*, 44/2011, S. 3057-3064.
- Macwan, S.R., et al. 2016.** *Essential oils of herbs and spices: Their antimicrobial activity and application in preservation of food*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5/2016, S. 885-901.

- Magi, G., et al. 2015.** *Antimicrobial activity of essential oils and carvacrol and synergy of carvacrol and erythromycin, against clinical, erythromycin-resistant Group A Streptococci.* *Frontiers in Microbiology*, 6/2015.
- Martucci, J.F., et al. 2015.** *Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films.* *Industrial Crops and Products*, 71/2015, S. 205-213.
- Nagel, Dr. Geraldine. 2018.** *Escherichia.*  
[www.onmeda.de/krankheitserreger/escherichia.html](http://www.onmeda.de/krankheitserreger/escherichia.html) (Zugriff: 7. Juli 2019)
- **o.J.** *Pseudomonas aeruginosa.*  
[www.onmeda.de/krankheitserreger/pseudomonas\\_aeruginosa.html](http://www.onmeda.de/krankheitserreger/pseudomonas_aeruginosa.html) (Zugriff: 7. Juli 2019)
- **2015.** *Staphylococcus aureus.*  
[www.onmeda.de/krankheitserreger/staphylococcus\\_aureus.html](http://www.onmeda.de/krankheitserreger/staphylococcus_aureus.html) (Zugriff: 7. Juli 2019)
- NanoPack. 2019.** *The NanoPack project – safer food, less waste.* [www.nanopack.eu](http://www.nanopack.eu) (Zugriff: 26. November 2019)
- Nguyen, R. und Sun, Y. 2019.** *Bacitracin Topical.* [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536993/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536993/) (Zugriff: 15. Juli 2019)
- Palaniappan, K. und Holley, R.A. 2010.** *Use of natural antimicrobials to increase antibiotic susceptibility of drug resistant bacteria.* *International Journal of Food Microbiology*, 140/2010, S. 164-168.
- Pelissari, F. M., et al. 2009.** *Antimicrobial, Mechanical, and Barrier Properties of Cassava Starch-Chitosan Films Incorporated with Oregano Essential Oil.* *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57/2009, S. 7499-7504.
- Perdones, A., et al. 2012.** *Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on storage keeping quality of strawberry.* *Postharvest Biology and Technology*, 70/2012, S. 32-41.
- PharmaWiki. 2012.** *Gramfärbung.* [www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Gramfärbung](http://www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Gramfärbung) (Zugriff: 24. Oktober 2019)
- **2019.** *Dimethylsulfoxid.* [www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=dimethylsulfoxid](http://www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=dimethylsulfoxid) (Zugriff: 25. August 2019)
- **2018.** *Probiotika.* [www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Probiotika](http://www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Probiotika) (Zugriff: 23. November 2019)
- Prabuseenivasan, S., et al. 2006.** *In vitro antibacterial activity of some plant essential oils.* *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6/2006.
- PubChem.** *Geraniol.* [pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Geraniol](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Geraniol) (Zugriff: 14. Juli 2019)
- Purucker, K. 2010.** *Ergosterin.* <https://flexikon.doccheck.com/de/Ergosterin> (Zugriff: 10. Dezember 2019)
- Rao, A., et al. 2010.** *Mechanism of antifungal activity of terpenoid phenols resembles calcium stress and inhibition of the TOR pathway.* *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54/2010, S. 5062-5069.
- Rattanchaikunsopon, P. und Phumkhachorn, P. 2010.** *Assessment of factors influencing antimicrobial activity of carvacrol and cymene against Vibrio cholerae in food.* *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110/2010, S. 614-619.
- Rogers, K., et al. 2017.** *Yeast.* [academic.eb.com/levels/collegiate/article/yeast/77888](http://academic.eb.com/levels/collegiate/article/yeast/77888) (Zugriff: 20. August 2019)
- Rychen, G., et al. 2018.** *Safety of vitamin B2 (80%) as riboflavin produced by Bacillus subtilis KCCM-10445 for all animal species.* *EFSA Journal*, 16/2018.
- Schön, G. 1999.** *Bakterien, Die Welt der kleinsten Lebewesen.* Beck, München.
- Sikkema, J., et al. 1995.** *Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons.* *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 59/1995, S. 201-222.

- Schweizerische Normen-Vereinigung. 2007.** *EN ISO 20776-1. Teil 1: Referenzmethoden zur Testung der In-vitro-Aktivität von antimikrobiellen Substanzen gegen schnell wachsende aerobe Bakterien, die Krankheiten verursachen.* Ausgabe: 2007-04.
- Soltani, S. und Madadlou, A. 2015.** *Gelation characteristics of the sugar beet pectin solution charged with fish oil-loaded zein nanoparticles.* *Food Hydrocolloids*, 43/2015, S. 664-669.
- Spektrum. 2001.** *Parasexualität.* [www.spektrum.de/lexikon/biologie-kompakt/parasexualitaet/8659](http://www.spektrum.de/lexikon/biologie-kompakt/parasexualitaet/8659) (Zugriff: 7. Juli 2019)
- Stegmann, R., et al. 2010.** *Human infection associated with methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius ST71.* *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65/2010, S. 2047-2048.
- Stevic, T., et al. 2014.** *Antifungal activity of selected essential oils against fungi isolated from medicinal plant.* *Industrial Crops and Products*, 55/2014, 116-122.
- Thieme Römpf. 2002.** *Mykosen.* [roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-13-03622](http://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-13-03622) (Zugriff: 20. August 2019)
- Tikkanen, A. und Augustyn, A. 2018.** *Candidiasis.* [academic.elsevier.com/levels/collegiate/article/candidiasis/19955](http://academic.elsevier.com/levels/collegiate/article/candidiasis/19955) (Zugriff: 20. August 2019)
- Vergis, J., et al. 2013.** *Essential Oils as Natural Food Antimicrobial Agents: A Review.* *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55/2013, S. 1320-1323.
- Vogel, G. und Angermann, H.. 1984.** *dtv-Atlas zur Biologie.* Deutscher Taschenbuch Verlag GmbH & Co. KG, München. S. 58-63, 460-461. Bd. I und III.
- Wagner, H. und Ulrich-Merzenich, G. 2009.** *Synergy research: Approaching a new generation of phytopharmaceuticals.* *Phytomedicine*, 16/2009, S. 97-110.
- Wickham Laboratories Ltd. 2019.** *Factsheet Staphylococcus aureus.* [wickhamlabs.co.uk/technical-resource-centre/fact-sheet-staphylococcus-aureus/](http://wickhamlabs.co.uk/technical-resource-centre/fact-sheet-staphylococcus-aureus/) (Zugriff: 15. Juli 2019)
- Wikipedia. 2019.** *Phenylpropanoid.* [en.wikipedia.org/wiki/Phenylpropanoid](http://en.wikipedia.org/wiki/Phenylpropanoid) (Zugriff: 1. September 2019)
- **2019.** *Resazurin.* [de.wikipedia.org/wiki/Resazurin](http://de.wikipedia.org/wiki/Resazurin) (Zugriff: 29. August 2019)
- **2019.** *Triclosan.* [de.wikipedia.org/wiki/Triclosan](http://de.wikipedia.org/wiki/Triclosan) (Zugriff: 26. November 2019)
- Zhang, D., et al. 2011.** *Synergistic effects and physiological responses of selected bacterial isolates from animal feed to four natural antibacterials and two antibiotics.* *Foodborne Pathogens and Disease*, 8/2011.
- Zhang, Y., et al. 2016.** *Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against Escherichia coli und Staphylococcus aureus.* *Food Control*, 59/2016, S. 282-289.
- Zimmermann, E. 2009.** *Faktoren, welche die Chemie in der Pflanze beeinflussen.* [aromapraxis.de/2009/09/17/faktoren-welche-die-chemie-in-der-pflanze-beeinflussen-chemotypen-teil-2/](http://aromapraxis.de/2009/09/17/faktoren-welche-die-chemie-in-der-pflanze-beeinflussen-chemotypen-teil-2/) (Zugriff: 1. September 2019)
- Zinoviadou, K.G., et al. 2009.** *Physico-Chemical properties of whey protein isolate films containig oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef.* *Meat Science*, 82/2009, S. 338-345.

## 11 Abbildungsverzeichnis

<b>Titelbild</b>	<b>Laborarbeit mit Durchführung des Disk-Diffusion-Tests.</b> Eigenes Bild.
<b>Abbildung 1</b>	<b>Zellwandaufbau eines grampositiven und eines gramnegativen Bakteriums.</b> <b>PharmaWiki. 2012.</b> <i>Gramfärbung: Unterschiede zwischen gram-positiven und gram-negativen Bakterien.</i> <a href="http://www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Gramfärbung">www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Gramfärbung</a> (Zugriff: 24. Oktober 2019)
<b>Abbildung 2</b>	<b>Bakterielle Wachstumskurve, eingeteilt in Latenz-, exponentielle, stationäre und Absterbe-Phase.</b> <b>Wikipedia. 2019.</b> <i>Bakterielles Wachstum.</i> <a href="http://de.wikipedia.org/wiki/Bakterielles_Wachstum">de.wikipedia.org/wiki/Bakterielles_Wachstum</a> (Zugriff: 22. November 2019)
<b>Abbildung 3</b>	<b>Schema zu den verschiedenen Arten von Resistenzgenübertragung.</b> <b>Dantas, G. und Sommer, M.O.A. 2015.</b> <i>Die vielen Wege zur Antibiotikaresistenz.</i> Spektrum der Wissenschaft, 2015.
<b>Abbildung 4</b>	<b><i>B. subtilis</i> auf einer lichtmikroskopischen Aufnahme.</b> Eigenes Bild
<b>Abbildung 5</b>	<b><i>E. faecalis</i> auf einer lichtmikroskopischen Aufnahme.</b> Eigenes Bild
<b>Abbildung 6</b>	<b><i>E. coli</i> auf einer lichtmikroskopischen Aufnahme.</b> Eigenes Bild
<b>Abbildung 7</b>	<b><i>P. aeruginosa</i> auf einer lichtmikroskopischen Aufnahme.</b> Eigenes Bild
<b>Abbildung 8</b>	<b><i>S. aureus</i> auf einer lichtmikroskopischen Aufnahme.</b> Eigenes Bild
<b>Abbildung 9</b>	<b><i>C. albicans</i> auf einer lichtmikroskopischen Aufnahme.</b> Eigenes Bild
<b>Abbildung 10</b>	<b>Beispiele für Platten der verschiedenen Methoden.</b> Eigene Bilder
<b>Abbildung 11</b>	<b>Schematische Darstellung einer Mikrotitrationsplatte mit den Reihen A-H und Spalten 1-12.</b> <b>Edita Aksamitiene. o.J.</b> <i>96-well plate template.</i> <a href="http://www.cellsignet.com/media/templ.html">www.cellsignet.com/media/templ.html</a> (Zugriff: 17. November 2019)

