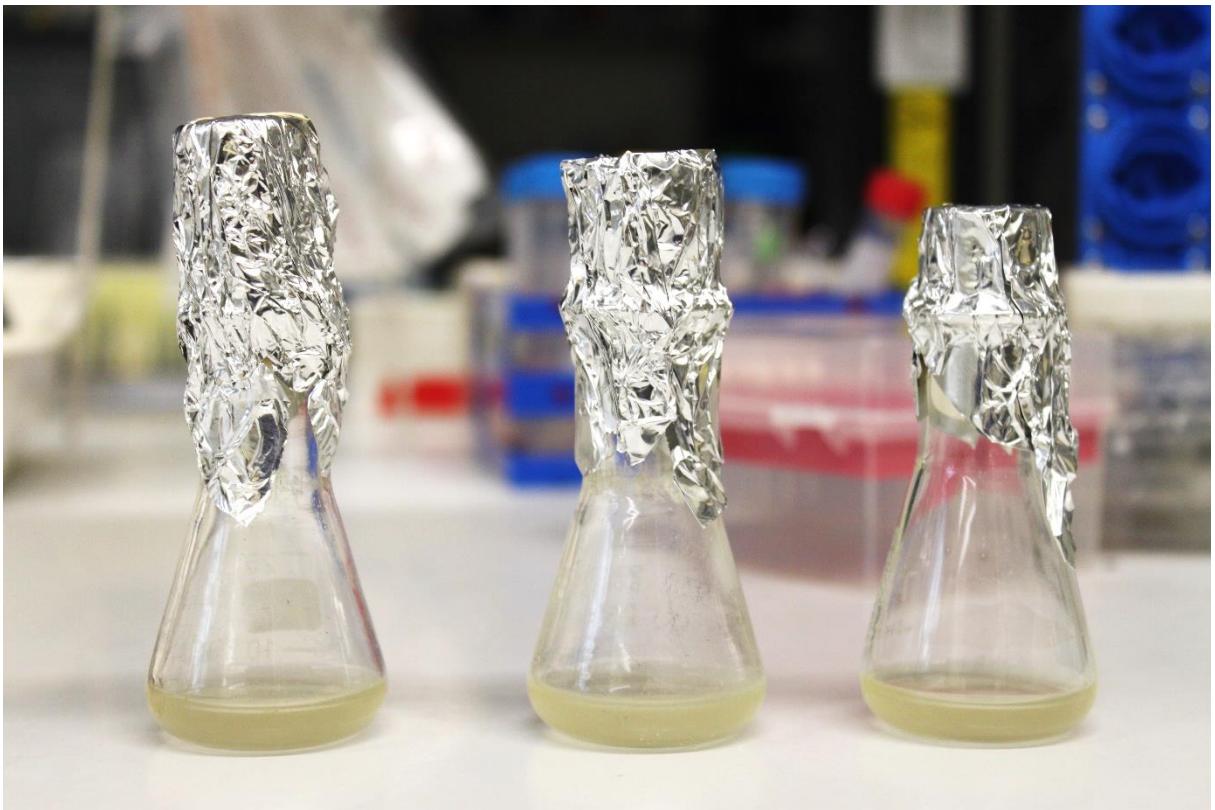


Antibakterielle Wirkung von Nikotin und Cannabidiol

auf potentiell humanpathogene Bakterien

Maturaarbeit 2018 im Fach Biologie an der Kantonsschule Sursee



Autorin:

Weltert Gioia Kalena, 6M

Galgerain 16

6233 Büron

Betreuerin:

Frau Dr. Mez Konstanze

Dreilindenstr. 75d

6006 Luzern

Abstract

In zahlreichen Zeitungsartikeln wurde bereits über die antibiotische Wirkung von handelsüblichem Nikotin auf *Mycobacterium tuberculosis* berichtet. Angeblich soll Zigarettenkonsum eine neue wirksame Alternative zu den bisherigen Tuberkuloseantibiotika darstellen [1,2,3].

Demgegenüber steht jedoch eine komplett gegensätzliche Studie. Nikotin soll das Risiko, an Tuberkulose zu erkranken, sogar noch erhöhen. Dies wird damit begründet, dass die Lungenregeneration und -reinigung durch Rauchen beeinträchtigt wird, Krankheitserreger leichter in die Lunge eindringen können und so eine Erkrankung schneller verursacht wird [4,5,6].

Ferner behaupten Studien, dass Cannabidiol als wirksame Behandlung gegen unterschiedliche Krankheiten eingesetzt werden kann [7]. Zusätzlich weist eine aus dem Jahr 2017 stammende Maturaarbeit der Kantonsschule Sursee die wachstumshemmende Wirkung von CBD auf Bakterien der menschlichen Mundflora nach [8].

In der vorliegenden Arbeit wurde die antibiotische Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf *Mycobacterium bovis* BCG mittels Fluoreszenzspektroskopie und Mikrodilutionsmethode untersucht. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass Nikotin eine wachstumshemmende Wirkung auf den *Mycobacterium tuberculosis*-ähnlichen Erreger hat. Jedoch ist die benötigte Konzentration so hoch, dass sie bereits schon als tödlich gilt. Auch Cannabidiol stellte sich nicht als wirksame Alternative zu den gängigen Antibiotika heraus.

Ergänzend wurden auch die Antibiotika Isoniazid, Kanamycin A und B und die Bakterien *Mycobacterium smegmatis*, *Mycobacterium abscessus*, *Staphylococcus aureus* und *Escherichia coli* in die Versuche miteinbezogen. Bei *Staphylococcus aureus* konnte sich Cannabidiol als geeignete Behandlungsmöglichkeit offenbaren.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|--|----|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 1.1 | Tuberkulose | 1 |
| 1.1.1 | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 1 |
| 1.1.2 | Resistenzproblem und Behandlungsmöglichkeiten..... | 1 |
| 1.2 | Untersuchte Bakterien..... | 2 |
| 1.3 | Untersuchte Substanzen..... | 4 |
| 1.4 | Grünfluoreszierende Proteine | 6 |
| 1.5 | Ziele der Arbeit..... | 7 |
| 2 | Material und Methode | 8 |
| 2.1 | Herstellung der Testkonzentrationen | 8 |
| 2.1.1 | Herstellung der Testlösungen mit Kanamycin A, Kanamycin B, Isoniazid und CBD | 8 |
| 2.1.2 | Herstellung der Nikotinlösung | 9 |
| 2.2 | Herstellung der Bakteriensuspensionen..... | 9 |
| 2.3 | Versuchsvorbereitung | 11 |
| 2.3.1 | Herstellung der Antibiotikakonzentrationen | 11 |
| 2.3.2 | Vorbereiten der Mikrotiterplatten..... | 11 |
| 2.3.3 | Vorbereiten der Bakterienstämme | 12 |
| 2.3.4 | Inokulieren der Platten | 13 |
| 2.4 | Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MIC)..... | 13 |
| 2.4.1 | Messen der Fluoreszenzintensität..... | 13 |
| 2.4.2 | Mikrodilutionsmethode | 14 |
| 3 | Resultate | 15 |
| 3.1 | <i>Mycobacterium smegmatis</i> | 16 |
| 3.2 | <i>Mycobacterium abscessus</i> | 18 |
| 3.3 | <i>Staphylococcus aureus</i> | 20 |
| 3.4 | <i>Escherichia coli</i> | 22 |
| 3.5 | <i>Mycobacterium bovis</i> BCG..... | 24 |
| 3.6 | Minimale Hemmkonzentration | 26 |
| 3.7 | Mittlere inhibitorische Konzentration (IC ₅₀)..... | 27 |

| | |
|---|----|
| 4 Diskussion | 28 |
| 4.1 Allgemeine Bemerkungen | 28 |
| 4.2 <i>Mycobacterium smegmatis</i> | 30 |
| 4.3 <i>Mycobacterium abscessus</i> | 30 |
| 4.4 <i>Staphylococcus aureus</i> | 31 |
| 4.5 <i>Escherichia coli</i> | 31 |
| 4.6 <i>Mycobacterium bovis</i> BCG | 31 |
| 4.7 Medizinische Relevanz von CBD und Nikotin | 32 |
| 4.7.1 Relevanz für die Tuberkulosebehandlung | 34 |
| 4.8 Schlussbemerkungen | 34 |
| 4.9 Folgeuntersuchungen | 35 |
| 5 Reflexion | 36 |
| 6 Danksagung | 37 |
| 7 Bibliografie | 38 |
| 8 Begriffserklärung | 43 |
| 9 Anhang | 44 |
| 9.1 Rohdaten der Fluoreszenzmessung | 44 |
| 9.1.1 <i>M. smegmatis</i> | 44 |
| 9.1.2 <i>M. abscessus</i> | 46 |
| 9.1.3 <i>S. aureus</i> | 49 |
| 9.1.4 <i>E. coli</i> | 52 |
| 9.1.5 <i>M. bovis</i> BCG | 55 |
| 9.2 MIC der Mikrodilutionsmethode | 58 |
| 9.2.1 <i>M. smegmatis</i> | 58 |
| 9.2.2 <i>M. abscessus</i> | 59 |
| 9.2.3 <i>S. aureus</i> | 60 |
| 9.2.4 <i>E. coli</i> | 60 |
| 9.2.5 <i>M. bovis</i> BCG | 61 |
| 10 Deklaration | 62 |

1 Einleitung

Von vielen pathogenen* (mit Sternchen markierte Begriffe werden im Kapitel 8 erklärt) Bakterien gibt es je länger je mehr antibiotika-resistente Stämme. Gerade im Zusammenhang mit Tuberkulose ist dieses Problem riesig. Obwohl die Anzahl der Todesfälle seit 1990 kontinuierlich sinkt, starben 2015 weltweit noch immer 1.8 Millionen Personen an Tuberkulose und 10.4 Millionen Menschen wurden infiziert [9]. Daher ist die Suche nach neuen antibakteriellen Wirkstoffen sehr wichtig. Dieser Thematik widmet sich die vorliegende Arbeit.

1.1 Tuberkulose

Tuberkulose ist eine von Mykobakterien, meistens von *Mycobacterium tuberculosis*, ausgelöste Krankheit. Weitaus seltener wird Tuberkulose durch *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum* oder *Mycobacterium microti* ausgelöst. Das Bakterium wird vorwiegend über Tröpfchen übertragen. So kann das Tuberkulosebakterium durch Husten oder sogar durch Singen übertragen werden. Mit einem Befall von 80 % ist die Lunge das am meist betroffene Organ, jedoch kann sich Tuberkulose auch in der Haut, der Brust- und Lendenwirbelsäule, den Lymphknoten, dem Gehirn, den Nieren, den Knochen oder auch dem Darm zeigen [9].

1.1.1 *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis ist ein 1-4 µm langes und 0.3-0.6 µm dickes leichtgekrümmtes stäbchenförmiges Mykobakterium, welches sich nicht aktiv bewegen kann [10]. Es vermehrt sich unter aeroben [11] mesophilen* Bedingungen bei einer sehr langen Generationszeit von bis zu 20 Stunden. *Mycobacterium tuberculosis* bildet keine Sporen.

Das Bakterium kann über Monate bei extremen Bedingungen wie im Staub oder bei sehr hohen Temperaturen überleben. Die Bakterien bevorzugen die Makrophagen des Menschen oder seltener auch der Tiere (insbesondere von Nutztieren wie Rindern). Zudem ist das grampositive* Bakterium in der Lage, während Jahren in den Makrophagen zu ruhen und sich während einer Immunschwächung zu reaktivieren [10]. So hat auch eine Co-Infektion mit HIV einen interessanten Stellenwert, denn das Risiko der Reaktivierung ist aufgrund der Immunschwäche 22-fach erhöht [9]. Das Bakterium beginnt sich innerhalb der Makrophagen zu teilen, wobei diese verfallen und infektionsfördernde Stoffe abgeben. Als Immunantwort wird eine Entzündungsreaktion ausgelöst, welche zu einer Zerstörung der Gewebe führt. Es kann zur Ausbreitung des Erregers in anderen Organen kommen. Das hochpathogene *Mycobacterium tuberculosis* ist in die Risikogruppe 3 einzuordnen, womit es eine ernstzunehmende Gefahr für den Menschen darstellt [10].

1.1.2 Resistenzproblem und Behandlungsmöglichkeiten

Die Standardbehandlung bei Tuberkulose basiert auf einer Kombination aus den Antibiotika Isoniazid, Rifampicin, Pyrazinamid und Ethambutol. Nach zwei Monaten wird die Therapie während vier weiteren Monaten nur mit Isoniazid und Rifampicin weitergeführt. Bei einer Unverträglichkeit mit einem der aufgeführten Antibiotika kann Streptomycin als Alternativmedikament verwendet werden [9].