- Abbildung 12**      **Multodisc von Liofilchem, welcher am besten für Resistenzprüfungen an urinalen Enterobakterien geeignet ist.**  
Liofilchem. 2015. *Multodisc with eight antimicrobial agents*.  
[www.liofilchem.net/en/pdf/multodisc.pdf](http://www.liofilchem.net/en/pdf/multodisc.pdf) (Zugriff: 25. September 2019)
- Abbildung 13**      **MHK-Werte für *S. aureus*, *E. faecalis* und *B. subtilis* bei den zwölf Ölen mit dem Disk-Diffusion-Test.**  
Eigene Darstellung
- Abbildung 14**      **MHK-Werte für *E. coli*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* bei den zwölf Ölen mit dem Disk-Diffusion-Test.**  
Eigene Darstellung
- Abbildung 15**      **MHK-Werte für *S. aureus*, *E. faecalis* und *B. subtilis* bei den zwölf Ölen mit dem Agardilution-Test.**  
Eigene Darstellung
- Abbildung 16**      **MHK-Werte für *E. coli*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* bei den zwölf Ölen mit dem Agardilution-Test.**  
Eigene Darstellung
- Abbildung 17**      **MHK-Werte für *S. aureus*, *E. faecalis* und *B. subtilis* bei den zwölf Ölen mit dem Mikrodilution-Test.**  
Eigene Darstellung
- Abbildung 18**      **MHK-Werte für *E. coli*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* bei den zwölf Ölen mit dem Mikrodilution-Test.**  
Eigene Darstellung
- Abbildung 19**      **MHK-Werte für *S. aureus*, *E. faecalis* und *B. subtilis* bei den einzelnen Ölen und deren Kombination mit dem Disk-Diffusion-Test.**  
Eigene Darstellung
- Abbildung 20**      **MHK-Werte für *E. coli*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* bei den einzelnen Ölen und deren Kombination mit dem Disk-Diffusion-Test.**  
Eigene Darstellung
- Abbildung 21**      **Hemmhof-Durchmesser für *S. aureus*, *E. faecalis* und *B. subtilis* unter Antibiotikawirkung und deren Durchschnitt im Vergleich zu ätherischen Ölen.**  
Eigene Darstellung
- Abbildung 22**      **Hemmhof-Durchmesser für *E. coli*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* unter Antibiotikawirkung und deren Durchschnitt im Vergleich zu ätherischen Ölen.**  
Eigene Darstellung

- Abbildung 23**      **MHK-Werte für den multiresistenten *S. pseudintermedius* bei den vier Ölen, mit dem Disk-Diffusion-Test eruiert.**  
Eigene Darstellung
- Abbildung 24**      **Mengendiagramm zur Übersicht über die hemmende Wirkung von farbigen ätherischen Ölen.**  
Eigene Darstellung
- Abbildung 25**      **Undex Spray fresh PLUS.**  
**Apotheke Dr. Kunz. o.J.** *Undex Spray fresh PLUS 75 ml.* [www.apotheke-drkunuz.ch/shop/schoenheit-pflege/schoenheit-pflege-haut-haare-naegel/undex-spray-fresh-plus-75-ml/](http://www.apotheke-drkunuz.ch/shop/schoenheit-pflege/schoenheit-pflege-haut-haare-naegel/undex-spray-fresh-plus-75-ml/) (Zugriff: 22. November 2019)
- Abbildung 26**      **Oreganoölkapseln.**  
**Amazon. o.J.** *Telaioils Wild Oregano Oil Softgels Capsules. High carvacrol, top quality, 60 soft gels.*  
[www.amazon.de/dp/B072M7GVZ2/ref=sr\\_1\\_2\\_sspa?keywords=oregano+öl+kapseln&qid=1574449718&sr=8-2-spons&psc=1&spLa=ZW5jcnlwdGVkUXVhbGlmaWVyPUEwNTUzMTU4NTVVSjVUkYxRIY0JndpZGdldE5hbWU9c3BfYXRmJmFjdGlvbj1jbGlja1JlZGlyZWNOJmRvTm90TG9nQ2xpY2s9dHJ1ZQ==](http://www.amazon.de/dp/B072M7GVZ2/ref=sr_1_2_sspa?keywords=oregano+öl+kapseln&qid=1574449718&sr=8-2-spons&psc=1&spLa=ZW5jcnlwdGVkUXVhbGlmaWVyPUEwNTUzMTU4NTVVSjVUkYxRIY0JndpZGdldE5hbWU9c3BfYXRmJmFjdGlvbj1jbGlja1JlZGlyZWNOJmRvTm90TG9nQ2xpY2s9dHJ1ZQ==)  
(Zugriff: 22. November 2019)
- Abbildung 27**      **Das Arzneimittel Nasobol zur Inhalation gegen Atemwegserkrankungen.**  
**Adler Apotheke. o.J.** *Nasobol Inhalo 30 Brausetabletten.*  
[www.adlershop.ch/p/4645/nasobol-inhalo-30-brausetabletten](http://www.adlershop.ch/p/4645/nasobol-inhalo-30-brausetabletten)  
(Zugriff: 10. Dezember 2019)
- Abbildung 28**      **Schematische Darstellung eines Rasenausstrichs in drei Schritten.**  
Eigene Darstellungen
- Abbildung 29**      **Resazurin, Resorufin und Dihydroresorufin.**  
**Wikipedia. 2019.** *Resazurin* [en.wikipedia.org/wiki/Resazurin](http://en.wikipedia.org/wiki/Resazurin)  
(Zugriff: 23. November 2019)
- Abbildung 30**      **Schematische Darstellung des Überimpfungsprozesses in drei Schritten.**  
Eigene Darstellungen
- Abbildung 31**      **Vier exemplarisch gewählte Disk-Diffusion-Test-Platten.**  
Eigene Bilder
- Abbildung 32**      **Fünf exemplarisch gewählte Agardilution-Test-Platten.**  
Eigene Bilder

- Abbildung 33**      **Zwei Mikrotitrationsplatten mit der Resazurinauswertung, wo aufgrund der Verfärbung des Lemongrassöl-Resazurin-Gemisches eine MHK-Bestimmung unmöglich war.**  
Eigene Bilder
- Abbildung 34**      **Fünf Mikrotitrationsplatten mit der Resazurinauswertung, mit Unregelmässigkeiten in den ersten beiden Wachstumskontrollreihen.**  
Eigene Bilder
- Abbildung 35**      **Antibiotika-Test-Platten mit den Staph-Multodiscs von Liofilchem.**  
Eigene Bilder



## 12 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1</b>	<b>Übersicht über die verwendeten Mikroorganismen mit Namen der Spezies, ATCC-Code und Biologische Schutzstufe.</b> Eigene Tabelle
<b>Tabelle 2</b>	<b>Überblick über die verwendeten Öle mit Namen des ätherischen Öls, den getesteten Konzentrationen und dem verwendeten Filter.</b> Eigene Tabelle
<b>Tabelle 3</b>	<b>Hemmhofdurchmesser von <i>E. faecalis</i> bei den verschiedenen Nelkenölkonzentrationen.</b> Eigene Tabelle
<b>Tabelle 4</b>	<b>Übersichtstabellen zur Deutung möglicher Synergien von Ölkombinationen.</b> Eigene Tabelle
<b>Tabelle 5</b>	<b>Durchschnittswert-Übersicht über die erhaltenen Resultate zum Disk-Diffusion-, Agardilution- und Mikrodilution-Test der einzelnen Öle gegen alle Mikroorganismen.</b> Eigene Tabelle
<b>Tabelle 6</b>	<b>Übersicht über die Hemmstärke der vier besten Öle: Nelkenblüten-, Zimtrinden-, Oregano- und Thymianöl.</b> Eigene Tabelle
<b>Tabelle 7</b>	<b>Übersichtstabellen über meine Resultate der Antibiotika-Multodisc-Tests und deren Deutung für <i>S. aureus</i>, <i>E. coli</i> und <i>P. aeruginosa</i> bei den acht getesteten Antibiotika.</b> Eigene Tabelle
<b>Tabelle 8</b>	<b>Vergleich zwischen den MHK-Werten von Hammer und meinen MHK-Werten, welche ich mit dem Agar- und Mikrodilution-Test erhielt.</b> Eigene Tabelle
<b>Tabelle 9</b>	<b>Übersichtstabelle über die Einstufung von Mikroorganismen in die vier Risikogruppen.</b> Eigene Tabelle
<b>Tabelle 10</b>	<b>Übersicht über die Resultate des Disk-Diffusion-Tests der ätherischen Öle, aufgeteilt nach Ölen und Mikroorganismen.</b> Eigene Tabelle

- Tabelle 11**            **Übersicht über die mit dem Agardilution-Test erhaltenen MHK-Werte für die sechs Mikroorganismen bei den zwölf getesteten Ölen.**  
Eigene Tabelle
- Tabelle 12**            **Übersicht über die OD-Auswertungen der Mikrotitrationsplatten.**  
Eigene Tabelle
- Tabelle 13**            **Übersicht über die mit dem Mikrodilution-Test erhaltenen MHK-Werte für die sechs Mikroorganismen bei den zwölf getesteten Ölen.**  
Eigene Tabelle
- Tabelle 14**            **Übersicht über die mit dem Disk-Diffusion-Test erhaltenen Hemmhöfe der sechs getesteten Mikroorganismen bei den verschiedenen Ölkombinationen in den entsprechenden Kombinationen.**  
Eigene Tabelle
- Tabelle 15**            **Übersicht über die gemessenen Hemmhöfe der sechs getesteten Mikroorganismen bei den acht Antibiotika auf den Multodiscs von Liofilchem.**  
Eigene Tabelle
- Tabelle 16**            **Übersicht über die mit dem Disk-Diffusion-Test erhaltenen Hemmhöfe für *S. pseudintermedius* bei den vier getesteten Ölen in den entsprechenden Konzentrationen.**  
Eigene Tabelle
- Tabelle 17**            **Übersicht über die erhaltenen Resultate des Disk-Diffusion-, Agardilution- und Mikrodilution-Tests, in den im Resultateteil verwendeten Farb-Kategorien.**  
Eigene Tabelle

## 13 Anhang

### 13.1 Rohdaten

#### 13.1.1 Resultate der ätherischen Öle mit dem Disk-Diffusion-Test

**Tabelle 10:** Übersicht über die Resultate des Disk-Diffusion-Tests der ätherischen Öle, aufgeteilt nach Ölen und Mikroorganismen (MO: *S. a.* = *S. aureus*, *E. f.* = *E. faecalis*, *B. s.* = *B. subtilis*, *E. c.* = *E. coli*, *P. a.* = *P. aeruginosa* und *C. a.* = *C. albicans*). Die erhaltenen Hemmhofdurchmesser (in mm) der zwei Serien bei den entsprechenden Ölkonzentrationen wurden angegeben. „–“ entspricht keiner sichtbaren Hemmung. Die Daten in Klammern zeigen entweder einen Hemmhof < 6.5 mm an, oder, neben einer anderen Zahl, den Hemmhof einer leichten Hemmung. Lemongrassöl z. B. verursachte bei *C. albicans* einen stark hemmenden Hemmhof bis 13 mm und darüber hinaus bis 20 mm hemmte es nur noch leicht. Bei verschiedenen Resultaten der daraus abzulesenden MHK-Werte (in %) werden die beiden Werte mit „/“ getrennt angegeben.