In den letzten Jahren entwickelten immer mehr Stämme des Tuberkuloseerregers eine Resistenz gegen Isoniazid und Rifampicin. Sie werden als multiresistente Tuberkulosebakterien (kurz MDR-TB) bezeichnet. MDR-TB-Stämme, welche des Weiteren eine Fluorchinolonresistenz und mindestens eine Capreomycin-, Amikacin- oder Kanamycinresistenz aufweisen, werden als extrem resistente Tuberkulosebakterien (kurz XDR-TB) bezeichnet. Bereits in 123 WHO Mitgliederstaaten registriert, stellt XDR-TB mit ungefähr 10 % aller MDR-TB-Fälle ein erhebliches Problem dar [12].

Bei MDR/XDR-TB-Stämmen soll die Therapie um mindestens zwei zusätzliche Antibiotika während 21 Monaten erweitert werden [9].

1.2 Untersuchte Bakterien

Das Hauptinteresse dieser Arbeit gilt der Tuberkulose. Aus Sicherheitsgründen war es nicht möglich, die Versuche mit *M. tuberculosis* durchzuführen. Um trotzdem vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, wurde *Mycobacterium bovis* BCG als Modellorganismus verwendet.

M. bovis ist ein stäbchenförmiger grampositiver Stamm des *M. tuberculosis*-Komplexes, mit welchem es dadurch fast alle Eigenschaften teilt. Das Bakterium lebt ebenfalls intrazellulär, ist aber in der Lage, eine gewisse Zeit ausserhalb seines Wirtes zu überleben [13]. Es ist zudem nicht in der Lage, sich aktiv zu bewegen und es bildet keine Sporen [14]. *M. bovis* vermehrt sich ausschliesslich unter sauerstoffreichen Bedingungen mit einer sehr langen Generationszeit von 12 bis 20 Stunden auf lipidhaltigem Medium [15].

Ein wesentlicher Unterschied zu *M. tuberculosis* besteht darin, dass *M. bovis* keine Nikotinsäure bildet. Somit können die beiden Stämme anhand eines Niacintests unterschieden werden. Gleichzeitig wird das Bakterienwachstum von *M. bovis* BCG durch Glycerinzugabe gehemmt. Bei *M. tuberculosis* wird dieses durch Glycerin unterstützt [13].

Natürlicherweise kommt *M. bovis* beim Rind vor, kann aber auch andere Tiere wie Ziegen und Schweine befallen [15]. *M. bovis* ist beim Rind der Krankheitserreger der Rindertuberkulose [13]. Bei infizierten Rindern ist meist die Lunge befallen und die Tiere weisen Symptome wie Husten, Gewichtsverlust, Müdigkeit und Fieberschübe auf [16]. Weitaus seltener wird der Erreger auf den Menschen übertragen. Wie auch beim Rind erfolgt die Infektion aerogen oder durch die Nahrungsaufnahme. Insbesondere durch den Konsum von nicht pasteurisierter Milch gelangt *M. bovis* in den menschlichen Organismus. Das Bakterium zählt zu den Zoonosen* und ist beim Menschen der Auslöser einer Darmtuberkulose. Vereinzelt kann auch eine Lungentuberkulose hervorgerufen werden. Die Auswirkungen von *M. bovis* auf andere Organe sind hierbei nicht von denjenigen von *M. tuberculosis* zu unterscheiden [13]. Das hoch pathogene Bakterium ist in die Risikostufe 3 einzuordnen [17].

Um 1900 subkultivierten die Bakteriologen und Immunologen Calmette und Guérin über Jahre wiederholt *M. bovis* unter Beigabe von Rindergalle. Sie generierten den geno- und phänotypisch gut charakterisierten abgeschwächten Stamm *M. bovis* BCG (kurz für Bacillus Calmette-Guérin). Seit 1924 wird der attenuierte* Stamm als Impfstoff gegen Tuberkulose oder auch gegen Blasenkrebs eingesetzt. Die Vakzine löst eine Immunreaktion gegenüber *M. tuberculosis* aus, jedoch sind die genauen Mechanismen noch ungeklärt. Es müsste angenommen werden, dass Tuberkulose durch den Impfstoff verschwunden ist. Dies ist aber leider nicht der Fall. Abhängig von der verabreichten Dosis und vom Immunzustand

kann es ebenfalls zu einer Erkrankung mit BCG, umgangssprachlich BCGitis genannt, kommen. Die Symptome weisen starke Ähnlichkeiten mit denjenigen einer Tuberkulose auf [17]. Aufgrund der attenuierenden Mutationen ist *M. bovis* BCG in die Risikostufe 1 einzuordnen [18].

In den folgenden Versuchen wurden zudem die atypischen Mykobakterienstämme (MOTT) *Mycobacterium smegmatis* und *Mycobacterium abscessus* verwendet, welche keine Tuberkulose oder Lepra auslösen können. Sie sind Ursache für Lungeninfektionen, Hautinfektionen (nach chirurgischen Eingriffen und Tätowierungen) und Lymphknotenschwellung. Eine solche Lungeninfektion wird als nichttuberkulöse Mykobakteriose der Lungen bezeichnet. Es handelt sich bei MOTT um stäbchenförmige grampositive Bakterien, die sich unter aeroben Bedingungen vermehren und von organischem Material ernähren. Sie sind unbeweglich und bilden keine Sporen. Durch den ähnlichen Bau der Zellwandstruktur wie bei *M. tuberculosis* weisen die atypischen Mykobakterien eine starke Säurefestigkeit auf. Eine weitere Eigenschaft ist die Wachsschicht, welche die Zellwand bedeckt und das Bakterium somit gegen gewisse Antibiotika resistent machen kann. Vorwiegend erfolgt eine Erkrankung mit nichttuberkulösen Mykobakterien über bereits betroffene Tiere [19] und betrifft hauptsächlich geschwächte Personen. *M. abscessus* z. B. betrifft oftmals Menschen, welche an Zystischer Fibrose leiden. MOTT werden auch im Trinkwasser gefunden und es wird vermutet, dass so Infektionen ausgelöst werden können. Zudem konnte gezeigt werden, dass Infektionen mit MOTT durch kontaminierte Tattoofarbe und durch kontaminiertes chirurgisches Besteck ausgelöst werden können [20]. Die therapeutischen Massnahmen sind erregerabhängig und bestehen aus Antibiotikabehandlungen während mindestens 12 Monaten [19].

M. smegmatis ist ein 3-5 µm langes nichttuberkulöses Mykobakterium. Aufgrund des schnellen Wachstums findet der Bakterienstamm in Laboren bei Untersuchungen zum Stoffwechsel oft Verwendung. Im Menschen besiedelt es vor allem den Genitalbereich und gehört zum normalen Smegma. Aber auch im Boden kann *M. smegmatis* nachgewiesen werden [21]. *M. smegmatis* ist im Normalfall apathogen (Risikostufe 1) [18], jedoch kann trotzdem eine nichttuberkulöse Mykobakteriose der Lungen ausgelöst werden [21].

M. abscessus ist ein schnellwachsendes 1.0-2.5 µm langes und 0.5 µm dickes atypisches Mykobakterium (MOTT) [22]. 80 % aller Lungeninfektionen sind *M. abscessus* zuzuschreiben [23]. Auch Haut- und Weichteilinfektionen sowie Infektionen in beinahe allen Organen des Menschen können durch dieses Mykobakterium verursacht werden. Angesichts einer hohen intrinsischen Resistenz gegenüber Antibiotika [22], einschliesslich Tuberkulosemedikamenten [23], sind durch *M. abscessus* ausgelöste Erkrankungen nur sehr schwer behandelbar [22]. Momentan existiert noch kein verlässliches Antibiotikum zur Behandlung einer *M. abscessus*-Infektion [23]. *M. abscessus* gilt mit der Risikostufe 2 als pathogenes Bakterium [18].

Des Weiteren wurden die Bakterien *Staphylococcus aureus* und *Escherichia coli* verwendet, um zusätzlich einen weiteren grampositiven und einen gramnegativen Organismus zu testen.

S. aureus ist ein 0.8-1.2 μm kugelförmiges grampositives Bakterium, welches unbeweglich ist und keine Sporen bildet. Es ist fakultativ anaerob und kann sich somit mit und ohne Sauerstoff vermehren.

S. aureus ist in Gewässern, in Nahrungsmitteln, auf der Haut und auf den Schleimhäuten von warmblütigen Tieren vorzufinden. Auch auf der Haut von 25-30 % aller Menschen und in ihren Atemwegen ist *S. aureus* nachweisbar. Das potentiell pathogene Bakterium löst alleine bei einem geschwächten Immunsystem Symptome aus. Es treten Krankheitszeichen wie Hautinfektionen, Muskelerkrankungen sowie gegebenenfalls Lungen-, Herz- und Brustdrüsenentzündung, toxisches Schocksyndrom und Sepsis auf. Der Erreger ist sehr widerstandsfähig und besitzt zahlreiche Antibiotikaresistenzen, was eine Erkrankung mit dem methicillin-resistenten *S. aureus* (MRSA oder häufig auch multiresistenter *S. aureus*) besonders schwer behandelbar macht [24]. Mit der Risikostufe 2 kann das Bakterium eine Gefahr für den Menschen darstellen, jedoch ist eine Epidemie unwahrscheinlich [18].

E. coli ist ein gramnegatives Bakterium der Größe 1.1-1.5 mal 2.0-6.0 μm , welches stäbchenförmig ist. Das äusserst schnellwachsende Kolibakterium vermehrt sich fakultativ anaerob und bildet Kapseln. Durch Geisseln sind die Bakterien in der Lage, sich aktiv fortzubewegen [25]. *E. coli* ist als natürlich vorkommendes Bakterium Teil der Darmflora von Warmblütern und gilt als Erstbesiedler des Dickdarms. Die Haftfähigkeit an Schleimhäuten erlaubt es dem Bakterium via Wasser oder Nahrungsmittel auf den Menschen übertragen zu werden. Das Darmbakterium dient der Produktion von Vitamin K und ist vorwiegend nicht pathogen. Jedoch gibt es auch krankheitserregende *E. coli*-Stämme, welche nicht Teil der normalen Darmflora sind. Sie lösen Infektionen im Magen-Darm-Trakt, Sepsis aber auch Hirnhautentzündungen aus. Seltener ist *E. coli* die Ursache einer Lungenentzündung [26]. Einzuordnen ist der verwendete Teststamm in die Risikostufe 1 [18].

1.3 Untersuchte Substanzen

Die Antibiotika Isoniazid, Kanamycin A und Kanamycin B wurden in folgender Arbeit als Referenzwerte für die Wirkung von Cannabidiol und Nikotin verwendet.

Isoniazid mit der Summenformel $\text{C}_6\text{H}_7\text{N}_3\text{O}$ ist ein Antibiotikum, welches vor allem im Zusammenspiel mit Rifampicin bei aktiver Tuberkulose verwendet wird. Prophylaktisch kann Isoniazid bei latenter Tuberkulose oder bei einer HIV-Co-Infektion eingesetzt werden. Auch bei Infektionen durch nichttuberkulöse Mykobakterien (MOTT) gilt Isoniazid als eines der wirksamsten und sichersten Antibiotika. Isoniazid hemmt die Herstellung von Mykolsäure. Diese wichtige Komponente kommt ausschliesslich in der Mykobakterienzellwand vor. Zusätzlich werden durch Isoniazid weniger Eiweisse, Fette und Erbgut produziert. Bei schnell wachsenden Bakterien wirkt Isoniazid bakterizid, bei langsam wachsenden Bakterien hingegen bakteriostatisch [27].

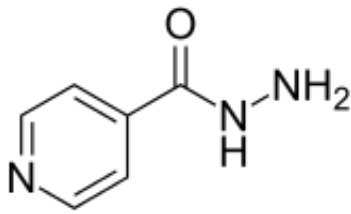


Abb. 1: Skelettformel von Isoniazid [27]

Kanamycin ist ein Oberbegriff für die Untergruppen Kanamycin A, B und C. Kanamycine sind bakterizide Aminoglykoside und werden vom Bakterienstamm *Streptomyces* isoliert [28]. Kanamycin dringt in die Bakterienzelle ein und bindet sich an die Ribosomen. Die Proteinsynthese wird gehemmt, da die Translation an den Ribosomen nur fehlerhaft erfolgen kann. Das Wachstum der Zelle wird so gestoppt, wodurch die Zelle abstirbt [29]. Hauptsächlich werden Aminoglykoside bei Infektionen mit gramnegativen Erregern wie *E. coli* verwendet. Ferner reagieren auch gewisse Mykobakterien wie *M. tuberculosis* anfällig. Kanamycine weisen hingegen eine geringe antibiotische Wirkung bei Infektionen auf, welche durch grampositive Bakterien ausgelöst wurden [30].

Unterscheidbar sind Kanamycin A und B grundsätzlich in ihrem strukturellen Aufbau. Kanamycin A hat die Summenformel $C_{18}H_{36}N_4O_{11}$ und besitzt eine 2'-OH-Gruppe, während Kanamycin B eine 2'-Aminogruppe bei der Summenformel $C_{18}H_{37}N_5O_{10}$ besitzt.