Oreganoöl							
MO	Konzentrationen (in %)						MHK (%)
	4	2	1	0.5	0.25	0.125	
<i>S. a.</i>	8.8, 7.3	7.6, 7.6	8.1, 7.5	8, 7.9	–	–	0.5
<i>E. f.</i>	7.4, 7.9	7.4, 7.4	7.4, 7.1	8.8, 8	–	–	0.5
<i>B. s.</i>	9.5, 8.5	7.6, 8.1	8.2, 7.1	6.7, 9	7.5, 7.4	–	0.25
<i>E. c.</i>	8.6, 8.2	7.3, 8.2	8.5, 7.7	7.4, 7.4	8, 6.9	–	0.25
<i>P. a.</i>	7.2, 6.5	7.3, 7.5	6.8, 7.5	7.2, 7.6	–	–	0.5
<i>C. a.</i>	9.2, 7.8	7.8, 8.6	7.9, 8.5	8.2, 7.5	8, 7.5	7.8, 7.9	< 0.125

Thymianöl							
MO	Konzentrationen (in %)						MHK (%)
	4	2	1	0.5	0.25	0.125	
<i>S. a.</i>	7.7, 7.6	7.7, 7.8	6.9, 6.5	–	–	–	1
<i>E. f.</i>	8.7, 7.4	7.7, 7.6	7, 7	–	–	–	1
<i>B. s.</i>	8.2, 8.2	8.2, 7	7.5, 7.5	--, 6.6	–	–	1 / 0.5
<i>E. c.</i>	8.2, 8.2	8, 8.3	7.8, 7.2	–	–	–	1
<i>P. a.</i>	7.6, 7	7, 6.4	6.6, 6.4	–	–	–	1
<i>C. a.</i>	7.4, 8.5	8.8, 7.8	8.3, 7.8	8.3, 8.2	7.8, 7.5	–	0.25

Nelkenblütenöl							
MO	Konzentrationen (in %)						MHK (%)
	16	8	4	2	1	0.5	
<i>S. a.</i>	6.8, 7.5	7.1, 6.9	7.4, 7	7.2, (6.2)	7.2, (6.2)	7, (6.2)	< 0.5 / 4
<i>E. f.</i>	(6.4), 7.15	6.7, 7.6	(6.3), 7	6.8, 7.6	6.5, 7	7, 7.4	< 0.5
<i>B. s.</i>	8.2, 13.3	7.8, 10.4	8.3, 12	7.7, 7.25	7.2, 6.6	6.6, 6.5	< 0.5
<i>E. c.</i>	7.7, 7.7	7.7, 8	7.5, 7.4	7.6, 6.7	7.5, 6.9	7.5, 7.1	< 0.5
<i>P. a.</i>	7.3, 7.5	7.3, 7.5	7.5, 6.8	6.7, 7	(5.8), 7	6.9, 7	< 0.5
<i>C. a.</i>	25, 15	22, 19	26, 21	7.3, 8.3	7.6, 7.4	7.4, 6.7	< 0.5

<b>Zimtrindenöl</b>							
<b>MO</b>	<b>Konzentrationen (in %)</b>						<b>MHK (%)</b>
	<b>16</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0.5</b>	
<i>S. a.</i>	19.3, 21	12.4, 14.2	–	–	–	–	8
<i>E. f.</i>	13, 14.6	8, 8.3	–	–	–	–	8
<i>B. s.</i>	17.6, 20.5	11.9, 11.5	8.5, 9	6.9, 6.8	–	–	2
<i>E. c.</i>	12.9, 9.7	8.3, 8.4	6.8, –	–	–	–	4 / 8
<i>P. a.</i>	9.1, 8.4	7.9, 7.4	6.8, –	–	–	–	4 / 8
<i>C. a.</i>	33, 31.7	31.4, 19.5	19.6, 14	11.1, 11.7	9.3, 11.3	9, 6.8	< 0.5

<b>Lemongrassöl</b>							
<b>MO</b>	<b>Konzentrationen (in %)</b>						<b>MHK (%)</b>
	<b>16</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0.5</b>	
<i>S. a.</i>	6.5, 7.5	(6.2), 6.6	–	–	–	–	16 / 8
<i>E. f.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>B. s.</i>	10, 9.6	8.7, 8.8	7.3, 8.5	6.6, –	–	–	2 / 4
<i>E. c.</i>	7.5, 7.5	7.6, 7.5	7.3, 7.1	–	–	–	4
<i>P. a.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>C. a.</i>	13(20), 17	9.5, 25	7.5, 10	–	–	–	4

<b>Zitronenöl</b>							
<b>MO</b>	<b>Konzentrationen (in %)</b>						<b>MHK (%)</b>
	<b>16</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0.5</b>	
<i>S. a.</i>	--	–	–	–	–	–	> 16
<i>E. f.</i>	8, 6.8	–	–	–	–	–	16
<i>B. s.</i>	Öl verlau- fen/ 10.5	10, 8.5	10, 10	7.5, 7.5	7.5, 7.25	6.5, 7	< 0.5
<i>E. c.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>P. a.</i>	14.5, 7.8 (14.8)	15, 13	16.5, 11	15.8, 9	10.25, 8.15	8.4, 8	< 0.5
<i>C. a.</i>	7.75, 8	–	–	–	–	–	16

<b>Geranienöl</b>							
<b>MO</b>	<b>Konzentrationen (in %)</b>						<b>MHK (%)</b>
	<b>16</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0.5</b>	
<i>S. a.</i>	6.9, 6.6	7.5, 6.7	6.9, 6.6	6.5, 6.5	6.5, 6.5	6.5, 6.5	< 0.5
<i>E. f.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>B. s.</i>	6.6, 6.5	6.5, (6.2)	6.5, –	–	–	–	4 / 16
<i>E. c.</i>	7.5, (6)	(6), 7	7, 7.1	–	–	–	4
<i>P. a.</i>	6.8, (6.1)	–	–	–	–	–	16 / > 16
<i>C. a.</i>	8.1, 7.75	8.1, 8.2	6.8, 7.25	–	–	–	4

<b>Salbeiöl</b>							
<b>MO</b>	<b>Konzentrationen (in %)</b>						<b>MHK (%)</b>
	<b>16</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0.5</b>	
<i>S. a.</i>	7.1, 7.4	–	–	–	–	–	16
<i>E. f.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>B. s.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>E. c.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>P. a.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>C. a.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16

Rosmarinöl							
MO	Konzentrationen (in %)						MHK (%)
	16	8	4	2	1	0.5	
<i>S. a.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>E. f.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>B. s.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>E. c.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>P. a.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>C. a.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16

Lavendelöl							
MO	Konzentrationen (in %)						MHK (%)
	16	8	4	2	1	0.5	
<i>S. a.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>E. f.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>B. s.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>E. c.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>P. a.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>C. a.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16

Teebaumöl (Farfalla)							
MO	Konzentrationen (in %)						MHK (%)
	16	8	4	2	1	0.5	
<i>S. a.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>E. f.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>B. s.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>E. c.</i>	6.6, –	–	–	–	–	–	16 / > 16
<i>P. a.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>C. a.</i>	–, 7.3	–	–	–	–	–	> 16 / 16

Minzenöl							
MO	Konzentrationen (in %)						MHK (%)
	16	8	4	2	1	0.5	
<i>S. a.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>E. f.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>B. s.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>E. c.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>P. a.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16
<i>C. a.</i>	–	–	–	–	–	–	> 16

### 13.1.2 Resultate der ätherischen Öle mit dem Agardilution-Test

**Tabelle 11:** Übersicht über die mit dem Agardilution-Test erhaltenen MHK-Werte (in %) für die sechs Mikroorganismen bei den zwölf getesteten Ölen.

Öl	Mikroorganismus					
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
Oregano	2.38	< 1.19	< 1.19	< 1.19	2.38	< 1.19
Thymian	4.76	2.38	< 1.19	2.38	> 4.76	< 1.19
Nelke	< 1.19	< 1.19	< 1.19	< 1.19	< 1.19	< 1.19
Zimt	< 1.19	< 1.19	< 1.19	< 1.19	< 1.19	< 1.19
Lemongrass	> 4.76	> 4.76	< 1.19	< 1.19	> 4.76	< 1.19
Zitrone	> 4.76	> 4.76	> 4.76	> 4.76	> 4.76	> 4.76
Geranium	> 4.76	> 4.76	> 4.76	> 4.76	> 4.76	< 1.19
Salbei	> 4.76	> 4.76	4.76	> 4.76	> 4.76	4.76
Rosmarin	> 4.76	> 4.76	4.76	> 4.76	> 4.76	4.76
Lavendel	> 4.76	> 4.76	< 1.19	> 4.76	> 4.76	< 1.19
Teebaum	4.76	> 4.76	< 1.19	2.38	> 4.76	< 1.19
Minze	> 4.76	> 4.76	4.76	> 4.76	> 4.76	4.76

### 13.1.3 Resultate der ätherischen Öle mit dem Mikrodilution-Test

**Tabelle 12:** Übersicht über die OD-Auswertungen (wo möglich) der Mikrodilutionsplatten. Der Verlauf der Konzentration (K.) wird in % angegeben. „Wachstum“ zeigt die Wachstums-, „Steril“ die Sterilkontrolle an.

<i>S. aureus</i>												
K.	Thymian		Geranium		Teebaum		Minze		Wachstum		Steril	
16	0.1348	0.1456	0.0351	0.0397	0.034	0.0348	0.0718	0.0868	0.7258	0.8097	0.0351	0.0352
8	0.1104	0.1291	0.3545	0.3242	0.2744	0.2923	0.259	0.3061	0.5678	0.852	0.0352	0.0352
4	0.0474	0.0481	0.3	0.2927	0.0402	0.0466	0.5128	0.5807	0.7035	0.7172	0.0359	0.0355
2	0.0414	0.0713	0.2915	0.3938	0.365	0.5049	0.5758	0.6713	0.7439	0.678	0.0359	0.0371
1	0.0851	0.142	0.392	0.5034	0.6382	0.6732	0.7491	0.7741	0.7224	0.7242	0.0355	0.0347
0.5	0.2727	0.3995	0.4996	0.6163	0.6868	0.7196	0.7489	0.7281	0.7437	0.6994	0.0353	0.0346
0.25	0.4746	0.5717	0.637	0.6534	0.727	0.7288	0.7286	0.721	0.7383	0.7376	0.0358	0.0351
0.125	0.7334	0.7652	0.7724	0.7522	0.7462	0.7422	0.7087	0.7304	0.807	0.7831	0.0348	0.0342

<i>E. faecalis</i>												
K.	Thymian		Geranium		Teebaum		Minze		Wachstum		Steril	
16	0.1485	0.1444	0.0374	0.037	0.0357	0.0361	0.0565	0.0756	0.4066	0.4301	0.0349	0.0351
8	0.0697	0.07	0.146	0.152	0.0447	0.0427	0.2056	0.276	0.4507	0.4417	0.0356	0.0345
4	0.0477	0.0516	0.224	0.2302	0.0747	0.0748	0.3611	0.3871	0.4663	0.4524	0.0435	0.0348
2	0.1337	0.0776	0.2791	0.2704	0.3739	0.3717	0.452	0.4089	0.4483	0.4251	0.0345	0.0351
1	0.1509	0.1263	0.3149	0.3601	0.3883	0.3901	0.4154	0.4081	0.4679	0.4478	0.0343	0.0346
0.5	0.3939	0.3251	0.3775	0.3775	0.4807	0.506	0.4919	0.4559	0.5143	0.4732	0.0346	0.0346
0.25	0.4594	0.4393	0.427	0.4443	0.5	0.5194	0.5216	0.4973	0.5216	0.5476	0.0347	0.0343
0.125	0.5147	0.5431	0.5056	0.4517	0.5257	0.5065	0.5654	0.4964	0.5531	0.5228	0.0345	0.0351

***E. coli***

K.	Thymian	Geranium	Teebaum	Minze	Wachstum	Steril
16	0.1425 0.1331	0.0456 0.0429	0.0339 0.0346	0.0401 0.0399	0.3856 0.6553	0.0351 0.0351
8	0.0714 0.0529	0.0583 0.0749	0.0348 0.0357	0.069 0.0386	0.4441 0.7601	0.0374 0.0351
4	0.0518 0.0456	0.0356 0.1574	0.0352 0.0359	0.038 0.1218	0.4369 0.4906	0.0348 0.035
2	0.0458 0.0389	0.0496 0.0469	0.0352 0.0913	0.2184 0.0364	0.5848 0.4357	0.0346 0.0349
1	0.0389 0.0377	0.1045 0.1347	0.2307 0.3058	0.3292 0.3424	0.4288 0.4583	0.0346 0.0344
0.5	0.0688 0.1392	0.0576 0.1043	0.3655 0.4305	0.3382 0.3896	0.6421 0.6133	0.0347 0.0351
0.25	0.0372 0.2902	0.2109 0.3912	0.3608 0.3428	0.402 0.3964	0.5743 0.7143	0.0347 0.0342
0.125	0.1101 0.3129	0.4459 0.3482	0.4918 0.6704	0.4178 0.5691	0.5973 0.6079	0.0347 0.0342