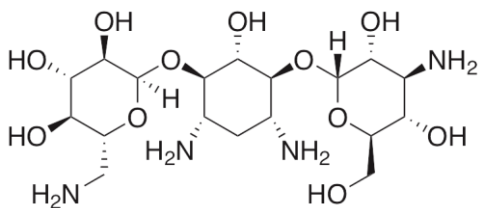


Abb. 2: Skelettformel von Kanamycin A [28]

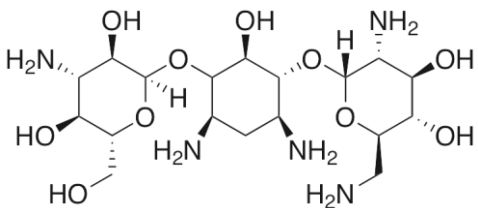


Abb. 3: Skelettformel von Kanamycin B [28]

Cannabidiol (kurz CBD) ist ein Cannabinoid mit der Summenformel $C_{21}H_{30}O_2$. Als Säure ist es überwiegend Inhaltsstoff der weiblichen Hanfpflanze (*Cannabis sativa/C. indica*). CBD wirkt wenig psychoaktiv und ist somit in der Schweiz zulässig [31]. CBD bindet sich an Rezeptoren des Endocannabinoid-Systems und beeinflusst so u. a. Schmerzempfindlichkeit, Gedächtnis oder auch Motorik. Cannabidiol ist zusätzlich anti-psychotisch, anti-epileptisch, nervenschützend und entzündungshemmend. Durch die vielversprechenden medizinischen Eigenschaften wird Cannabis ein grosses Potential für die Bekämpfung unterschiedlichster Erkrankungen, insbesondere Darmkrankheiten, zugeschrieben. Bis heute wurde die Wirkung von Cannabidiol nur *in vitro** und in Tierexperimenten untersucht. Die Wirkung auf

den menschlichen Körper ist noch weitgehend unerforscht. Die letale Dosis liegt bei Mäusen bei 50 mg/kg [32].

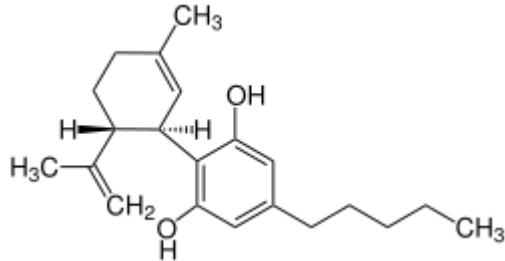


Abb. 4: Skelettförmel von CBD [31]

Nikotin (Summenformel $C_{10}H_{14}N_2$) ist ein in Tabakpflanzen vorkommendes Alkaloid. Es wirkt stimulierend auf die nikotinischen Acetylcholin-Rezeptoren im vegetativen Nervensystem. Durch die erregende respektive hemmende Wirkung auf den Parasympathikus und den Sympathikus, gilt Nikotin als starkes Nervengift. Zudem fördert Nikotin die Ausschüttung von Adrenalin und der Neurotransmitter Dopamin und Serotonin. Als Insektizid dient es der Pflanze zur Abwehr von Insekten. Beim Menschen wird das Nervengift vor allem zur Entwöhnung von Rauchern verwendet. Der LD_{50} wird beim Menschen bei oraler Einnahme auf 0.5-1 mg/kg angenommen und ist somit in hoher Konzentration stark toxisch. Der Wirkung von Nikotin auf Bakterien wie *M. tuberculosis* müssen wegen des Fehlens eines Nervensystems andere Mechanismen zugrunde liegen [33].

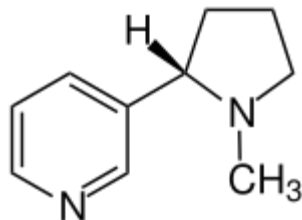


Abb. 5: Skelettförmel von Nikotin [33]

1.4 Grünfluoreszierende Proteine

Das grün fluoreszierende Protein (kurz GFP) ist ein aus der Qualle *Aequorea victoria* isoliertes Protein. Bei Bestrahlung mit blauem oder ultraviolettem Licht fluoresziert das Protein grün und wird so sichtbar [34]. Dazu wird die GFP-DNA isoliert und in das Bakterium eingeschleust. Wird das Gen exprimiert, resultiert es im GFP-Protein.

Die GFP-DNA wird oftmals mit einem anderen Protein fusioniert, um ein bestimmtes Protein nachzuweisen, oder sogar um die Quantität zu bestimmen. Dies muss jedoch nicht zwingend sein. In den hier verwendeten Vektoren bspw. ist das GFP frei. Bei einem Bakterienwachstum vermehrt sich auch die Anzahl der GFP und folglich steigt die Fluoreszenz [35].

1.5 Ziele der Arbeit

Die folgende Arbeit hat sich mit der Frage beschäftigt ob Cannabidiol und/oder Nikotin eine antibiotische Wirkung auf *M. bovis* BCG hat und somit das Potential, Tuberkulose zu bekämpfen. Die Nützlichkeit von Nikotin und CBD soll mit dieser Arbeit untersucht werden.

1. Hypothese

Es wurde angenommen, dass Nikotin eine antibiotische Wirkung auf *M. bovis* BCG hat. Die antibakterielle Wirkung auf andere Bakterien wurde ebenfalls vermutet. Gemäss einer Studie von Naser ist das Wachstum von *M. tuberculosis* durch das pflanzliche Antibiotikum Nikotin hemmbar [1,2,3]. Auch die Resultate der Maturaarbeit von C. Weltert aus dem Jahr 2016 deuten auf eine schädigende Wirkung von Nikotin auf Bakterien der humanen Mundflora hin [36].

2. Hypothese

Basierend auf der Maturaarbeit von P. Kunz aus dem Jahr 2017 wird vermutet, dass auch das Cannabinoid CBD *M. bovis* BCG in seinem Wachstum hemmt. Die Arbeit von P. Kunz zeigt, dass die beiden grampositiven Bakterien *Enterococcus faecium* und *Streptococcus salivarius* durch CBD gehemmt werden [8]. Auf die grampositiven Bakterien dieser Arbeit *M. smegmatis*, *M. abscessus*, *S. aureus* und *M. bovis* BCG wird dadurch ebenfalls eine antibiotische Wirkung vermutet.

Mit dieser Arbeit soll ein wichtiger Beitrag zur Bekämpfung der Tuberkulose geleistet werden. Das konkrete Ziel ist es, neue potentielle Antibiotika gegen *M. tuberculosis* respektive *M. bovis* BCG sowie gegen die Bakterien *M. smegmatis*, *M. abscessus*, *S. aureus* und *E. coli* zu finden.

Im letzten halben Jahrhundert wurde einzig ein Antituberkulotikum bei zunehmenden Antibiotikaresistenzen von *M. tuberculosis* auf den Markt gebracht. Besonders diese Tatsache unterstreicht die dringliche Notwendigkeit, die Forschung zu intensivieren. In den letzten 13 Jahren erkrankten mehr als 100'000'000 Menschen an Tuberkulose, wovon beinahe 20'000'000 verstarben [37]. Die Relevanz neuer antibiotischen Wirkstoffe wird hiermit mehr als verdeutlicht.

2 Material und Methode

2.1 Herstellung der Testkonzentrationen

Zur Überprüfung der antibakteriellen Wirkung wurden fünf unterschiedliche Stammlösungen hergestellt. Eine Stammlösung mit Isoniazid (13377-50G, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-Steinheim), eine mit Kanamycin A (K4000-5G, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-Steinheim), eine mit Kanamycin B (B5264-1G, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-Steinheim), eine mit reinem CBD (CBD KW46-48, AI FAME, CH-Wald-Schönengrund) sowie eine Stammlösung mit reinem Nikotin (36733-1G, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-Steinheim).

2.1.1 Herstellung der Testlösungen mit Kanamycin A, Kanamycin B, Isoniazid und CBD

Auf einer Analysewaage (K9300373, A&D Instruments Ltd, GB-Abingdon) wurden die Testsubstanzen abgemessen und in ein Zentrifugenröhrchen (91050, TPP Techno Plastic Products AG, CH-Trasadingen) gegeben. Anhand eines Dreisatzes konnte die benötigte Lösemittelmenge berechnet werden, um die gewünschte Lösekonzentration zu erhalten (Tab. 1).

Tab. 1: Stammlösekonzentrationen und Lösemittel

| Stoff | Kanamycin A | Kanamycin B | Isoniazid | CBD |
|-------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-------------|
| Stammlösekonzentration | 51.2 mg/ml | 51.2 mg/ml | 51.2 mg/ml | 409.6 mg/ml |
| Lösemittel | Destilliertes Wasser | Destilliertes Wasser | Destilliertes Wasser | DMSO |

Mit einer Mikropipette (Eppendorf Reference® 2, 4924000088, Eppendorf, Kartell Spa, IT-Noviglio) wurden die benötigten Mengen an sterilem Wasser (0082423E, B. Braun Medical AG, CH-Sempach) respektive Dimethylsulfoxid (D2650, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-Steinheim), nachfolgend DMSO genannt, entnommen und in die entsprechenden Zentrifugenröhrchen gegeben. Damit sich die Stoffe vollständig lösen konnten, wurden die Zentrifugenröhrchen verschlossen und gut geschüttelt.

Um keimfreie Lösungen zu erhalten, wurde die zu testende Stammlösung mit einer Spritze (1 ml-Insulinspritze, CODAN, Medical ApS, DK-Rodby) langsam durch einen Filter (Spritzen-/ Syringe-Filter, TPP Techno Plastic Products AG, CH-Trasadingen) mit Porengröße 0.2 µm in ein Kryoröhrchen (479-6837, VWR International GmbH, CH-Dietikon, Füllvolumen 1,8 ml) gepresst.

Die Kryoröhrchen wurden zur Verhinderung von Verunreinigungen und Verdunstungen mit Parafilm (P7793, Pechiney Plastic Packaging, Inc., USA-Chicago IL) verschlossen und bei -20 °C gelagert.

2.1.2 Herstellung der Nikotinlösung

Zur Herstellung der Nikotinlösung wurde ein Kryoröhrchen auf der Analysewaage gemessen und tariert. Da Nikotin eine Dichte von $1,01 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ hat, konnten mit einer Mikropipette direkt $410 \mu\text{l}$ des Nikotins entnommen und in das Kryoröhrchen gefüllt werden. Zur Kontrolle wurde das gefüllte Kryoröhrchen erneut gewogen. Zu den $410 \mu\text{l}$ Nikotin wurden mit einer Mikropipette $590 \mu\text{l}$ DMSO gegeben. Die Konzentration betrug $409.6 \mu\text{g/ml}$. Die Lösung wurde anschliessend wieder ausreichend geschüttelt, mit Parafilm verschlossen und bei $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert.

2.2 Herstellung der Bakteriensuspensionen

Zur Untersuchung der Wirksamkeit der verschiedenen Antibiotika wurden fünf verschiedene Bakterienstämme verwendet: *M. smegmatis*, *M. abscessus*, *S. aureus*, *E. coli* und *M. bovis* BCG. Alle Experimente wurden im Triplikat durchgeführt.

Tab. 2: In dieser Arbeit verwendete Zellkulturen

| Bakterium | Bezeichnung | Referenz |
|---------------------|---------------------|----------|
| <i>M. smegmatis</i> | mc ² 155 | [38] |
| <i>M. abscessus</i> | ATCC® 19977T™ | [39] |
| <i>S. aureus</i> | ATCC® 29213™ | [40] |
| <i>E. coli</i> | MC1061 | [41] |
| <i>M. bovis</i> BCG | BCG Pasteur 1173P2 | [42] |

Mit einem automatischen Pipettierhelfer (Stripettor™ Ultra Pipettierhelfer, CORN4099, Corning, US-New York) wurde das entsprechende Medium in je drei Behälter pro Stamm gefüllt. Um für jeden Bakterienstamm optimale Wachstumsbedingungen mit den jeweiligen Nährstoffen zu schaffen, wurden unterschiedliche Medien verwendet. Mit einer Eppendorf-Mikropipette wurden anschliessend die Nährmedien mit dem jeweiligen Bakterienstamm inokuliert (Tab. 3).

Für die Bakterien *M. smegmatis* und *M. bovis* BCG wurde das Medium zusätzlich mit Hygromycin B (50 mg/ml, 10687010, Invitrogen, US-Carlsbad) versetzt. Pro 100 ml Medium wurden $50 \mu\text{l}$ Hygromycin B zugegeben. Bereits vor den Versuchen wurden die Plasmidvektoren in die Bakterien transformiert. Der Selektionsmarker der Bakterien *M. smegmatis* und *M. bovis* BCG ist ein Hygromycin B-Resistenzgen. Für diese Bakterien können die jeweiligen Nährmedien mit Hygromycin B versetzt werden, um zu verhindern, dass die Vektoren aus den Zellen austreten. Ohne Plasmidvektoren wären die Bakterien sensitiv gegen Hygromycin B und könnten im Medium nicht mehr wachsen.