***P. aeruginosa***

K.	Thymian	Geranium	Teebaum	Minze	Wachstum	Steril
16	0.1374 0.1275	0.0423 0.0425	0.0362 0.0351	0.3145 0.348	0.6115 0.786	0.035 0.0353
8	0.0884 0.3004	0.5762 0.5485	0.1273 0.0668	0.5543 0.5801	0.6746 0.8241	0.035 0.0355
4	0.1119 0.362	0.6037 0.5243	0.5217 0.528	0.6381 0.6044	0.7819 0.8335	0.0351 0.035
2	0.2639 0.4028	0.5186 0.5197	0.6158 0.6609	0.6761 0.7243	0.8349 0.8776	0.0348 0.0346
1	0.3546 0.4667	0.5363 0.5848	0.6588 0.7411	0.7456 0.7773	0.859 0.8853	0.0345 0.0345
0.5	0.411 0.5244	0.5945 0.6657	0.7074 0.7433	0.7828 0.8253	0.8908 0.8326	0.0345 0.0346
0.25	0.5246 0.5667	0.6859 0.733	0.7564 0.7565	0.7983 0.8218	0.8199 0.7601	0.0346 0.0346
0.125	0.5554 0.6452	0.7142 0.7643	0.7774 0.805	0.8392 0.8297	0.8478 0.825	0.0347 0.035

***S. aureus***

K.	Lavendel	Salbei	Rosmarin	Oregano	Wachstum
16	0.0417 0.0399	0.0397 0.043	0.0385 0.0387	0.0699 0.0781	0.0466 0.0463 0.0446 0.0449
8	0.0405 0.041	0.0459 0.0527	0.04 0.0407	0.0509 0.0537	0.3247 0.3813 0.3868 0.4559
4	0.364 0.3632	0.0529 0.0485	0.0415 0.042	0.044 0.0535	0.3774 0.4445 0.5262 0.5552
2	0.5009 0.4829	0.0446 0.0441	0.0411 0.043	0.048 0.0453	0.3853 0.4342 0.5178 0.6034
1	0.5696 0.5291	0.4937 0.5188	0.046 0.0486	0.0412 0.0454	0.4138 0.4397 0.5232 0.5987
0.5	0.6089 0.5814	0.505 0.471	0.4513 0.3249	0.0417 0.0421	0.4248 0.5596 0.5444 0.6166
0.25	0.5617 0.5679	0.5388 0.5248	0.4584 0.3733	0.0407 0.3444	0.4096 0.5428 0.5786 0.6097
0.125	0.5357 0.5691	0.5503 0.5656	0.5234 0.5155	0.3719 0.3784	0.4904 0.5666 0.5965 0.6359

***E. faecalis***

K.	Lavendel	Salbei	Rosmarin	Oregano	Wachstum
16	0.044 0.0428	0.0397 0.0396	0.0398 0.0391	0.0896 0.0926	0.0527 0.0471 0.0465 0.0452
8	0.0417 0.0697	0.0463 0.043	0.0397 0.0402	0.043 0.0484	0.4773 0.5073 0.508 0.5944
4	0.3518 0.1935	0.0516 0.0616	0.0527 0.0423	0.0423 0.0448	0.4448 0.5123 0.5281 0.6994
2	0.5179 0.4147	0.0733 0.0788	0.0621 0.0512	0.0426 0.0422	0.4377 0.511 0.524 0.7113
1	0.6 0.62	0.4974 0.5571	0.1641 0.0629	0.0409 0.0414	0.5105 0.5458 0.5518 0.658
0.5	0.6762 0.6635	0.6352 0.6069	0.5799 0.3096	0.4713 0.2924	0.5102 0.6015 0.5478 0.6766
0.25	0.7535 0.7595	0.755 0.7306	0.6728 0.5454	0.4791 0.5186	0.5598 0.7489 0.5475 0.7451
0.125	0.6939 0.7515	0.728 0.6233	0.6207 0.5969	0.704 0.4781	0.6293 0.5545 0.6091 0.7207

***B. subtilis***

K.	Lavendel		Salbei		Rosmarin		Oregano		Wachstum			
16	0.0411	0.0408	0.0394	0.039	0.0395	0.0393	0.0882	0.0815	0.1713	0.0745	0.045	0.046
8	0.0478	0.0405	0.0496	0.0402	0.0406	0.0421	0.0465	0.0466	0.2821	0.4141	0.6024	0.4823
4	0.0397	0.0406	0.0408	0.0446	0.0405	0.0409	0.0458	0.0465	0.0412	0.5543	0.3472	0.5569
2	0.0418	0.0404	0.1958	0.1212	0.0424	0.0415	0.0418	0.0429	0.0905	0.5367	0.372	0.4292
1	0.0413	0.5323	0.3123	0.2639	0.3441	0.0418	0.0414	0.0432	0.4942	0.5282	0.5207	0.4352
0.5	0.3264	0.5409	0.375	0.467	0.2509	0.194	0.0409	0.0419	0.5774	0.6035	0.4243	0.6259
0.25	0.4546	0.5277	0.3675	0.5165	0.4619	0.4498	0.041	0.4919	0.3891	0.5901	0.4429	0.5009
0.125	0.5393	0.6708	0.6953	0.7248	0.6723	0.7064	0.7182	0.6917	0.6552	0.6818	0.6627	0.5247

***E. coli***

K.	Lavendel		Salbei		Rosmarin		Oregano		Wachstum			
16	0.0404	0.0578	0.0398	0.0392	0.0408	0.0387	0.0858	0.084	0.046	0.0462	0.0454	0.0444
8	0.0394	0.0422	0.0456	0.0568	0.0405	0.0389	0.0571	0.072	0.0407	0.3427	0.4867	0.5716
4	0.0432	0.0398	0.0405	0.0521	0.0448	0.0423	0.0557	0.0605	0.0423	0.2311	0.3813	0.5105
2	0.0525	0.0469	0.0404	0.0475	0.045	0.0423	0.0475	0.0515	0.0437	0.2176	0.3854	0.5047
1	0.0404	0.0411	0.2279	0.2128	0.0537	0.042	0.0409	0.0502	0.0467	0.2265	0.3917	0.5168
0.5	0.3686	0.3239	0.2772	0.2572	0.0485	0.0418	0.0412	0.0471	0.0495	0.2358	0.417	0.5507
0.25	0.3795	0.2994	0.2915	0.2863	0.198	0.045	0.0399	0.0415	0.0627	0.2762	0.4428	0.5881
0.125	0.3695	0.3621	0.3081	0.2867	0.2668	0.1213	0.04	0.0411	0.132	0.345	0.4782	0.6467

***P. aeruginosa***

K.	Lavendel		Salbei		Rosmarin		Oregano		Wachstum			
16	0.0393	0.0395	0.041	0.038	0.0387	0.0381	0.0921	0.0978	0.0465	0.0456	0.0443	0.0441
8	0.1407	0.1924	0.0387	0.0502	0.0396	0.0402	0.0467	0.0541	0.3872	0.3895	0.5082	0.6425
4	0.33	0.3854	0.0492	0.04	0.0402	0.0405	0.0561	0.0464	0.4312	0.4366	0.5279	0.5428
2	0.3966	0.4522	0.0713	0.0485	0.0428	0.0411	0.042	0.0443	0.421	0.468	0.5802	0.5731
1	0.4857	0.4637	0.5076	0.4704	0.0498	0.0433	0.0409	0.0412	0.4169	0.4733	0.5128	0.6192
0.5	0.5689	0.5461	0.5137	0.5018	0.5004	0.3551	0.0406	0.041	0.4611	0.5338	0.5611	0.6329
0.25	0.6621	0.6168	0.5426	0.5146	0.4651	0.4335	0.3326	0.3884	0.4392	0.5338	0.6022	0.6512
0.125	0.6048	0.5667	0.4975	0.5491	0.5098	0.4488	0.438	0.4188	0.5639	0.6177	0.6649	0.5809



**Tabelle 13:** Übersicht über die mit dem Mikrodilution-Test erhaltenen MHK-Werte (%) für die sechs Mikroorganismen bei den zwölf getesteten Ölen – zur Übersichtlichkeit auf zwei Blöcke aufgeteilt. „OD“ zeigt das Resultat mit der Auswertung anhand der optischen Dichte, „Resazurin“ das Resultat anhand der Resazurinauswertung. „–“ steht, wenn kein Wert aufgrund unterschiedlicher Faktoren bestimmt werden konnte. „k. W.“ heisst, dass der Mikroorganismus auch nach längerer Inkubation kein Wachstum zeigte.

Öle	Mikroorganismen					
	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>B. subtilis</i>	
	OD	Resazurin	OD	Resazurin	OD	Resazurin
Oregano	0.25, 0.5	0.25, 0.5	1	1	0.25, 0.5	0.25, 0.5
Thymian	1	–	4, 2	–	k.W.	k.W.
Nelke	–	< 0.125	–	< 0.125	–	< 0.125
Zimt	–	< 0.125	–	< 0.125	–	< 0.125
Lemongrass	–	–	–	1, 2	–	0.25
Zitrone	–	4	–	4	–	4, > 16
Geranium	16	–	16	–	k.W.	k.W.
Salbei	2	2	2	4	4	4
Rosmarin	1	1	2, 1	2, 1	2, 1	2, 1
Lavendel	8	8	8	8	1, 2	1, 2
Teebaum	16	–	4	–	k.W.	k.W.
Minze	16	–	16	–	k.W.	k.W.

Öle	Mikroorganismen					
	<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>C. albicans</i>	
	OD	Resazurin	OD	Resazurin	OD	Resazurin
Oregano	< 0.125	< 0.125	0.5	0.5	–	1, 2
Thymian	0.25, 1	–	4, 16	–	k.W.	k.W.
Nelke	–	< 0.125	–	0.25	–	1, 0.5
Zimt	–	< 0.125	–	0.25	–	0.5
Lemongrass	–	0.25, <0.125	–	–	–	> 16
Zitrone	–	8, > 16	–	8	–	> 16
Geranium	2, 8	–	16	–	k.W.	k.W.
Salbei	2	2	2	4	–	16, > 16
Rosmarin	0.5, 0.25	0.5, < 0.125	1	2	–	> 16
Lavendel	1	1	> 16	> 16	–	> 16
Teebaum	2, 4	–	8	–	k.W.	k.W.
Minze	4, 8	–	> 16	–	k.W.	k.W.

### 13.1.4 Resultate der Synergie-Tests von Ölkombinationen

**Tabelle 14:** Übersicht über die mit dem Disk-Diffusion-Test erhaltenen Hemmhöfe (in mm) der sechs getesteten Mikroorganismen bei den drei verschiedenen Ölkombinationen in den entsprechenden Konzentrationen. „–“ entspricht keiner sichtbaren Hemmung. Die daraus ablesbaren MHK-Werte (in %) sind daneben aufgeführt. Bei Unterschieden in den zwei Serien werden beide Werte angegeben.

Kombination aus Oregano- und Thymianöl								
MO	Konzentrationen (in %)							MHK
	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	
<i>S. a.</i>	6.8, 8	7.2, –	–	–	–	–	–	4 / 8
<i>E. f.</i>	6.9, 8.5	6.5, 8.5	–	–	–	–	–	4
<i>B. s.</i>	9.2, 10.5	7.2, 6.5	7.4, –	–	–	–	–	2 / 4
<i>E. c.</i>	–, 8.5	7.1, 7.5	7.4, 8.2	–	–	–	–	2
<i>P. a.</i>	7.5, 7	–	–	–	–	–	–	8
<i>C. a.</i>	8.9, 10.7	6.9, 7.7	8.1, 7.5	–	–	–	–	2

Kombination aus Lavendel- und Nelkenblütenöl								
MO	Konzentrationen (in %)							MHK
	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	
<i>S. a.</i>	7.3, 9.3	–	–	–	–	–	–	8
<i>E. f.</i>	–	–	–	–	–	–	–	> 8
<i>B. s.</i>	6.8, 7.2	–	–	–	–	–	–	8
<i>E. c.</i>	7.4, 7.1	–	–	–	–	–	–	8
<i>P. a.</i>	–, 7.2	–	–	–	–	–	–	> 8 / 8
<i>C. a.</i>	16.8, 12.7	–, 7.9	–	–	–	–	–	8 / 4

Kombination aus Teebaum- und Zimtrindenöl								
MO	Konzentrationen (in %)							MHK
	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	
<i>S. a.</i>	10.3, 6.6	–	–	–	–	–	–	8
<i>E. f.</i>	–, 7	–	–	–	–	–	–	> 8 / 8
<i>B. s.</i>	7.3, 8.5	–	–	–	–	–	–	8
<i>E. c.</i>	7.9, 7.1	–	–	–	–	–	–	8
<i>P. a.</i>	7.1, 6.8	–	–	–	–	–	–	8
<i>C. a.</i>	17.7, 16.4	8.7, 7.3	–	–	–	–	–	4

### 13.1.5 Resultate der Antibiotika-Multodisc-Tests

**Tabelle 15:** Übersicht über die gemessenen Hemmhöfe (in mm) der sechs getesteten Mikroorganismen (MO) bei den acht Antibiotika auf den Multodiscs von Liofilchem (Cefoxitin (FOX), Levofloxacin (LEV), Netilmicin (NET), Tetracyclin (TE), Erythromycin (ERY), Gentamicin (CN), Rimfampicin (RD) und Linezolid (LNZ)). „–“ entspricht keiner sichtbaren Hemmung, die Werte in Klammern geben eine leichte Hemmung oder einen Hemmhof mit Subpopulationen an.

M.O.	FOX	LEV	NET	TE	ERY	CN	RD	LNZ
<i>S. a.</i>	–	26	20	18 (24)	(24)	21	12	–
<i>E. f.</i>	–	19 (25)	17	12	–	20	7	–
<i>B. s.</i>	(22)	30	20	25	(13)	23	12 (15)	(8)
<i>E. c.</i>	–	30	19	13	–	19	7	–
<i>P. a.</i>	–	27	18	11	–	19	6.3	–
<i>C. a.</i>	–	–	–	–	–	–	–	–

### 13.1.6 Resultate des Disk-Diffusion-Tests bei *S. pseudintermedius*

**Tabelle 16:** Übersicht über die mit dem Disk-Diffusion-Test erhaltenen Hemmhöfe (in mm) für *S. pseudintermedius* bei den vier getesteten Ölen in den entsprechenden Konzentrationen. „–“ entspricht keiner sichtbaren Hemmung. Bei Unterschieden zwischen den MHK-Werten zweier Serien werden die beiden Resultate getrennt angegeben.

Staphylococcus pseudintermedius							
Öl	Konzentrationen (in %)						MHK (%)
	16	8	4	2	1	0.5	
Oregano	6.7, –	–	–	–	–	–	16 / > 16
Thymian	19.5, 7.8	–	–	–	–	–	16
Nelke	9.5, 11.4	–	–	–	–	–	16
Zimt	15, 7.8	–	–	–	–	–	16

### 13.1.7 Zusammenfassung aller Resultate

**Tabelle 17:** Übersichtstabelle über die erhaltenen Resultate des Disk-Diffusion-, Agardilution- und Mikrodilution-Tests, in den im Resultateteil (vgl. Kapitel 5) verwendeten Farb-Kategorien (grün = starke Hemmung, gelb = mittlere Hemmung, rot = schwache oder gar keine Hemmung).

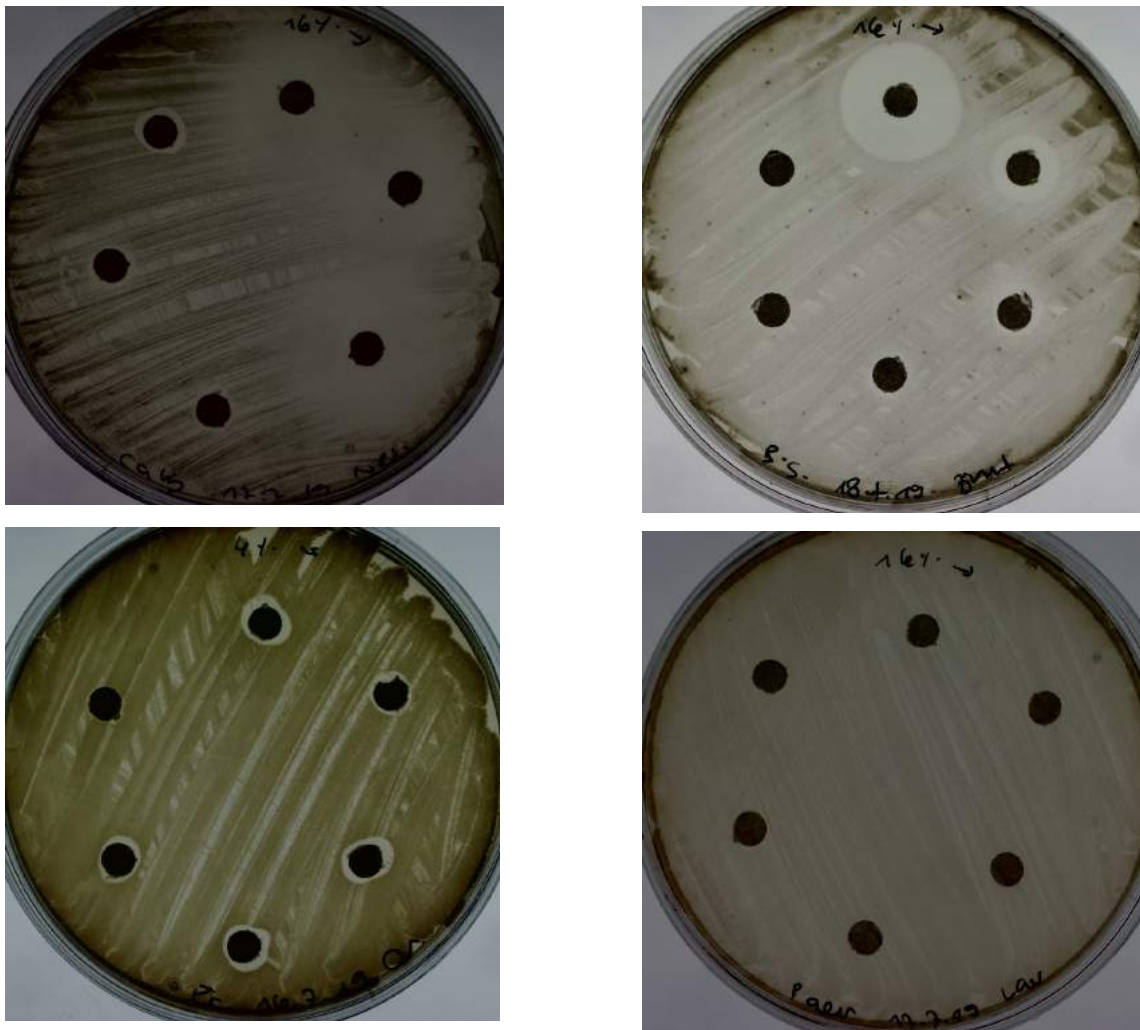


## 13.2 Bilder (Auswahl)

Hier im Anhang befindet sich nur eine Auswahl aller Bilder meiner ausgewerteten Platten. Zum einen befinden sich folgende Bilder im Anhang, weil es für das Verständnis meiner Arbeit (insbesondere der Diskussion) wichtig ist, die Platten betrachten zu können und sich ein Bild der genannten Unregelmässigkeiten machen zu können. Zum anderen habe ich gewisse Bilder exemplarisch ausgewählt, damit Sie sich als Leserin/Leser etwas unter den Resultaten/Auswertungen der einzelnen Methoden und Experimente vorstellen können.

Die Bilder aller Platten wurden auf einem externen USB-Stick gespeichert und der Originalarbeit beigelegt.

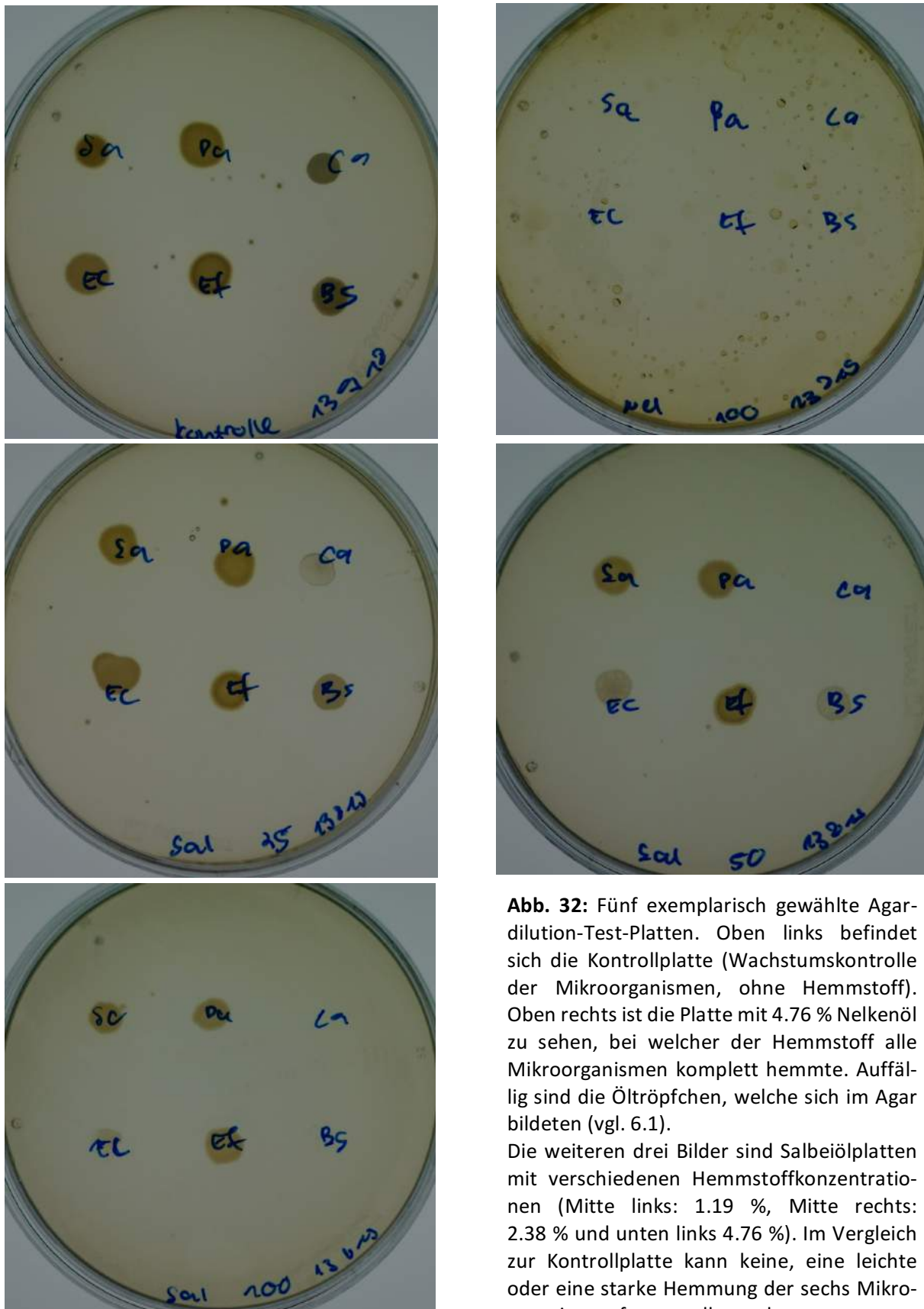
### 13.2.1 Disk-Diffusion-Test-Platten



**Abb. 31:** Vier exemplarisch gewählte Disk-Diffusion-Test-Platten. Oben links ist eine *C. albicans*-Platte mit Nelkenblütenöl zu sehen: Gewisse Hemmhöfe sind sehr gross, jedoch meist ohne klare Ränder. Der Hefepilz wurde bis in die tiefste Konzentration gehemmt. Oben rechts befindet sich das Abbild einer *B. subtilis*-Platte mit Zimtrindenöl mit grossen und klaren Hemmhöfen. Unten links ist eine *E. coli*-Platte mit Oreganöl zu sehen. Die Hemmhöfe sind klein, jedoch sehr klar. Unten rechts auf der *P. aeruginosa*-Platte mit Lavendelöl ist keine Hemmung zu verzeichnen.

Die Platten, auf denen Ölkombinationen auf Synergien getestet wurden, sowie die *S. pseudintermedius*-Platten sehen gleich aus.