M. abscessus ist fast komplett natürlich resistent gegen Hygromycin B. *S. aureus* und *E. coli* haben die anderen jeweiligen Resistenzgene Erythromycin respektive Kanamycin. Aufgrund dessen wird bei diesen drei Bakterien keine Versetzung des Mediums mit Hygromycin B benötigt.

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien
2 Material und Methode

Tab. 3: Kultivierung der Bakterienstämme

| Bakterium | <i>M. smegmatis</i> | <i>M. abscessus</i> | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> | <i>M. bovis</i> BCG |
|---|--|--|--|------------------------|----------------------------|
| Behälter | Erlenmeyerkolben (E-1083, Simax, CZE-Prague) | Zellkulturflaschen (90029, TPP Techno Plastic Products AG, CH-Trasadingen) | Erlenmeyerkolben mit Stopfen | Erlenmeyerkolben | Zellkulturflasche |
| Medium | Middlebrook 7H9 Broth Base (M0178, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-Steinheim) | Middlebrook 7H9 Broth Base | Mueller Hinton Broth 2 (Cation-Adjusted) (90922, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-Steinheim) | Mueller Hinton Broth 2 | Middlebrook 7H9 Broth Base |
| Ansatz 1: Menge des Mediums in ml / Menge des Bakteriums in µl | 10/2.5 | 10/50 | 5/10 | 5/50 | 10/100 |
| Ansatz 2: Menge des Mediums in ml / Menge des Bakteriums in µl | 10/3 | 10/25 | 5/10 | 5/50 | 10/200 |
| Ansatz 3: Menge des Mediums in ml / Menge des Bakteriums in µl | 10/5 | 10/25 | 5/20 | 5/50 | 10/200 |

Die Erlenmeyerkolben wurden mit Alufolie verschlossen und im Schüttelinkubator (ISF1-X Climo-Shaker, Adolf Kühner AG, CH-Birsfelden) bei 37 °C und 160 rpm schüttelnd inkubiert. Die Anzucht der Bakterien in den Zellkulturflaschen erfolgte im Wärmeschrank (Binder GmbH, DE-Tuttlingen) bei 37 °C, da diese im Schüttelinkubator aneinanderkleben und verklumpen würden.

2.3 Versuchsvorbereitung

2.3.1 Herstellung der Antibiotikakonzentrationen

Die Antibiotika wurden aus dem Gefrierschrank entnommen, komplett aufgetaut und ausreichend geschüttelt. Anschliessend wurden sie in der entsprechenden Konzentration von Antibiotikum und Medium in einem Eppendorfröhrchen gemischt.

Die Konzentrationen wurden zur doppelten Startkonzentration vorbereitet. Isoniazid, Kanamycin A und Kanamycin B haben alle dieselbe Stammkonzentration sowie auch dieselbe Startkonzentration.

2.3.2 Vorbereiten der Mikrotiterplatten

Es wurden für jeden Versuch zwei Mikrotiterplatten (Falcon® 96-Well Cell Culture Plates, REF351177, Corning, US-New York) aneinandergehängt, um somit mehr unterschiedliche Antibiotikakonzentrationen pro Bakterienstamm testen zu können.¹ Jede Mikrotiterplatte hat 12 Spalten (1-12) und 8 Reihen (A-H).

Das entsprechende Medium wurde in ein Pipettier-Reservoir (Rea Reservoir 100 ml, 89094-658, VWR International GmbH, CH-Dietikon) gegeben, um für die 8-Kanal Mikropipette (Discovery Comfort, 5127, HTL Lab Solutions, PL-Warszawa) zugänglich zu machen. Mit der 8-Kanal-Mikropipette wurden in alle Wells der beiden Mikrotiterplatten 50 µl des für den Bakterienstamm entsprechenden Mediums gegeben. Nur die erste Spalte der ersten Platte wurde freigelassen, da hier mit einer Eppendorf-Mikropipette 100 µl des Antibiotikums eingefüllt wurde. Gleichzeitig wurde das Medium und DMSO als Kontrolle mitgetestet (Tab. 4).

Tab. 4: Befüllen der Mikrotiterplatten

| Erste Spalte, Reihe | Antibiotikum | Startkonzentration |
|---------------------|--------------|--------------------|
| A | Isoniazid | 256 µg/ml |
| B | Kanamycin A | 256 µg/ml |
| C | Kanamycin B | 256 µg/ml |
| D | CBD | 1024 µg/ml |
| E | Nikotin | 4096 µg/ml |
| F | Medium | 1 ml |
| G | DMSO | 100 % |
| H | leer | leer |

Mit der 8-Kanal-Mikropipette wurden nun 50 µl des Antibiotikums entnommen und in die zweite Spalte gegeben. Hier wurde die Konzentration ausreichend gemischt und anschliessend wurden erneut 50 µl in

¹ Bei *M. smegmatis* wurde nur eine Platte verwendet, da bereits in einem Vorversuch der MIC bestimmt werden konnte und die Wirksamkeit der Konzentrationen der zweiten Mikrotiterplatte ausgeschlossen werden konnte.

die dritte Spalte weitergegeben. Dies wurde bis zur 10. Spalte der zweiten Mikrotiterplatte gemacht. Die Antibiotikakonzentration wurde immer 1:2 verdünnt. Die letzten übrigen 50 µl aus der 10. Spalte wurden weggeworfen. Die 11. Spalte stellte hierbei die positive Wachstumskontrolle und die 12. Spalte die Negativkontrolle (steriles Medium) dar.

2.3.3 Vorbereiten der Bakterienstämme

In der sogenannten Log-Phase wurden die Bakterienproben aus dem Inkubator entnommen. Diese Phase des logarithmischen Wachstums wurde bei jedem Bakterienstamm zu einem unterschiedlichen Zeitpunkt erreicht (Tab. 5).

Tab. 5: Log-Phase der Bakterien

| Bakterium | <i>M. smegmatis</i> | <i>M. abscessus</i> | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> | <i>M. bovis BCG</i> |
|------------------|---------------------|---------------------|------------------|----------------|---------------------|
| Log-Phase | Über Nacht | Zwei Tage | 3 h | 4.5 h | Drei Tage |

Den Bakterienkulturen wurden mit einer Eppendorf-Mikropipette jeweils eine Probe von 1 ml entnommen und in eine Küvette (633-0676, VWR International GmbH, CH-Dietikon) gegeben. Im Spektrometer (Libra S22, Biochrom GmbH, DE-Berlin) wurde bei einer Wellenlänge von 600 nm die Zelldichte der einzelnen Samples festgestellt. Für den Nullwertabgleich wurde hierbei das Medium als Referenz mitgemessen. Die OD_{600nm} sollte bei allen einen Wert von 0.3-0.8 ergeben, ansonsten wurden die Bakterien im Inkubator weiter kultiviert. Schliesslich wurden für den Versuch alle Samples auf einen Wert von 0.04 verdünnt. Mit Hilfe eines Dreisatzes wurde berechnet, mit wie viel Medium das Sample verdünnt werden musste, um eine OD_{600nm} von 0.04 zu erreichen.

In einem Zentrifugenröhrchen wurde mit dem automatischen Pipettierhelfer und einer Eppendorf-Mikropipette die jeweilige Konzentration hergestellt. Um eine gleichmässige Suspension zu erhalten, wurde das Zentrifugenröhrchen kurz geschüttelt und einen Teil der Suspension zur Kontrolle erneut im Spektrometer ausgemessen.

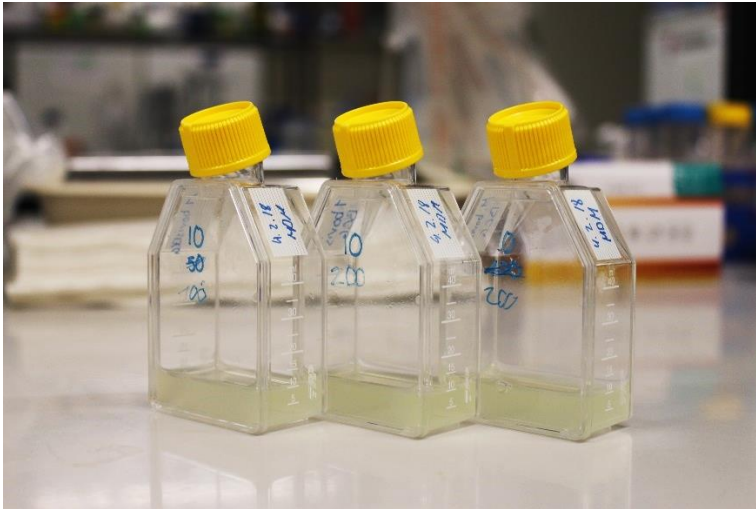


Abb. 6: *M. bovis* BCG nach einer Inkubationszeit von drei Tagen. Die grünliche Farbe ist hierbei auf das GFP zurückzuführen.

2.3.4 Inokulieren der Platten

Die Bakteriensuspensionen wurden in ein Pipettier-Reservoir gegeben. Mit der 8-Kanal-Mikropipette wurden alle Wells ausser diejenigen der 12. Spalte der zweiten Platten, also der Negativkontrolle, mit 50 μ l der Bakteriensuspension infiziert. Um zuverlässige Ergebnisse zu erzielen, musste darauf geachtet werden, dass die Pipettenspitzen nicht mit den Antibiotikallösungen in Kontakt kommen.

Die Mikrotiterplatten wurden mit einer Klebefolie (MicroAmp™ Optical Adhesive Film, 4360954, Applied Biosystems, US-Foster City CA) und dem Deckel verschlossen, dass sie so vor Kontamination und Verdunstung geschützt sind.

2.4 Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MIC)

Die minimale Hemmkonzentration wurde auf zwei verschiedene Arten ermittelt, zum einen mit Hilfe der Messung der Fluoreszenz im Fluoreszenzspektrometer (Cytation 5 Cell Imaging Multi-Mode Reader, BioTek Instruments, Inc., US-Winooski VT) und zum anderen visuell mit der Mikrodilutionsmethode (Dynatech Illuminated Viewer Model MIC-2000, Dynatech Produkte AG, CH-Kloten). Verwendet wurde beim Fluoreszenzspektrometer das Programm Gen 5 (Version 2.09).

2.4.1 Messen der Fluoreszenzintensität

Jede Mikrotiterplatte wurde direkt nach dem Befüllen einzeln mit dem Deckel in das Fluoreszenzspektrometer gelegt. Dort wurde sie kurz geschüttelt und von unten nach oben mit einem Licht der Wellenlänge 485 nm bestrahlt. Durch dieses Licht wurden die GFP angeregt und die GFP emittierten Licht mit einer Wellenlänge von 528 nm (grün). Jedes Well wurde einzeln angeregt und die Intensität der Fluoreszenz gemessen.

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien
2 Material und Methode

Die Mikrotiterplatten wurden bei 37 °C inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die Mikrotiterplatten aus dem Wärmeschrank entnommen und erneut im Fluoreszenzspektrometer gemessen (Tab. 6). Die Werte vor und nach der Inkubationszeit wurden anschliessend voneinander subtrahiert.

Tab. 6: Inkubationszeiten der einzelnen Mikrotiterplatten

| Bakterium | <i>M. smegmatis</i> | <i>M. abscessus</i> | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> | <i>M. bovis</i> BCG |
|-----------------|---------------------|---------------------|------------------|----------------|---------------------|
| Inkubationszeit | Über Nacht | Drei Tage | Über Nacht | Über Nacht | Zehn Tage |

2.4.2 Mikrodilutionsmethode

Die Mikrotiterplatten wurden nach der Inkubationszeit ohne Deckel in den Illuminated Viewer eingelegt. In einem Spiegel war die Mikrotiterplatte vergrössert erkennbar. Wenn der Erreger gegenüber dem Antibiotikum resistent oder die Antibiotikakonzentration zu niedrig war, kam es zur sogenannten Knopfbildung, also einer trüben Beschichtung. Konnte das Wachstum durch das Antibiotikum unterdrückt werden, blieb die Suspension klar und die Wells waren komplett schwarz. Die kleinste Antibiotikakonzentration, bei welcher makroskopisch kein Bakterienwachstum mehr erkennbar war, konnte als die minimale Hemmkonzentration (MIC) bezeichnet werden.

3 Resultate

Jede Konzentration von Isoniazid, Kanamycin A, Kanamycin B, CBD und Nikotin wurde drei Mal pro Bakterienstamm getestet. Aus den erhaltenen Einzelwerten konnten Mittelwerte berechnet werden. Alle Rohdaten sind im Anhang zu finden.

Um einen Ergebnisvergleich zu ermöglichen, werden die Versuchsdaten im folgenden Kapitel in Dosis-Wirkungs-Kurven und Tabellen für jedes Bakterium einzeln dargestellt. Die Diagramme zeigen hierbei die Werte des Fluoreszenzspektrometers und die Tabellen die MIC-Werte der Mikrodilutionsmethode. Alle Kurven im folgenden Kapitel wurden geglättet.

Die Inhibition in % wurde anhand folgender Formel berechnet:

$$\text{Inhibition} = 100 - \frac{100 * (\text{post Inkubationsfluoreszenz} - \text{pre Inkubationsfluoreszenz})}{\text{post Lösemittelfluoreszenz} - \text{pre Inkubationsfluoreszenz}}$$

Hierbei gilt, dass bei einer Inhibition von 100 % das Bakterium nicht wachsen konnte und bei 0 % das Bakterium nicht an seiner Vermehrung gehindert wurde. Ebenfalls sind auch negative Inhibitionswerte enthalten. Solche Werte werden in der Diskussion (siehe Kapitel 4.6) nochmals aufgegriffen.

Die Antibiotikakonzentration wurde logarithmisch skaliert. Die Streuung konnte bei allen Versuchen klein gehalten werden. Inhibitionswerte unter -20 % wurden auf -20 % plafoniert. Da die Messspanne des Fluoreszenzspektrometers nur bis 999'999 reicht, wurden die sogenannten Overflow-Werte auf 1'000'000 begrenzt.

3.1 *Mycobacterium smegmatis*²

Die Streuung ist bei Isoniazid, Kanamycin A und Kanamycin B sehr gering. Isoniazid konnte die Bakterienvermehrung vermindern. Besonders Kanamycin zeigte eine wachstumshemmende Wirkung auf *M. smegmatis*. Nikotin hemmte das Wachstum bei einer sehr hohen Konzentration. Einzig bei CBD konnte keine antibiotische Wirkung festgestellt werden (Abb. 7, 8).

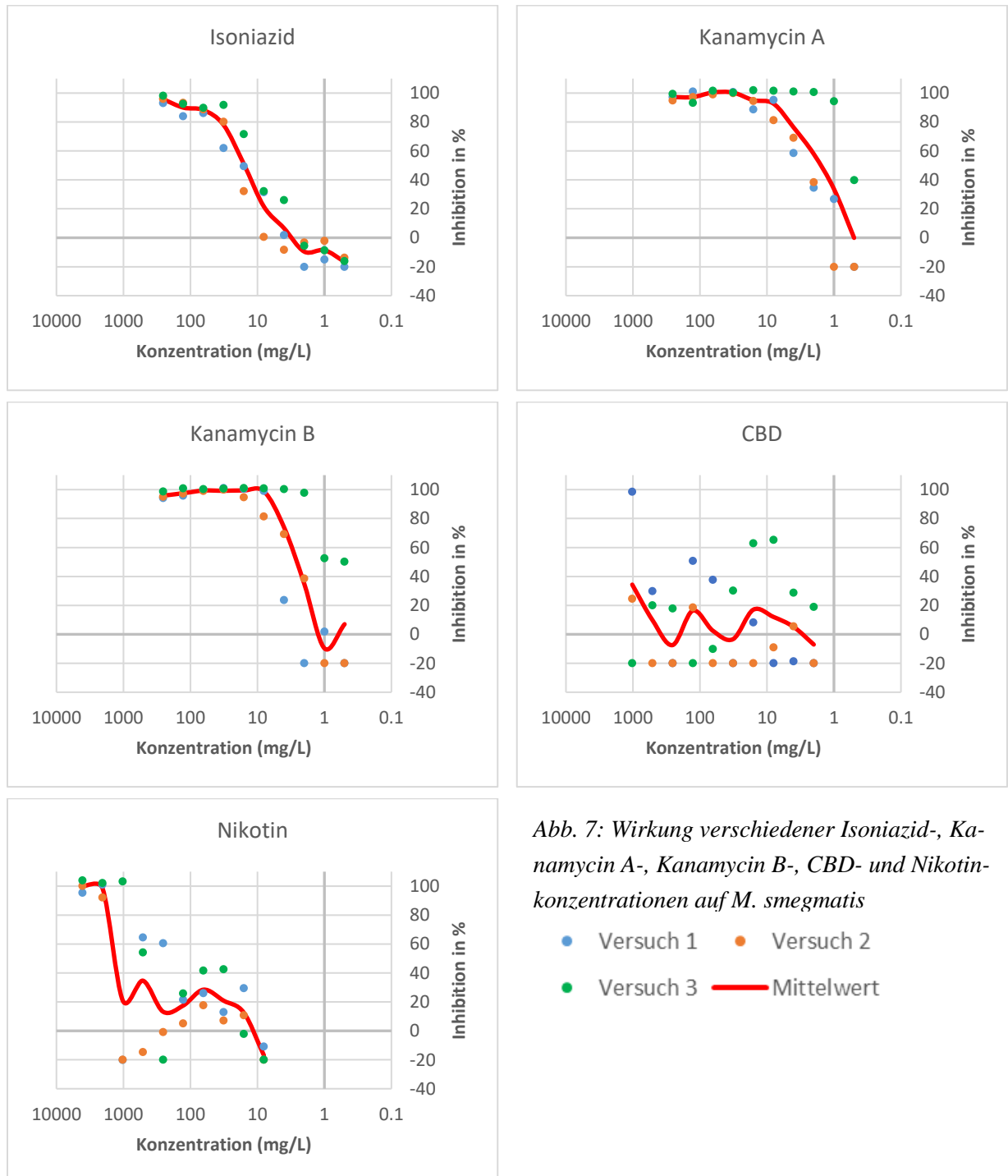


Abb. 7: Wirkung verschiedener Isoniazid-, Kanamycin A-, Kanamycin B-, CBD- und Nikotin-konzentrationen auf *M. smegmatis*

- Versuch 1 ● Versuch 2
- Versuch 3 — Mittelwert

² Die Skalierung der Achsen wurde bei *M. smegmatis* unterschiedlich zu den restlichen Bakterien gewählt, da pro Versuch nur eine Mikrotiterplatte verwendet wurde.

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien
3 Resultate

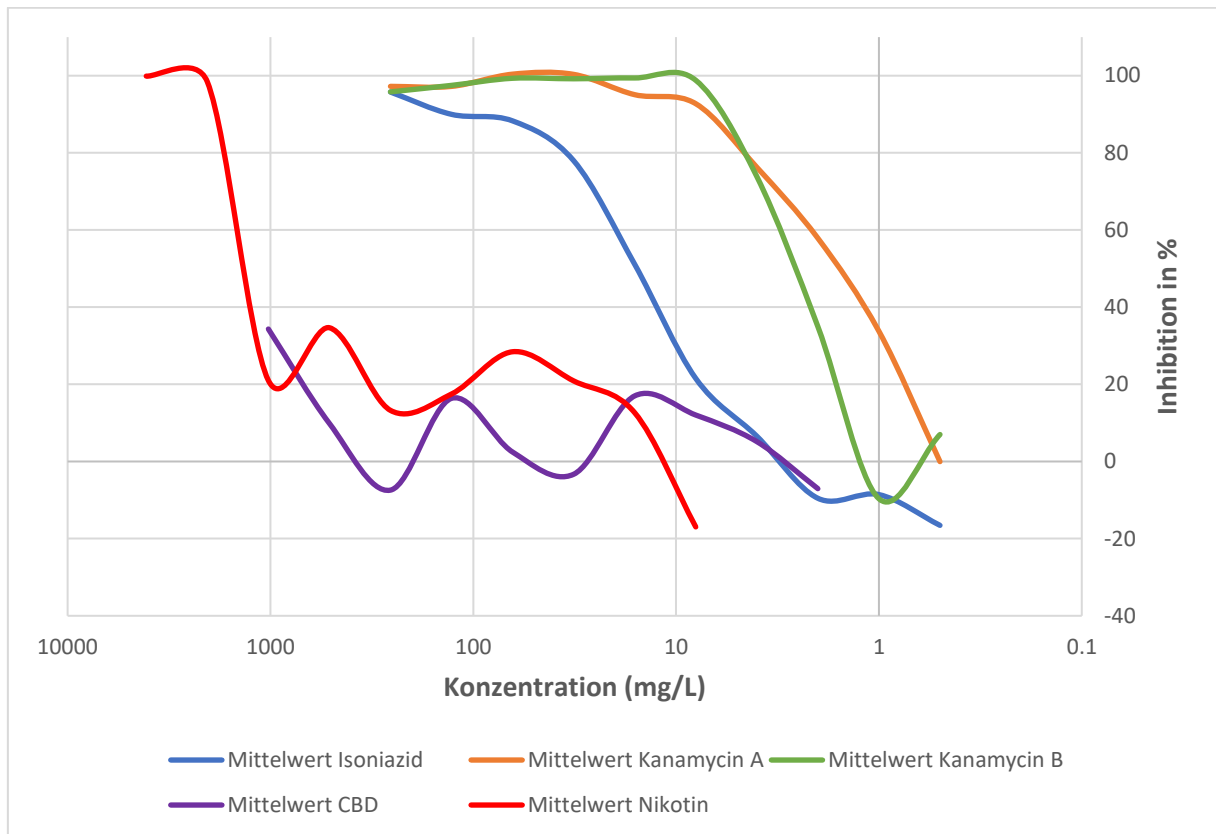


Abb. 8: Wirkung verschiedener Antibiotika auf *M. smegmatis*

3.2 *Mycobacterium abscessus*

Keine der getesteten Lösungen, ausser Nikotin in sehr hohen Konzentrationen, konnte das Wachstum von *M. abscessus* unterdrücken. Auffällig bei allen antibiotischen Stoffen ist die grosse Streuung (Abb. 9, 10).

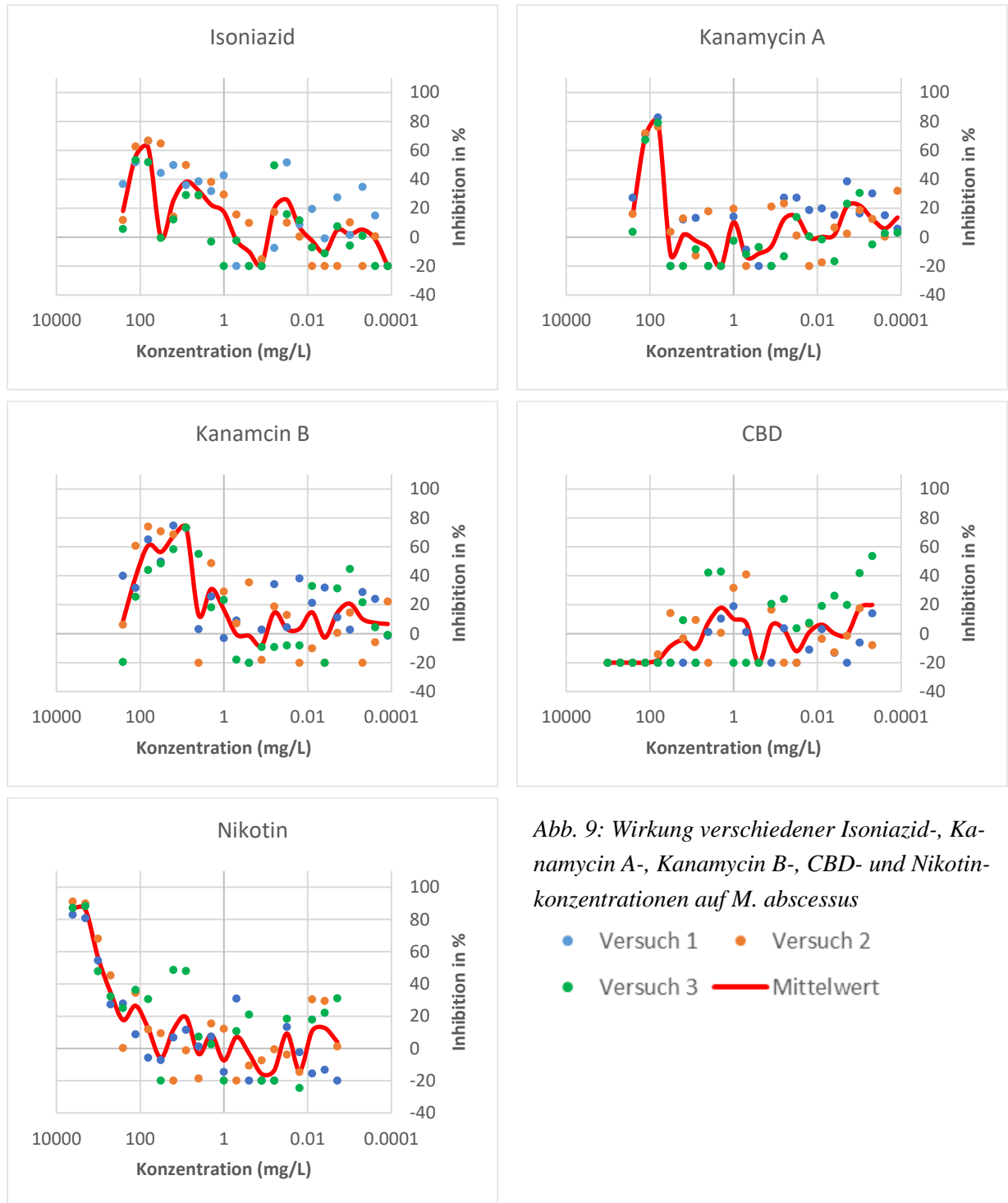


Abb. 9: Wirkung verschiedener Isoniazid-, Kanamycin A-, Kanamycin B-, CBD- und Nikotin-konzentrationen auf *M. abscessus*