## 13.2.2 Agardilution-Test-Platten

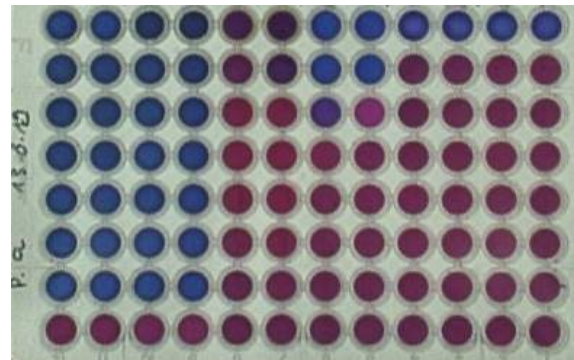
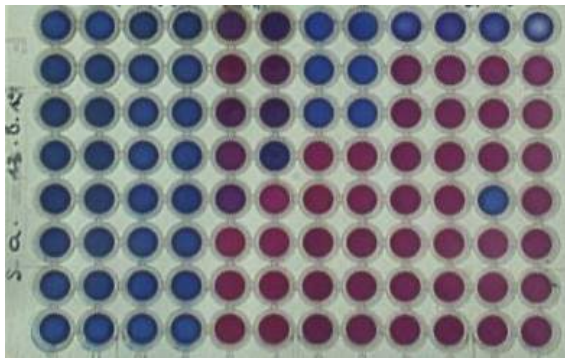


**Abb. 32:** Fünf exemplarisch gewählte Agardilution-Test-Platten. Oben links befindet sich die Kontrollplatte (Wachstumskontrolle der Mikroorganismen, ohne Hemmstoff). Oben rechts ist die Platte mit 4.76 % Nelkenöl zu sehen, bei welcher der Hemmstoff alle Mikroorganismen komplett hemmte. Auffällig sind die Öltröpfchen, welche sich im Agar bildeten (vgl. 6.1).

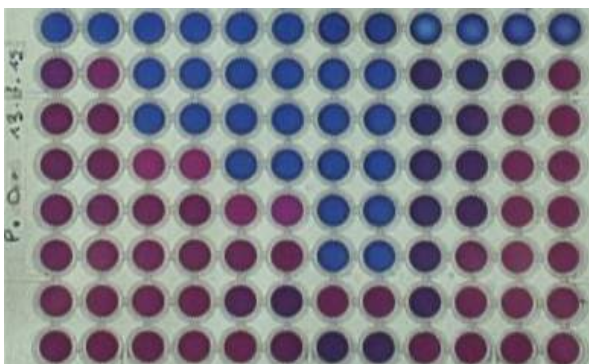
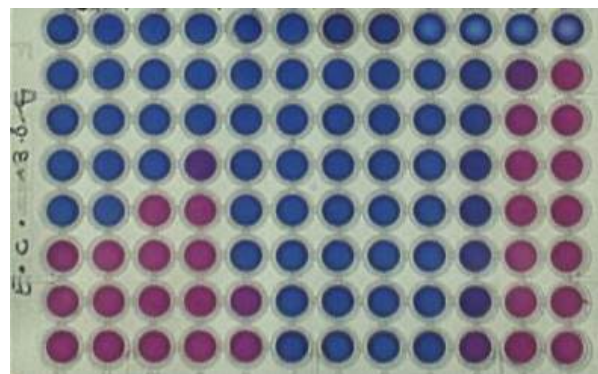
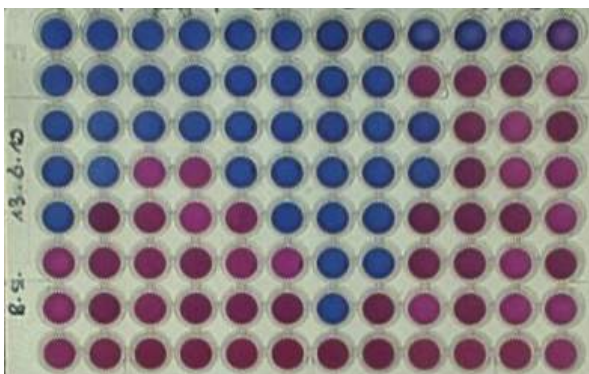
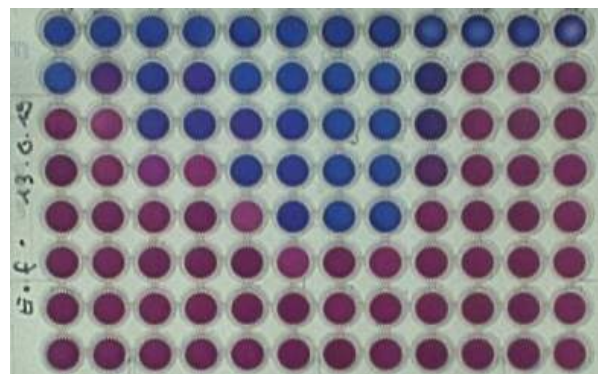
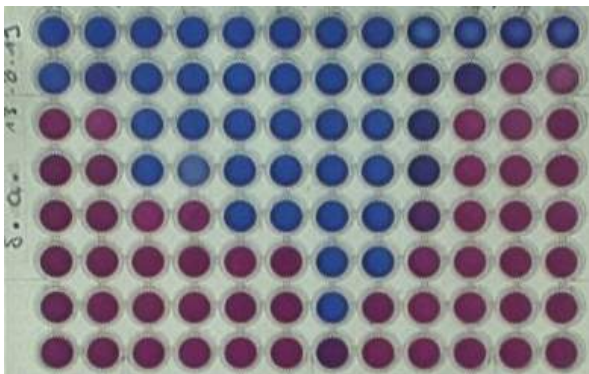
Die weiteren drei Bilder sind Salbeiölplatten mit verschiedenen Hemmstoffkonzentrationen (Mitte links: 1.19 %, Mitte rechts: 2.38 % und unten links 4.76 %). Im Vergleich zur Kontrollplatte kann keine, eine leichte oder eine starke Hemmung der sechs Mikroorganismen festgestellt werden.



## 13.2.3 Mikrodilution-Test-Platten



**Abb. 33:** Zwei Mikrotitrationsplatten (Spalten 1+2: Zimtrindenöl; Spalten 3+4: Nelkenöl; Spalten 5+6: Lemongrassöl; Spalten 7+8: Zitronenöl; Spalten 9–12: Wachstumskontrollreihen) mit der Resazurinauswertung (links: *S. aureus*, rechts: *P. aeruginosa*). Für Lemongrassöl konnte keine MHK bestimmt werden, weil sich jeweils in den Konzentrationen 8–16 % die Öl-Resazurin-Mischung atypisch verfärbte. Weil hier die Kolonne durchgehend eine rosa-violette Farbe aufweist, ist eine MHK-Bestimmung unmöglich (vgl. 6.6).



**Abb. 34:** Fünf Mikrotitrationsplatten (Spalten 1+2: Lavendelöl; Spalten 3+4: Salbeiöl; Spalten 5+6: Rosmarinöl; Spalten 7+8: Oreganoöl; Spalten 9–12: Wachstumskontrollreihen) mit der Resazurinauswertung (oben links: *S. aureus*, oben rechts: *E. faecalis*, Mitte links: *B. subtilis*, Mitte rechts: *E. coli*, unten links: *P. aeruginosa*). Die ersten beiden Wachstumskontrollreihen weisen Unregelmässigkeiten auf (vgl. 6.6).

## 13.2.4 Antibiotika-Multidisc-Test-Platten



**Abb. 35:** Antibiotika-Test-Platten mit den Staph-Multodiscs von Liofilchem (oben links: *S. aureus*, oben rechts: *E. faecalis*, Mitte links: *B. subtilis*, Mitte rechts: *E. coli*, unten links: *P. aeruginosa*, unten rechts: *C. albicans*). Beim schwarzen Pfeil befindet sich das Cefoxitin-(FOX)-Plättchen. Die Antibiotikareihenfolge lautet im Gegenuhrzeigersinn Levofloxacin (LEV), Netilmicin (NET), Tetracyclin (TE), Erythromycin (ERY), Gentamicin (CN), Rifampicin (RD) und Linezolid (LNZ).



## 13.3 Spezifikationen der Öle



## Spezifikation

Spezifikation Nr.: DE02297  
Spezifikation gültig ab: 03.02.2015

## LAVENDELÖL Frankreich

Artikelnummer: 60-0540-0

Prüfparameter / Prüfmethode	Einheit	untere Limite	obere Limite
INCI-Bezeichnung		Lavandula angustifolia Oil	
CAS-Nr.		8000-28-0	
FEMA-Nr.		2622	
H.S.-Nr.		3301.2930	
EINECS/ELINCS-Nr.		289-995-2	
Klassifizierung		naturliche Substanz	
Echtheit		100% reines, natürliches und genuines Erzeugnis	
Pflanzenfamilie		Labiatae (Lippenblüter)	
Stammpflanze		Lavandula angustifolia Mill. (= Lavandula officinalis Chaix / Lavandula vera DC)	
Verarbeiteter Pflanzenteil		Bühende Rispen	
Gewinnung		Wasserdampfdestillation der entsprechenden Pflanzenteile	
Aussehen		klare, farblose bis gelbliche Flüssigkeit	
Geruch		aromatisch, krautig, blumig, Lavendel	
Rel. Dichte 20/20°C		0.878	0.892
Ph. Eur. 2.2.5			
Brechungsindex 20°C		1.455	1.466
Ph. Eur. 2.2.6			
Opt. Drehung 20°C		-12.5	-6.0
Ph. Eur. 2.2.7			
Fette und verarbeitete ätherische Öle		kein durchscheinender oder fettartiger Flecken sichtbar	
Ph. Eur. 2.8.7			
Säurezahl	mg KOH/g		
Ph. Eur. 2.5.1		1.0	
Limonen	%	1.0	
Ph. Eur. 2.2.28			
Eucalyptol (Cineol)	%	2.5	
Ph. Eur. 2.2.28			
Octanon-3-	%	0.1	5.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Linalol	%	20.0	45.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Campher	%		
Ph. Eur. 2.2.28			
Urnalylacetat	%	25.0	47.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Lavandulylacetat	%	0.2	
Ph. Eur. 2.2.28			
Terpinen-4-ol	%	0.1	8.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Lavandulid	%	0.1	
Ph. Eur. 2.2.28			
Terpineol, alpha-	%		2.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Essencia, Ätherische Öle AG Starbühlstrasse 8 CH-8409 Wädenswil			
Tel:	+41 52 2450560		
Fax:	+41 52 2450569		
E-Mail:	info@essencia.ch		
Homepage:	www.essencia.ch		



## Spezifikation

Spezifikation Nr.: DE02251  
Spezifikation gültig ab: 02.03.2017

## CITRONENÖL Messina extra

Artikelnummer: 60-0040-0

Prüfparameter / Prüfmethode	Einheit	untere Limite	obere Limite
INCI-Bezeichnung		Citrus Limon Peel Oil	
CAS-Nr.		8008-56-8	
FEMA-Nr.		2625	
H.S.-Nr.		3301.1300	
EINECS/ELINCS-Nr.		284-515-8	
Klassifizierung		naturliche Substanz	
Echtheit		100% reines, natürliches und genuines Erzeugnis	
Pflanzenfamilie		Rutaceae (Rautengewächse)	
Stammpflanze		Citrus limon (L.) Burman f. (= Citrus medica L. var. limon L.)	
Verarbeiteter Pflanzenteil		Frische Schalen der reifen Früchte	
Gewinnung		Kaltpressung der entsprechenden Pflanzenteile	
Aussehen		klare, gelbliche bis grünlich-gelbe Flüssigkeit	
Geruch		fruchtig, Citrone	
Rel. Dichte 20/20°C		0.850	0.858
Ph. Eur. 2.2.5			
Brechungsindex 20°C		1.473	1.476
Ph. Eur. 2.2.6			
Opt. Drehung 20°C		57.0	70.0
Ph. Eur. 2.2.7		1.8	3.6
Verdampfungsdruckzustand		%	
Ph. Eur. 2.8.9			
Pinen, beta-	%	7.0	17.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Sabinen	%	1.0	3.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Limonen	%	56.0	78.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Terpinen, gamma-	%	6.0	12.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Linalol	%		0.30
Ph. Eur. 2.2.28			
Caryophyllen, beta-	%		0.5
Ph. Eur. 2.2.28			
Neral (Citral)	%	0.3	1.5
Ph. Eur. 2.2.28			
Terpineol, alpha-	%		0.6
Ph. Eur. 2.2.28			
Nerylacetat	%	0.2	0.9
Ph. Eur. 2.2.28			
Geranial (Citral)	%	0.5	2.3
Ph. Eur. 2.2.28			
Geranylacetat	%	0.1	0.8
Ph. Eur. 2.2.28			
Essencia, Ätherische Öle AG Starbühlstrasse 8 CH-8409 Wädenswil			
Tel:	+41 52 2450560		
Fax:	+41 52 2450569		
E-Mail:	info@essencia.ch		
Homepage:	www.essencia.ch		