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien
3 Resultate

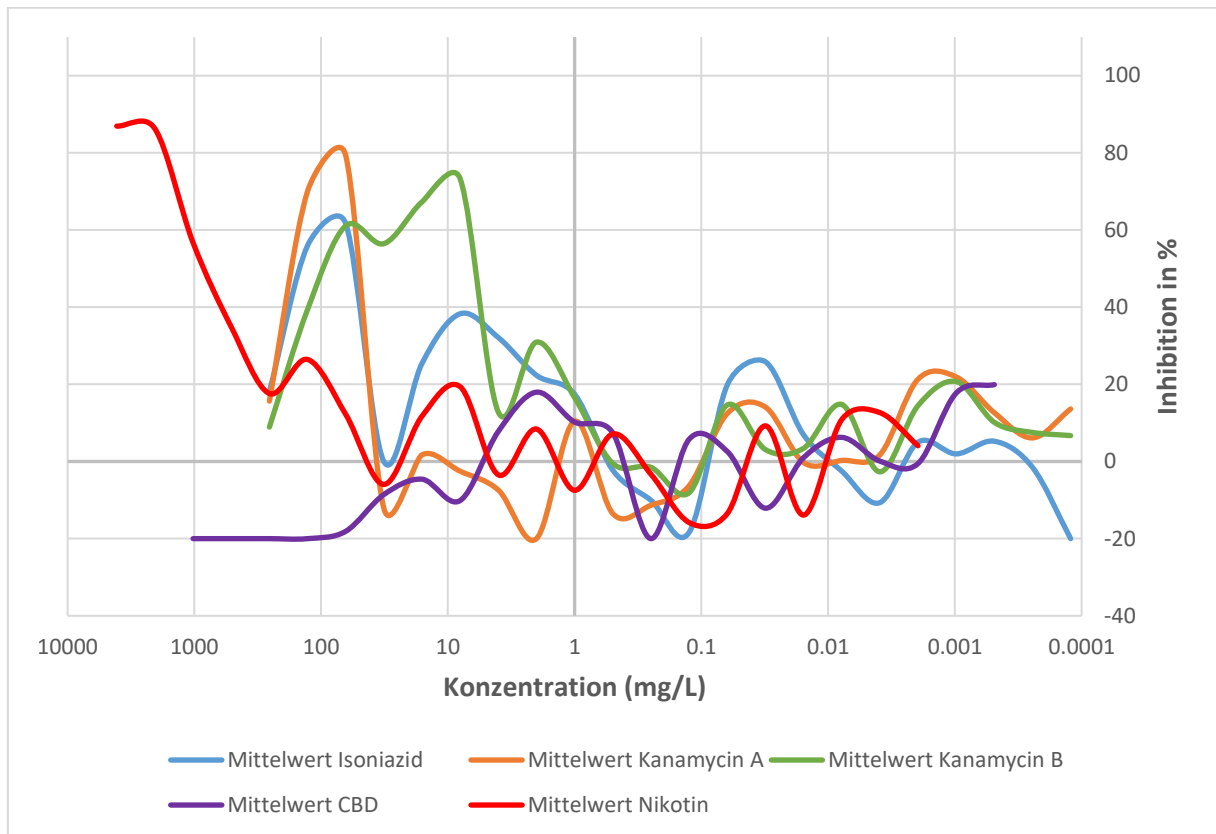


Abb. 10: Wirkung verschiedener Antibiotika auf *M. abscessus*

3.3 *Staphylococcus aureus*

Für *S. aureus* zeigten die Experimente bei Kanamycin B die kleinste MIC. Kanamycin A und CBD haben bereits eine grössere minimale Hemmkonzentration. Das in DMSO gelöste Nikotin hemmte das Bakterienwachstum kaum. Isoniazid hemmte nur in sehr hohen Konzentrationen die Vermehrung von *S. aureus*. Zudem ist bei Isoniazid eine grosse Streuung zu erkennen (Abb. 11, 12).



Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien
3 Resultate

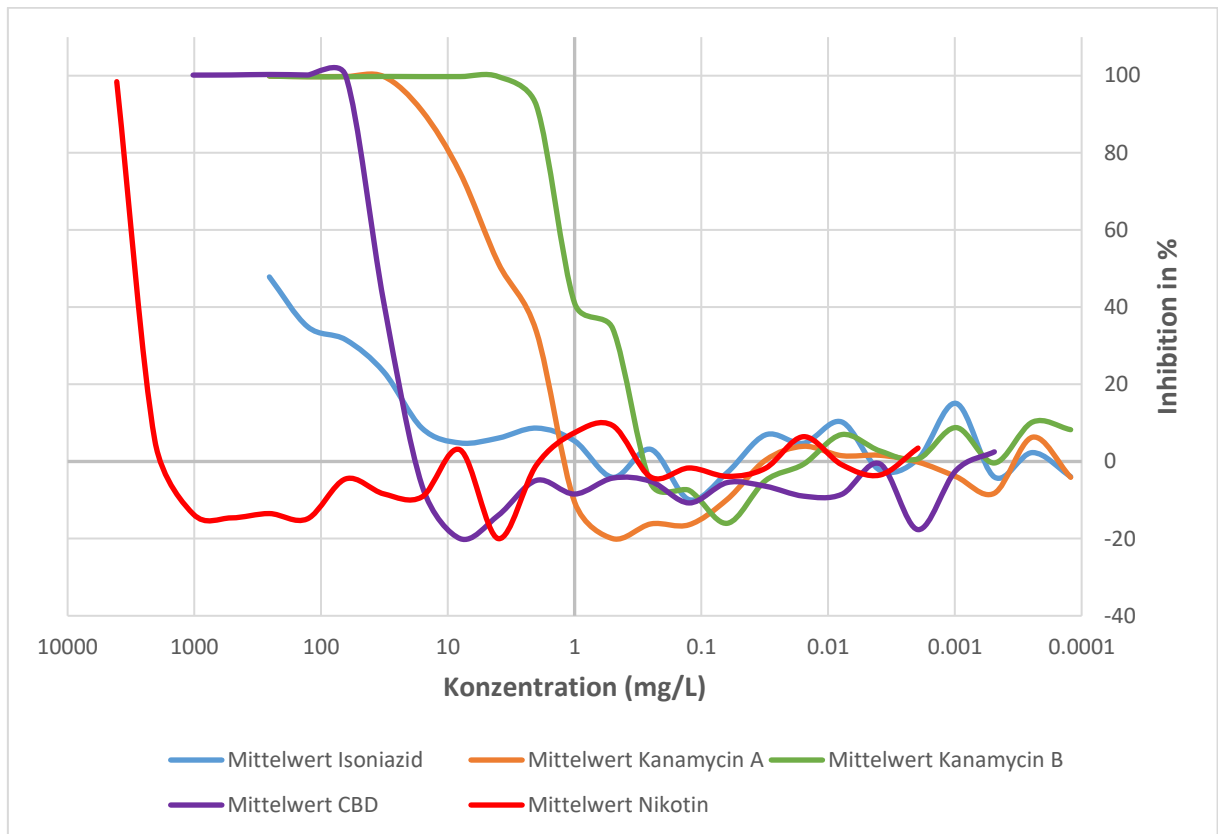


Abb. 12: Wirkung verschiedener Isoniazid-, Kanamycin A-, Kanamycin B-, CBD- und Nikotinkonzentrationen auf *S. aureus*

3.4 *Escherichia coli*

Einzig Nikotin und Kanamycin B wiesen eine minimale inhibitorische Konzentration für das Bakterium *E. coli* auf. Die Werte für Kanamycin B und CBD haben eine grosse Streuung (Abb. 13, 14).



Abb. 13: Wirkung verschiedener Isoniazid-, Kanamycin A-, Kanamycin B-, CBD- und Nikotinkonzentrationen auf *E. coli*

- Versuch 1 ● Versuch 2
- Versuch 3 — Mittelwert

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien
3 Resultate

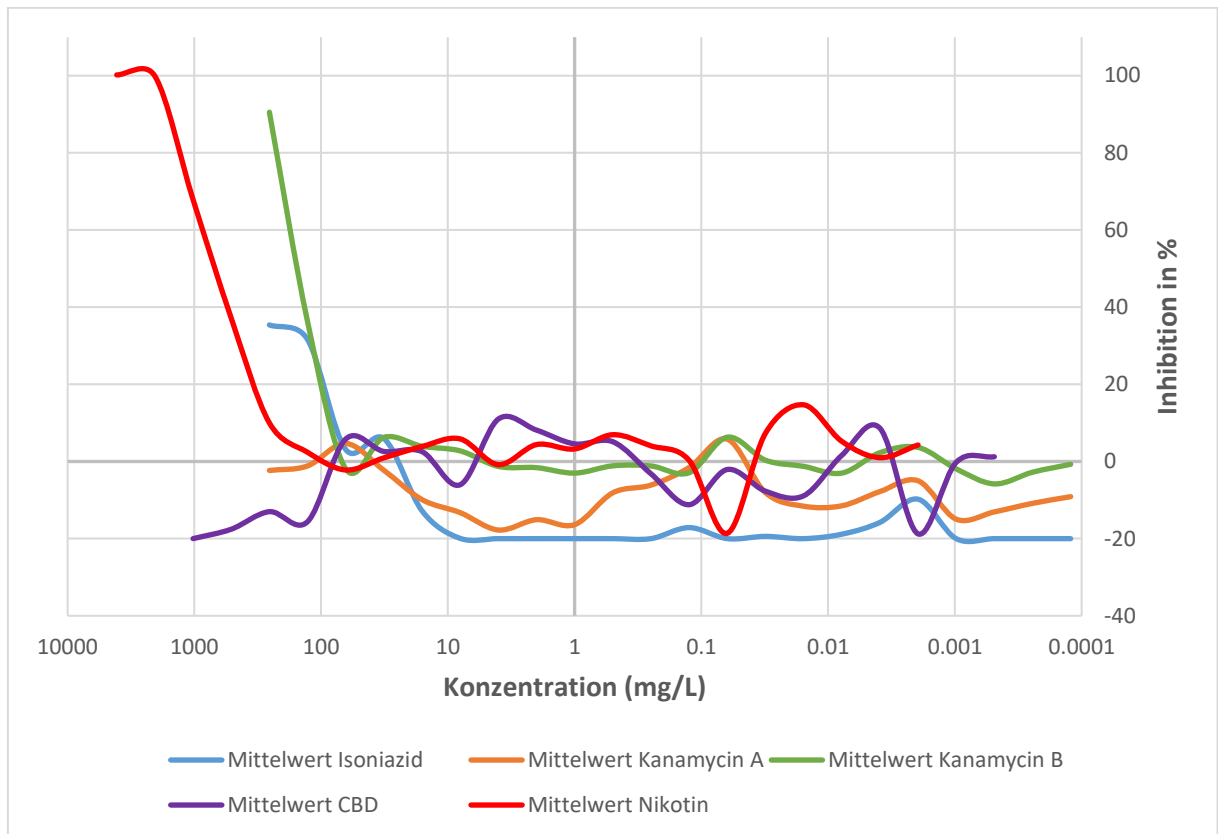


Abb. 14: Wirkung verschiedener Antibiotika auf *E. coli*

3.5 *Mycobacterium bovis* BCG

Isoniazid konnte bereits in sehr geringen Konzentrationen antibakteriell wirken. Auch Kanamycin A und Kanamycin B zeigten bei kleinen Antibiotikakonzentrationen wachstumshemmende Wirkungen. Nikotin und CBD hemmten nur in sehr hohen Dosen das Wachstum von *M. bovis* BCG (Abb. 15, 16).



Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien
3 Resultate

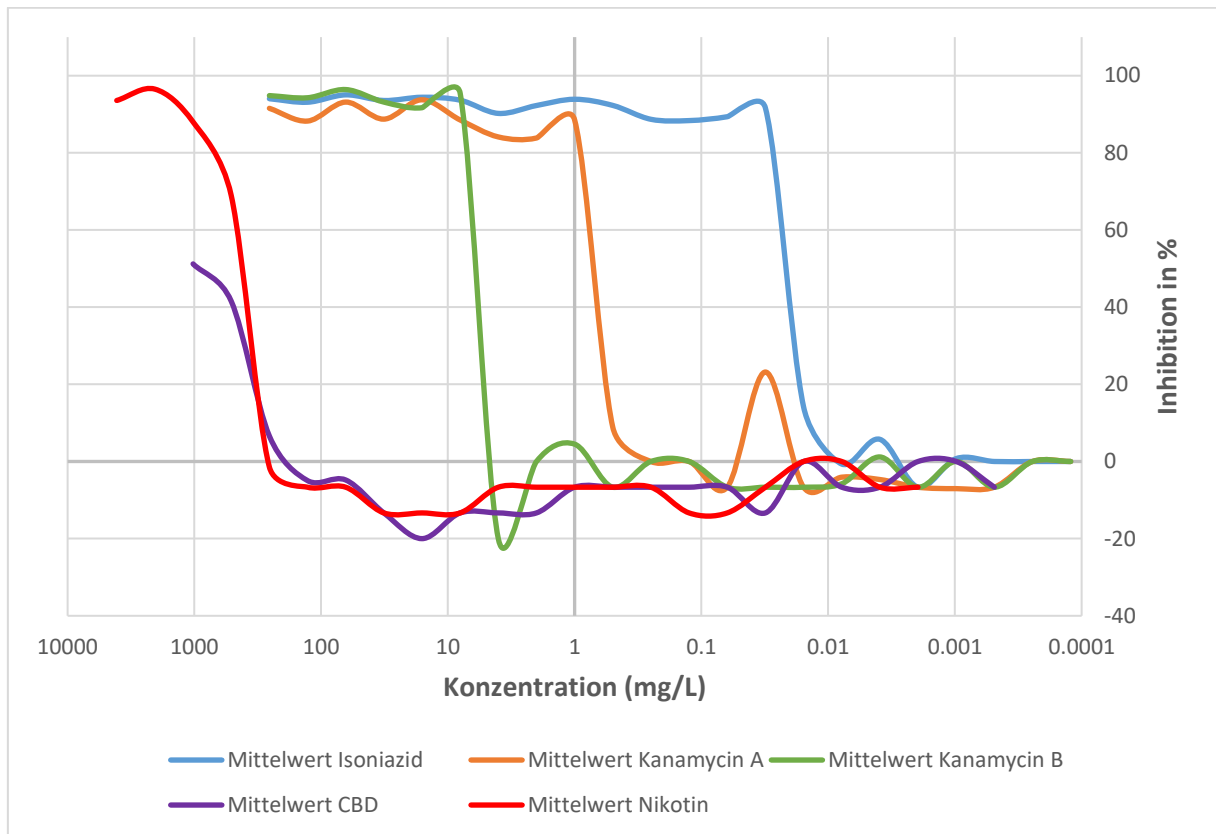


Abb. 16: Wirkung verschiedener Antibiotika auf *M. bovis* BCG

3.6 Minimale Hemmkonzentration

Für jedes Antibiotikum wurden pro Bakterienstamm drei minimale Hemmkonzentrationswerte ermittelt. Basierend auf diesen MIC-Werten wurde der jeweilige Median bestimmt. Um einen Vergleich der Werte zu ermöglichen, wurden sie tabellarisch dargestellt (Tab. 7). Die minimale Hemmkonzentration gibt die kleinste getestete Antibiotikawirkstoffkonzentration an, welche das Wachstum des Bakteriums unterdrückte [43].

Tab. 7: Minimale Hemmkonzentration der einzelnen Bakterienstämme³

| | <i>M. smegmatis</i> | <i>M. abscessus</i> | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> | <i>M. bovis</i> BCG |
|--------------------|---------------------|---------------------|------------------|----------------|---------------------|
| Isoniazid | 32 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | 0.01325 µg/ml |
| Kanamycin A | 4 µg/ml | > 256 µg/ml | 16 µg/ml | > 256 µg/ml | 2 µg/ml |
| Kanamycin B | 4 µg/ml | > 256 µg/ml | 2 µg/ml | > 256 µg/ml | 8 µg/ml |
| CBD | > 1024 µg/ml | > 1024 µg/ml | 64 µg/ml | > 1024 µg/ml | > 1024 µg/ml |
| Nikotin | 2048 µg/ml | > 4096 µg/ml | 4096 µg/ml | 2048 µg/ml | 1024 µg/ml |

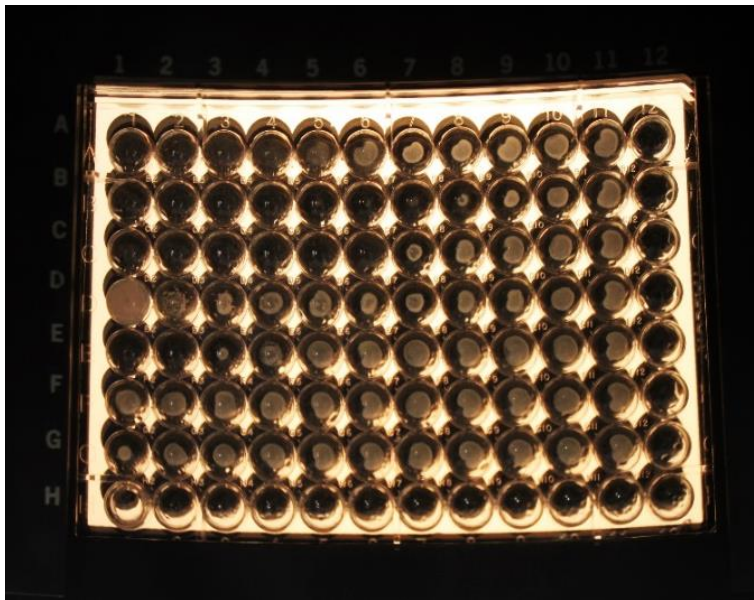


Abb. 17: In diesem Beispiel wurde ab dem 7. Well (von links) der Reihe C und ab dem 3. Well der Reihe E Bakterienwachstum festgestellt. Die Trübung des Nährmediums ist von C7-C11 respektive E3-E11 zu erkennen. Die 11. Spalte stellt die Positiv- und die 12. Spalte die Negativkontrolle dar.

³ Die gemessene Konzentrationsspanne der antibakteriellen Wirkstoffe betrug bei Isoniazid, Kanamycin A und Kanamycin B 0.00012207 µg/ml-256 µg/ml, bei CBD 0.00048828µg/ml-1024 µg/ml und bei Nikotin 0.001953125µg/ml-4096 µg/ml.

3.7 Mittlere inhibitorische Konzentration (IC₅₀)

Neben der MIC wurde auch die mittlere inhibitorische Konzentration bestimmt (Tab. 8). Die IC₅₀-Werte wurden aus den Dosis-Wirkungskurven abgelesen und stellen somit nur ungefähre Werte dar. Die IC₅₀ ist jene Konzentration eines Stoffes, bei welcher das Bakterium halbmaximal gehemmt wurde. Nicht bestimmbar ist die mittlere inhibitorische Konzentration, wenn die Inhibition entweder nie 50 % erreicht oder wenn die Kurve sehr grosse Schwankungen aufweist (siehe z.B. Kapitel 3.2) [43].

Tab. 8: Mittlere inhibitorische Konzentration der einzelnen Bakterienstämme⁴

| | <i>M. smegmatis</i> | <i>M. abscessus</i> | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> | <i>M. bovis</i> BCG |
|--------------------|---------------------|---------------------|------------------|------------------|---------------------|
| Isoniazid | 15 µg/ml | Nicht bestimmbar | Nicht bestimmbar | Nicht bestimmbar | 0.02 µg/ml |
| Kanamycin A | 1.6 µg/ml | Nicht bestimmbar | 4 µg/ml | Nicht bestimmbar | 0.7 µg/ml |
| Kanamycin B | 2.6 µg/ml | Nicht bestimmbar | 1 µg/ml | 160 µg/ml | 6 µg/ml |
| CBD | Nicht bestimmbar | Nicht bestimmbar | 32 µg/ml | Nicht bestimmbar | 1000 µg/ml |
| Nikotin | 1400 µg/ml | Nicht bestimmbar | 3100 µg/ml | 690 µg/ml | 415 µg/ml |

⁴ Die gemessene Konzentrationsspanne der antibakteriellen Wirkstoffe betrug bei Isoniazid, Kanamycin A und Kanamycin B 0.00012207 µg/ml-256 µg/ml, bei CBD 0.00048828µg/ml-1024 µg/ml und bei Nikotin 0.001953125µg/ml-4096 µg/ml.

4 Diskussion

4.1 Allgemeine Bemerkungen

Um die Wirkung verschiedener antibiotischer Stoffe auf potentiell humanpathogene Bakterien zu testen, wurden zwei verschiedene Auswertungsmethoden verwendet. Der Fokus liegt hierbei auf der Hemmungswirkung von Nikotin und von CBD.

Es ist empfehlenswert, die Auswertung auf zwei verschiedene Arten durchzuführen. Somit können die Auswertungen grafisch sowie auch anhand von MIC-Werten miteinander verglichen werden.

Die Mikrodilutionsmethode beschreibt hierbei eine Standardmethode zur Bestimmung der niedrigsten Konzentration der verwendeten Stoffe, welche noch antibiotisch auf die Bakterien wirkt. Die Mikrodilutionsmethode beachtet nur den Zusammenhang zwischen den Bakterien und der kleinsten noch hemmenden Konzentration. Alle anderen Antibiotikakonzentrationen sind bei dieser Methode nicht von Relevanz.

Sie hat viele Vorzüge. So können gleichzeitig bis zu 8 Stoffe effizient und einfach getestet werden. Besonders im Labor bewährt sich diese Methode, da sie sich gut standardisieren lässt. Die Ablesung der MIC erfolgt darüber hinaus direkt und ohne weitere Auswertungsschritte. Die Durchführung im Triplikat ermöglicht es, einen Mittelwert zu bestimmen.

Dem gegenüber steht jedoch zunächst der individuelle Faktor der visuellen Methode. Das grösste Problem beruht auf dem subjektiven Abgrenzen zwischen Wachstum und Hemmung aufgrund der Trübheit. Somit kann nur eine beschränkte Genauigkeit garantiert werden. Darüber hinaus muss ein komplett reines Inokulum zugrunde liegen, da bei der Auswertung nicht zwischen verschiedenen Bakterienstämmen unterschieden werden kann.

Die Fluoreszenzspektroskopie bewährt sich hingegen mittels Messung der Fluoreszenz für die Bestimmung der Inhibition. Die Fluoreszenzspektroskopie bietet sich nur im Zusammenhang mit der grafischen Darstellung für Dosis-Wirkungskurven an.

Ein Vorteil dieser verwendeten Methode ist die Genauigkeit der Messdaten. Weiter kann die Fluoreszenzspektroskopie in kurzer Zeit und simpel durchgeführt werden. Dies wird besonders von Bedeutung, wenn viele antibiotische Wirkstoffe miteinander verglichen werden sollen.

Ein wesentlicher Nachteil der Fluoreszenzspektroskopie ist jedoch, dass das GFP noch erst in die Bakterien hineingebracht werden muss. Ansonsten kann keine Fluoreszenz bestimmt werden. Im Gegensatz zur Mikrodilutionsmethode ist diese Methode für die Bestimmung einer MIC jedoch grösstenteils ungeeignet, da sie nur bedingt abgelesen werden kann. So ist bspw. die *M. abscessus*-Kurve sehr instabil, sodass ein Ablesen der kleinsten hemmenden Konzentration nicht möglich ist. Bei einer idealtypischen Kurve wäre ein Bestimmen der minimalen Hemmkonzentration anhand der Grafik ziemlich genau möglich.

Direkt vergleichbar ist die Fluoreszenzspektroskopie mit der Mikrodilutionsmethode nicht, da die Auswertungen unterschiedlich erfolgen. Das Ergebnis der Mikrodilutionsmethode ist die MIC, wobei es bei der Fluoreszenzspektroskopie eine Dosis-Wirkungskurve ist.

Anhand dieser kann im Anschluss auch eine ungefähre mittlere inhibitorische Konzentration (IC_{50}) bestimmt werden. Dies ist die Konzentration eines Antibiotikums, bei welcher eine halbmaximale Hem-

mung beobachtet werden kann [43]. So ist beispielsweise bei *S. aureus* für CBD eine mittlere inhibitorische Konzentration von 32 µg/ml erkennbar (siehe Abb. 11). Die Mikrodilutionsmethode ist jedoch nur bei einer kleinen Anzahl an zu testenden Stoffe möglich. Bei einer sehr grossen Anzahl ist die Fluoreszenzmethode klar zu bevorzugen. Die Mikrodilutionsmethode ist in den meisten Fällen ohne Hochdurchsatz aber noch immer die Standardmethode. Dies ist auch der Fall aufgrund der oben aufgeführten Gründe.

Aufgrund der Durchführung aller Experimente im Triplikate, lässt sich vermuten, dass die Resultate bei einem erneuten Durchlauf ähnlich wären. Die erhaltenen Daten wurden von Dr. Michael Dal Molin vom Institut der Medizinischen Mikrobiologie der Universität Zürich überprüft. Die Daten und ihre Streuung liegen gemäss seiner Erfahrung im Rahmen. Die Ergebnisse sind also zuverlässig und valide.

Beim Inokulieren der Mikrotiterplatten mit den Bakterien wird empfohlen, die Bakterien möglichst in der Mitte des Wells zu platzieren. Da jedes Well im Fluoreszenzspektrometer genau in der Mitte bestrahlt wird, kann es beim unterschiedlicher Inokulieren zu grossen Fluoreszenzwert-Differenzen kommen. Wichtig zu beachten ist ausserdem, die Folie vor der Inkubation gut anzukleben, um das Verdampfen von Wasser und das Eindringen von Kontaminanten zu vermeiden.