**Spezifikation**

Spezifikation Nr.: DE02306  
Spezifikation gültig ab: 02.11.2017

**NELKENBLÜTENÖL**

Artikelnummer: 60-0605-0

Prüfparameter / Prüfmethode	Einheit	untere Limite	obere Limite
INCI-Bezeichnung		Eugenia Caryophyllus Flower Oil	
CAS-Nr.		8000-344-8	
FEMA-Nr.		2323	
H.S.-Nr.		3301.2920	
EINECS/ELINCS-Nr.		284-638-7	
Klassifizierung		naturliche Substanz	
Echtheit		100% reines, natürliches und genuines Erzeugnis	
Pflanzenfamilie		Myrtaceae (Myrtengewächse)	
Stammpflanze		Syzygium aromaticum (L.) Merrill et L. M. Perry	
Verarbeiteter Pflanzenteil		Gerocknete Blütenknospen	
Gewinnung		Wasserdampfdestillation der entsprechenden Pflanzenteile	
Aussehen		klare, gelbe bis braune Flüssigkeit	
Geruch		würzig, Nelke, warm	
Rel.Dichte 20/20°C		1.030	1.070
Ph. Eur. 2.2.5			
Brechungsindex 20°C		1.528	1.537
Ph. Eur. 2.2.6			
Lagerung		Vor Licht, Wärme und Sauerstoff geschützt; hermetisch verschlossen. 15-25°C bei längerer Lagerung Schutzgas verwenden (kein CO2).	
Laufzeit		24 Monate	
Ort, Datum	Winterthur, 18.10.2019	Qualitätskontrolle: Marc Wylar	

Essencia, Aetherische Öle AG  
Starfällstrasse 8  
CH-8409 Winterthur  
Tel: +41 52 24 50 560  
Fax: +41 52 24 50 569  
E-Mail: info@essencia.ch  
Homepage: www.essencia.ch

USI-ID-Nr.: CHE-101.280.118



**Spezifikation**

Spezifikation Nr.: DE02318  
Spezifikation gültig ab: 15.12.2014

**PFEFFERMINZÖL**

Artikelnummer: 60-0891-0

Prüfparameter / Prüfmethode	Einheit	untere Limite	obere Limite
INCI-Bezeichnung		Mentha Piperita Oil	
CAS-Nr.		8006-90-4	
FEMA-Nr.		2848	
H.S.-Nr.		3301.2400	
EINECS/ELINCS-Nr.		282-415-4	
Klassifizierung		naturliche Substanz	
Echtheit		100% reines, natürliches und genuines Erzeugnis	
Pflanzenfamilie		Lamiaceae (Lippenblütler)	
Stammpflanze		Mentha x piperita L. Typ Yakima	
Verarbeiteter Pflanzenteil		Teilweise getrocknetes, blühendes Kraut	
Gewinnung		Wasserdampfdestillation der entsprechenden Pflanzenteile	
Aussehen		klare, farblose bis blassgelbe oder blass grünlich-gelbe Flüssigkeit	
Geruch		minzig, süss	
Rel.Dichte 20/20°C		0.898	0.918
Ph. Eur. 2.2.5			
Brechungsindex 20°C		1.450	1.470
Ph. Eur. 2.2.6			
Lagerung		Nicht über 25°C lagern.	
Laufzeit		24 Monate	
Ort, Datum	Winterthur, 18.10.2019	Qualitätskontrolle: Marc Wylar	

Essencia, Aetherische Öle AG  
Starfällstrasse 8  
CH-8409 Winterthur  
Tel: +41 52 24 50 560  
Fax: +41 52 24 50 569  
E-Mail: info@essencia.ch  
Homepage: www.essencia.ch

USI-ID-Nr.: CHE-101.280.118



**Spezifikation**

Spezifikation Nr.: DE02329  
 Spezifikation gültig ab: 13.02.2015

**SALBEIÖL officinalis**

Artikelnummer: 60-0845-0

Prüfparameter / Prüfmethode	Einheit	untere Limite	obere Limite
INCI-Bezeichnung		Savia Officialis Oil	
CAS-Nr.		8022-56-8	
FEMA-Nr.		3001	
H.S.-Nr.		3301.2980	
EINECS/ELINCS-Nr.		282-025-9	
Klassifizierung		natürliche Substanz	
Echtheit		100% reines, natürliches und genuines Erzeugnis	
Pflanzenfamilie		Labiatae (Lippenblütler)	
Stammpflanze		Savia officinalis L.	
Verarbeiteter Pflanzenteil		Teilweise getrocknete Blätter und Stängel	
Gewinnung		Wasserdampfdestillation der entsprechenden Pflanzenteile	
Aussehen		klare, farblose bis gelbliche Flüssigkeit	
Geruch		krautig, würzig, Salbei	
Rel. Dichte 20/20°C		0.910	0.930
Ph. Eur. 2.2.5			
Brechungsindex 20°C		1.455	1.470
Ph. Eur. 2.2.6			
Opt. Drehung 20°C	*	-3.0	26.0
Ph. Eur. 2.2.7			
Limonen	%	7.0	
Ph. Eur. 2.2.28			
Eucalyptol (Cineol)	%	5.0	15.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Hexenyl-trans-2-	%		0.10
Ph. Eur. 2.2.28			
Thujon, alpha-	%	18.0	35.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Thujon, beta-	%	1.0	6.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Linalol	%		5.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Campher	%	15.0	30.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Caryophyllen, beta-	%	1.0	5.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Pulegon	%		0.20
Ph. Eur. 2.2.28			
Caryophyllen, alpha-	%	2.0	10.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Borneol, n-	%	1.0	5.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Geraniol	%		0.10
Ph. Eur. 2.2.28			

Essencia, Aetherische Öle AG  
 Starfällstrasse 8  
 CH-8400 Winterthur  
 Tel: +41 52 246 0560  
 Fax: +41 52 246 0569  
 E-Mail: info@essencia.ch  
 Homepage: www.essencia.ch

USI-ID-Nr.: CHE-101.230.118



**Spezifikation**

Spezifikation Nr.: DE02324  
 Spezifikation gültig ab: 17.11.2016

**ROSMARINÖL CT Cineol**

Artikelnummer: 60-0790-0

Prüfparameter / Prüfmethode	Einheit	untere Limite	obere Limite
INCI-Bezeichnung		Rosmarinus Officinalis Leaf Oil	
CAS-Nr.		8000-25-7	
FEMA-Nr.		2992	
H.S.-Nr.		3301.2930	
EINECS/ELINCS-Nr.		283-291-9	
PHEur			
Klassifizierung		natürliche Substanz	
Echtheit		100% reines, natürliches und genuines Erzeugnis	
Pflanzenfamilie		Labiatae (Lippenblütler)	
Stammpflanze		Rosmarinus officinalis L. (Chemotyp Cineol)	
Verarbeiteter Pflanzenteil		Zweige und blühende Zweigspitzen	
Gewinnung		Wasserdampfdestillation der entsprechenden Pflanzenteile	
Aussehen		klare, leicht bewegliche, farblose bis blassgelbe Flüssigkeit	
Geruch		balsamisch, krautig, holzig, Rosmarin	
Rel. Dichte 20/20°C		0.895	0.920
Ph. Eur. 2.2.5			
Brechungsindex 20°C		1.464	1.473
Ph. Eur. 2.2.6			
Opt. Drehung 20°C	*	-5	8
Ph. Eur. 2.2.7			
Säurezahl	mg KOH/g		1.0
Ph. Eur. 2.51			
Pinen, alpha-	%	9.0	14.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Camphen	%	2.5	6.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Pinen, beta-	%	4.0	9.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Myrcen, beta-	%	1.0	2.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Limonen	%	1.5	4.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Eucalyptol (Cineol)	%	36.0	55.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Cymol, para-	%	0.8	2.5
Ph. Eur. 2.2.28			
Campher	%	5.0	15.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Bornylacetat, n-	%	0.1	1.5
Ph. Eur. 2.2.28			
Terpineol, alpha-	%		2.6
Ph. Eur. 2.2.28			

Essencia, Aetherische Öle AG  
 Starfällstrasse 8  
 CH-8400 Winterthur  
 Tel: +41 52 246 0560  
 Fax: +41 52 246 0569  
 E-Mail: info@essencia.ch  
 Homepage: www.essencia.ch

USI-ID-Nr.: CHE-101.230.118



## Spezifikation

Spezifikation Nr.: DE02349  
Spezifikation gültig ab: 09.03.2017

### THYMIANÖL vulgaris CT Thymol

Artikelnummer: 60-1040-0

Prüfparameter / Prüfmethode	Einheit	untere Limite	obere Limite
INCI-Bezeichnung		Thymus Vulgaris Flower/Leaf Oil	
CAS-Nr.		8007-46-3	
FEMA-Nr.		3064	
H.S.-Nr.		3301-2930	
EINECS/ELINCS-Nr.		284-535-7	
Klassifizierung		natürliche Substanz	
Echtheit		100% reines, natürliches und genuines Erzeugnis	
Pflanzenfamilie		Lamiaceae	
Stammpflanze		Thymus vulgaris L. (Typ Varico, Chemotyp Thymol)	
Verarbeiteter Pflanzenteil		Frisches blühendes Kraut	
Gewinnung		Wasserdampfdestillation der entsprechenden Pflanzenteile	
Aussehen		klare, gelbe bis braune Flüssigkeit	
Geruch		würzig, balsamisch, krautig	
Rel. Dichte 20/20°C		0.915	0.935
Ph. Eur. 2.2.5			
Brechungsindex 20°C		1.490	1.505
Ph. Eur. 2.2.6			
Opt. Drehung 20°C	°	-3.0	2.0
Ph. Eur. 2.2.7			
Löslichkeit in EtOH	ml	2.0	
Ph. Eur. 2.8.10			
Fette und verarbeitete ätherische Öle		kein durchscheinender oder fettartiger Flecken sichtbar	
Ph. Eur. 2.8.7			
Myrcen, beta-	%	1.0	3.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Limonen	%	1.0	
Ph. Eur. 2.2.28			
Terpinen gamma-	%	4.0	15.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Cymen, para-	%	15.0	28.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Linalol	%	4.0	6.5
Ph. Eur. 2.2.28			
Terpinen-4-ol	%	0.2	2.5
Ph. Eur. 2.2.28			
Geraniol (Chiral)	%	0.50	
Ph. Eur. 2.2.28			
Geraniol	%	0.50	
Ph. Eur. 2.2.28			
Thymol	%	36.0	55.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Carvacrol	%	1.0	4.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Essencia, Aetherische Öle AG Steinfelstrasse 8 CH-8409 Winterthur Tel: +41 52 24 505 60 Fax: +41 52 24 505 69 E-Mail: info@essencia.ch Homepage: www.essencia.ch			



## Spezifikation

Spezifikation Nr.: DE02400  
Spezifikation gültig ab: 17.06.2014

### TEEBAUMÖL

Artikelnummer: 60-1645-0

Prüfparameter / Prüfmethode	Einheit	untere Limite	obere Limite
INCI-Bezeichnung		Melaleuca Alternifolia Leaf Oil	
CAS-Nr.		68647-73-4	
FEMA-Nr.		3902	
H.S.-Nr.		3301-2980	
EINECS/ELINCS-Nr.		285-377-1	
Klassifizierung		natürliche Substanz	
Echtheit		100% reines, natürliches und genuines Erzeugnis	
Pflanzenfamilie		Myrtaceae (Myrtengewächse)	
Stammpflanze		Melaleuca alternifolia (Cheel), Melaleuca linariifolia Smith / Melaleuca dissitiflora F. Muellier	
Verarbeiteter Pflanzenteil		Frische Blätter und Zweige	
Gewinnung		Wasserdampfdestillation der entsprechenden Pflanzenteile	
Aussehen		klare, farblose bis blassgelbe Flüssigkeit	
Geruch		Kieferne, typisch	
Rel. Dichte 20/20°C		0.885	0.915
Ph. Eur. 2.2.5			
Brechungsindex 20°C		1.475	1.482
Ph. Eur. 2.2.6			
Lagerung		Vor Licht, Wärme und Sauerstoff geschützt, hermetisch verschlossen, 15-25°C. Bei längerer Lagerung Schutzgas verwenden (kein CO2).	
Lauzeit		24 Monate	
Ort Datum: Winterthur, 18.10.2019		Qualitätskontrolle: Marc Wyler	
Essencia, Aetherische Öle AG Steinfelstrasse 8 CH-8409 Winterthur Tel: +41 52 24 505 60 Fax: +41 52 24 505 69 E-Mail: info@essencia.ch Homepage: www.essencia.ch			



Spezifikation Nr.: DE02457  
Spezifikation gültig ab: 17.05.2013

**ORGANUMÖL CT Carvacrol**

Artikelnummer: 60-2120-0

Prüfparameter / Prüfmethode	Einheit	untere Limite	obere Limite
INCI-Bezeichnung		Organum Vulgare Oil	
CAS-Nr.		84012-24-8	
FEMA-Nr.		2660	
H.S.-Nr.		1302.1900	
EINECS/ELINCS-Nr.		281-670-3	
Klassifizierung		natürliche Substanz	
Echtheit		100% reines, natürliches und genuines Erzeugnis	
Pflanzenfamilie		Lamiaceae/Labiatae (Lippenblütler)	
Stammpflanze		Organum vulgare L.	
Verarbeiteter Pflanzenteil		Frisches oder getrocknetes Kraut	
Gewinnung		Wasserdampfdestillation der entsprechenden Pflanzenteile	
Aussehen		Klare, gelbe bis braune Flüssigkeit	
Geruch		kräftig, aromatisch, holzig	
Rel. Dichte 20/20°C		0,940	0,970
Ph. Eur. 2.2.5			
Brechungsindex 20°C		1,502	1,528
Ph. Eur. 2.2.6			
Opt. Drehung 20°C		-2,0	3,0
Ph. Eur. 2.2.7			
Fette und verharzte ätherische Öle		kein durchscheinender oder fettartiger Flecken sichtbar	
Ph. Eur. 2.8.7			
Limonen	%		1,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Terpinen, gamma-	%	2,0	7,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Cymol, para-	%	1,0	7,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Linallol	%		5,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Campher	%		3,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Geraniol	%		0,20
Ph. Eur. 2.2.28			
Thymol	%	1,8	5,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Eugenol	%		3,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Carvacrol	%	65,0	85,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Lagerung		Vor Licht, Wärme und Sauerstoff geschützt, hermetisch verschlossen, 15-25°C. Bei längerer Lagerung Schutzgas verwenden (kein CO <sub>2</sub> ).	
Laufzeit		24 Monate	
Essencia, Aetherische Öle AG Stauffelstrasse 8 CH-5405 Winterthur	Tel: +41 52 2450560 Fax: +41 52 2450569 E-Mail: info@essencia.ch Homepage: www.essencia.ch	US-Id.Nr.: CHE-01-283.118	Tel: +41 52 2450560 Fax: +41 52 2450569 E-Mail: info@essencia.ch Homepage: www.essencia.ch



Spezifikation Nr.: DE02488  
Spezifikation gültig ab: 15.05.2019

**LEMONGRASÖL**

Artikelnummer: 60-2010-0

Prüfparameter / Prüfmethode	Einheit	untere Limite	obere Limite
INCI-Bezeichnung		Cymbopogon Citratus Leaf Oil	
CAS-Nr.		8007-02-1	
FEMA-Nr.		2624	
H.S.-Nr.		3301.2980	
EINECS/ELINCS-Nr.		289-752-0	
Klassifizierung		natürliche Substanz	
Echtheit		100% reines, natürliches und genuines Erzeugnis	
Pflanzenfamilie		Poaceae (Süßgräser)	
Stammpflanze		Cymbopogon citratus (DC. ex Nees) Stapf.	
Verarbeiteter Pflanzenteil		Frisch geschnittene oder leicht getrocknete Gräser	
Gewinnung		Wasserdampfdestillation der entsprechenden Pflanzenteile	
Aussehen		Klare, gelbliche bis orangefarbene Flüssigkeit	
Geruch		erdig, Citrone	
Rel. Dichte 20/20°C		0,872	0,897
Ph. Eur. 2.2.5			
Brechungsindex 20°C		1,483	1,489
Ph. Eur. 2.2.6			
Opt. Drehung 20°C		-3,0	1,0
Ph. Eur. 2.2.7			
Löslichkeit in EtOH	ml		5,0
Ph. Eur. 2.8.10			
Fette und verharzte ätherische Öle		kein durchscheinender oder fettartiger Flecken sichtbar	
Ph. Eur. 2.8.7			
Säurezahl	mg KOH/g		7,0
Ph. Eur. 2.5.1			
Myrcen, beta-	%		1,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Limonen	%		9,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Linolol	%		3,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Neral (Citral)	%	15,0	35,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Geraniol (Citral)	%	40,0	60,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Geranylacetat	%	1,0	10,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Geraniol	%	2,0	15,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Eugenol	%		1,0
Ph. Eur. 2.2.28			
Isoeugenol, E-	%		0,5
Ph. Eur. 2.2.28			
Essencia, Aetherische Öle AG Stauffelstrasse 8 CH-5405 Winterthur	Tel: +41 52 2450560 Fax: +41 52 2450569 E-Mail: info@essencia.ch Homepage: www.essencia.ch	US-Id.Nr.: CHE-01-283.118	Tel: +41 52 2450560 Fax: +41 52 2450569 E-Mail: info@essencia.ch Homepage: www.essencia.ch



**Spezifikation**

Spezifikation Nr.: D602290  
Spezifikation gültig ab: 13.02.2015

**GERANIUMÖL ägyptisch**

Artikelnummer: 60-0480-0

Prüfparameter / Prüfmethode	Einheit	untere Limite	obere Limite
INCI-Bezeichnung		Pelargonium Graveolens Flower Oil	
CAS-Nr.		8000-46-2	
FEMA-Nr.		2508	
H.S.-Nr.		3301.2930	
EINECS/ELINCS-Nr.		290-140-0	
Klassifizierung		natürliche Substanz	
Echtheit		100% reines, natürliches und genuines Erzeugnis	
Pflanzenfamilie		Geraniaceae (Storchenschnabelgewächse)	
Stammpflanze		Pelargonium x graveolens L'Her. ex Aiton (= Geranium rosat / Pelargonium x asperum Willd.)	
Verarbeiteter Pflanzenteil		Früches oder teilweise getrocknetes, blühendes Kraut	
Gewinnung		Wasserdampfdestillation der entsprechenden Pflanzenteile	
Aussehen		klare, gelbliche bis braungelbe Flüssigkeit	
Geruch		grün, Geranium, blumig	
Rel.Dichte 20/20°C		0.883	0.905
Ph. Eur. 2.2.5			
Brechungsindex 20°C		1.461	1.477
Ph. Eur. 2.2.6			
Opt. Drehung 20°C		-140	-80
Ph. Eur. 2.2.7			
Säurezahl	mg KOH/g	10.0	
Ph. Eur. 2.5.1			
Limonen	%	1.0	
Ph. Eur. 2.2.28			
Menthon, Iso-	%	3.0	9.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Linalol	%	4.0	14.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Citronellylformiat	%	5.0	12.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Geraniol (Citral)	%	2.0	2.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Citronello	%	25.0	40.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Geraniol	%	10.0	20.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Eudesmol, 10-epi-gamma-	%	2.0	7.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Lagerung		Vor Licht, Wärme und Sauerstoff geschützt, hermetisch verschlossen, 15-25°C. Bei längerer Lagerung Schutzgas verwenden (kein CO <sub>2</sub> ).	
Laufzeit		24 Monate	
Essencia, Adheseische Öle AG	Tele:	+41 82 2450590	
Starbühlstrasse 8	Fax:	+41 82 2450599	
CH-8403 Winterthur	E-Mail:	info@essencia.ch	
	Homepage:	www.essencia.ch	
Essencia, Adheseische Öle AG	Tele:	+41 82 2450590	
Starbühlstrasse 8	Fax:	+41 82 2450599	
CH-8403 Winterthur	E-Mail:	info@essencia.ch	
	Homepage:	www.essencia.ch	



**Spezifikation**

Spezifikation Nr.: D602562  
Spezifikation gültig ab: 21.01.2019

**ZIMTRINDENÖL**

Artikelnummer: 60-3280-0

Prüfparameter / Prüfmethode	Einheit	untere Limite	obere Limite
INCI-Bezeichnung		Cinnamomum Zeylanicum Bark Oil	
CAS-Nr.		84649-98-9	
FEMA-Nr.		2291	
H.S.-Nr.		3301.2920	
EINECS/ELINCS-Nr.		283-479-0	
Klassifizierung		natürliche Substanz	
Echtheit		100% reines, natürliches und genuines Erzeugnis	
Pflanzenfamilie		Lauraceae (Lorbeerengewächse)	
Stammpflanze		Cinnamomum zeylanicum Nees (= Cinnamomum verum J.S. Presl)	
Verarbeiteter Pflanzenteil		Getrocknete Rinde	
Gewinnung		Wasserdampfdestillation der entsprechenden Pflanzenteile	
Aussehen		klare, bewegliche, hellgelb bis rötliche Flüssigkeit	
Geruch		kräftig, Zimt, würzig	
Rel.Dichte 20/20°C		1.000	1.030
Ph. Eur. 2.2.5			
Brechungsindex 20°C		1.572	1.591
Ph. Eur. 2.2.6			
Opt. Drehung 20°C		-4	2
Ph. Eur. 2.2.7			
Eucalyptol (Cineol)	%		3.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Linalol	%	1.0	6.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Caryophyllen, beta-	%	1.0	8.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Safrol	%		0.50
Ph. Eur. 2.2.28			
Zimtaldehyd, trans-	%	60	
Ph. Eur. 2.2.28			
Eugenol	%		7.5
Ph. Eur. 2.2.28			
Methoxycinnamaldehyd	%	0.1	1.0
Ph. Eur. 2.2.28			
Coumarin	%		0.50
Ph. Eur. 2.2.28			
Benzylbenzoat	%		1.5
Ph. Eur. 2.2.28			
Lagerung		Vor Licht, Wärme und Sauerstoff geschützt, hermetisch verschlossen, 15-25°C. Bei längerer Lagerung Schutzgas verwenden (kein CO <sub>2</sub> ).	
Laufzeit		24 Monate	
Essencia, Adheseische Öle AG	Tele:	+41 82 2450590	
Starbühlstrasse 8	Fax:	+41 82 2450599	
CH-8403 Winterthur	E-Mail:	info@essencia.ch	
	Homepage:	www.essencia.ch	
Essencia, Adheseische Öle AG	Tele:	+41 82 2450590	
Starbühlstrasse 8	Fax:	+41 82 2450599	
CH-8403 Winterthur	E-Mail:	info@essencia.ch	
	Homepage:	www.essencia.ch	