DMSO als Lösemittel für CBD bei Versuchen zur Bestimmung der antibakteriellen Wirkung ist nicht zu empfehlen, da CBD in DMSO bei höheren Konzentrationen ausfällt. Flocken in der Lösung führen zu Ungenauigkeiten bei der Dosierung und verfälschen die Ergebnisse. Cannabidiol ist löslich in polaren Lösemitteln wie Ethanol, Methanol oder Diethylether [32]. Diese sind jedoch nicht für die Untersuchung der antibiotischen Wirkung eines Stoffes zu empfehlen, da Alkohol lebenswichtige Funktionen der Bakterienzelle verhindert. Diese Substanzen wirken also selbst antibiotisch und die Wirkung der zu testenden Stoffe kann nicht mehr erkannt werden [44].

Eine Schwierigkeit ergab sich beim Mischen der Antibiotikakonzentrationen mit dem Medium in der 8-Kanal Pipette in den Mikrotiterplatten. Durch häufiges Eindringen von Luft mussten die Pipettenspitzen oft gewechselt werden. Ungenauigkeiten beim Pipettieren waren somit eine mögliche Folge. Ein sorgfältiges und ausreichendes Mischen innerhalb der Pipette vor der Weitergabe in das nächste Well wird deshalb dringend empfohlen.

Da viele Werte zu hoch für die Messung waren und somit auf 1'000'000 plafoniert werden mussten, sollten bei einer Versuchswiederholung die Bakterien entweder stärker verdünnt oder weniger lang inkubiert werden, um tiefere Fluoreszenzwerte zu erhalten. So kann auch ein eventuelles Selbstbeschattungsphänomen bei sehr dichten Kulturen verhindert werden.

Eine hohe Streuung ist auf mehrere Weisen erklärbar. Erstens aufgrund der unterschiedlichen Expression des GFP. Zweitens kann auch das ungleichmässige Inokulieren der Wells (ungleiche Bakterienmenge) Ursache einer unterschiedlichen Fluoreszenzmessung sein. Dieser Nebeneffekt ist in dieser Arbeit besonders stark beobachtbar, da sehr grosse Wells verwendet wurden. Ein unerwünschter Randeffekt des verwendeten Fluoreszenzspektrometers sorgt zusätzlich für auffallende Messwerte bei Wells am Plattenrand (Reihe A; Spalte 1 und 12). Die Fällung von CBD in hohen Konzentrationen kann auch als Begründung für eine hohe Streuung bei den Versuchen mit Cannabidiol angesehen werden.

Angesichts des Aufwandes für die Resultatdarstellung im Rahmen einer Maturaarbeit würde eventuell eine simple Methode genügen. Ein Hemmhofstest würde sich hierbei bewähren; allerdings besteht der

Einwand, dass die untersuchten Moleküle relativ gross sind und evtl. schlecht durch den Agar diffundieren [8, 45]. Alternativ kann die MTT Methode benutzt werden. Der Nachteil dabei ist jedoch, dass nach der Inkubation ein Farbstoff hinzugefügt werden muss, gefolgt von einer weiteren Inkubationsphase [46].

Ansonsten kann die verwendete Methode zur Bestimmung der antibiotischen Wirkung von Stoffen empfohlen werden, da mit ihr grundsätzlich genaue und vertrauenswürdige Resultate erzielt werden konnten.

4.2 *Mycobacterium smegmatis*

Die Ergebnisse für *M. smegmatis* zeigen bei beiden Kanamycinen die kleinsten MIC-Werte. Auch Isoniazid konnte bei einer noch kleinen minimalen Hemmkonzentration das Bakterienwachstum inhibieren. Nikotin hemmte *M. smegmatis* nur in sehr hohen Konzentrationen. CBD erwies sich nicht als Hemmstoff, da keine der getesteten Konzentrationen das Bakterienwachstum störte (siehe Kapitel 3.6). Obwohl Kanamycin A und B dieselbe MIC ergeben haben, ist die mittlere inhibitorische Konzentration von Kanamycin B grösser als diese von Kanamycin A (siehe Kapitel 3.7). Die mittlere inhibitorische Konzentration von Isoniazid bei *M. smegmatis* ist deutlich höher als diese der Kanamycine. In weiteren Studien konnte eine IC_{50} von 7.5 $\mu\text{g/ml}$ für Isoniazid festgestellt werden, also einen halb so grossen Wert. Ob dies mit der nur bedingt genauen grafischen Bestimmung zusammenhängt, könnte in Betracht gezogen werden [47].

Gleichzeitig ist sowohl bei CBD, als auch bei Nikotin eine hohe Streuung erkennbar. Dem zugrunde liegen möglicherweise die im Kapitel 4.1 beschriebenen Gründe wie eine unterschiedliche Verteilung oder Menge der Bakterien in den einzelnen Wells. Die hohe Streuung bei CBD ist wahrscheinlich auf die bedingte Löslichkeit von Cannabidiol in DMSO zurückzuführen.

4.3 *Mycobacterium abscessus*

Keine der getesteten Konzentrationen der Stoffe Isoniazid, Kanamycin A, Kanamycin B, CBD und Nikotin konnte das Wachstum von *M. abscessus* verhindern. Das multiresistente Bakterium gilt praktisch als unbehandelbar und ist nur gegenüber sehr wenigen Antibiotika sensibel [48]. Erkennbar ist dies auch in den erhaltenen Resultaten. Die äusserst ausgeprägte Resistenz gegenüber Antibiotika ist eine mögliche Erklärung für die ausbleibende wachstumsstörende Wirkung der verwendeten Stoffe. Es ist allerdings zu beachten, dass der GFP-Plasmid bei *M. abscessus* ein Kanamycin-Resistenzgen enthält. Ansonsten hätte sowohl Kanamycin A als auch Kanamycin B eine wachstumsstörende Wirkung auf *M. abscessus* [49]. Aufgrund der grossen Schwankungen der Kurven, konnten hier auch keine IC_{50} -Werte bestimmt werden.

Auch die Streuung war bei allen Substanzen äusserst hoch. Sehr merkwürdig hierbei sind die mit abnehmender CBD-Konzentration steigenden Inhibitionswerte. Sie beruhen möglicherweise auf der energieliefernden Wirkung von CBD auf *M. abscessus* (siehe auch Kapitel 4.6).

4.4 *Staphylococcus aureus*

Die kleinste MIC konnte bei Kanamycin B identifiziert werden. Auch Kanamycin A konnte in einer noch immer kleinen Konzentration das Bakterienwachstum hemmen. Keine der getesteten Konzentration von Isoniazid konnte sich als antibiotisch erweisen. Die Begründung dafür ist, dass die Wirkung von Isoniazid überwiegend auf die Bildung von Mykolsäure von Mykobakterien zielt. Mit einer ebenfalls kleinen minimalen Hemmkonzentration weist sich jedoch auch Cannabidiol als mögliches therapeutisches Heilmittel für *S. aureus* aus. Nikotin hingegen hemmte nur in sehr hohen Konzentrationen. Bei der mittleren inhibitorischen Konzentration konnte nur für Isoniazid keinen Wert ermittelt werden. Ebenso wie bei der MIC, ist auch die IC₅₀ von Kanamycin B am kleinsten, gefolgt von Kanamycin A, CBD und Nikotin (siehe Kapitel 3.6 und 3.7).

Beachtenswert ist die teilweise grosse Streuung bei Isoniazid, welche aber nicht eindeutig erklärbar ist. Der Randeffekt des Fluoreszenzspektrometers könnte hierbei eine Rolle spielen oder eine ungenügend angeklebte Folie im oberen Bereich der Mikrotiterplatte. So könnten Fremdstoffe in die Reihe A (Isoniazid) eingedrungen sein und die Resultate beeinflusst haben.

4.5 *Escherichia coli*

Im Versuch 3 wurde die Mikrotiterplatte nach der Fluoreszenzmessung vor der Inkubation zu fotografischen Zwecken umgedreht. Anders als bei den übrigen Versuchen konnten sich hier die Bakterien im Nährmedium leicht verteilen. Dies ist eine mögliche Erklärung für die abweichenden Werte dieses Versuches. *E. coli* ist das einzige gramnegative Bakterium dieser Versuchsreihe. Auf den ersten Blick merkwürdig ist, dass weder Kanamycin A, noch Kanamycin B störend auf *E. coli* wirkte, da Kanamycine normalerweise zur Behandlung von Infektionen mit gramnegativen Erregern verwendet werden. Dem zugrunde liegt jedoch das Plasmid, welches in *E. coli* transformiert wurde. Dieses macht *E. coli* gegen Kanamycin A und B resistent [50]. Isoniazid konnte *E. coli* wiederum nicht hemmen, da in seiner Zellwand keine Mykolsäure enthalten ist. Das Kolibakterium konnte lediglich von Nikotin in einer sehr hohen Konzentration gehemmt werden. Eine mittlere inhibitorische Konzentration konnte nur für Kanamycin B und Nikotin ermittelt werden, wobei beide Werte eher gross sind (siehe Kapitel 3.6 und 3.7).

4.6 *Mycobacterium bovis* BCG

Nennenswert ist besonders die überaus tiefe minimale Hemmkonzentration von Isoniazid, dem traditionellen Antituberkulotikum erster Linie. Sowohl Kanamycin A, als auch Kanamycin B konnte bei ebenfalls tiefen MIC-Werten das Bakterienwachstum beeinträchtigen. Im Zusammenhang mit der multiresistenten Tuberkulose sind besonders die Kanamycine von Interesse [51]. CBD konnte *M. bovis* BCG in keiner Konzentration hemmen. Nikotin hemmte zwar den tuberkuloseähnlichen Erreger, jedoch in einer Konzentration, die für den Menschen bereits wieder schädlich wirken würde. Die IC₅₀ bei Isoniazid ist beachtenswert klein. So auch die mittlere inhibitorische Konzentration der Kanamycine. Bei CBD ist diese fast so hoch wie die grösste getestete CBD-Konzentration. Bei Nikotin ist sie ungefähr halb so gross wie die ermittelte minimale Hemmkonzentration (siehe Kapitel 3.6 und 3.7).

Beim Inokulieren der Mikrotiterplatte beim Versuch 1 wurde die Mikropipette nicht komplett entleert, was eine Erklärung für die tiefen Messwerte sein könnte.

Auffallend bei *M. bovis* BCG sind die vielen auf -20 plafonierten Inhibitionswerte (vor allem für CBD und Nikotin). Diese Negativwerte sind insofern interessant, da sie eigentlich aussagen, dass Bakterien unter dem Einfluss dieser Stoffe verstärkt wachsen können. Mikrobiologisch erklärbar ist dies damit, dass die Zellkulturen CBD und Nikotin möglicherweise als Energiequelle verwerten können. CBD und Nikotin wären also keine Antibiotika, sondern würden das Wachstum vielmehr fördern. Gerade bei natürlichen Stoffen wie CBD und Nikotin ist die Wahrscheinlichkeit gross, dass ein Bakterium den Stoff zum eigenen Nutzen verwenden kann.

4.7 Medizinische Relevanz von CBD und Nikotin

Dem Cannabinoid CBD wird eine Vielzahl von medizinischen Eigenschaften zugesprochen. Zunächst soll CBD schmerzstillend, besonders für Schmerzen, welche infektionsbedingt sind, wirken. Gleichzeitig kann es gegen Epilepsie, Schizophrenie, bei Angst- oder Krampfanfällen Verwendung finden. CBD wird je länger je mehr als interessanter Kandidat zur Therapie bei neurodegenerativen Erkrankungen wie Alzheimer oder Parkinson erforscht. Bei Infektionen kann es antibakteriell wirken [52].

Im Rahmen einer Studie beschrieben Appendino und Gibbons eine ähnliche Wirkung von Cannabidiol wie bestehende Antibiotika gegenüber MRSA. Für den *S. aureus*-Typus ATCC® 25923™ ermittelten sie eine minimale Hemmkonzentration von 0.5 µg/ml. Der bakterizide Effekt sei gleicherweise effektiv wie herkömmliche Substanzen [53] wie z.B. Tetracycline, der Hoffnungsträger unter den Antibiotika gegen MRSA [24]. Die Forscher begründeten die überraschende Wirkung von CBD auf *S. aureus* damit, dass CBD in der Hanfpflanze ein Schutzmechanismus gegenüber bakteriellen Feinden darstellt. Die Wirkungsweise unterscheidet das Cannabidiol jedoch vom industriellen Antibiotikum. Auch weitere Cannabinoide inkl. THC konnten in der Studie bei Konzentration zwischen 1 und 2 µg/ml antibiotisch wirken. Cannabinoide als örtliche Wirkstoffe sollen in der Praxis künftig zur Behandlung von Wunden und Abszessen eingesetzt werden [53].

Der in dieser Arbeit erhaltene Wert, welcher *S. aureus* gerade noch hemmt, ist mit 64 µg/ml deutlich höher. Appendino et al. verwendete ebenfalls die Mikrodilutionsmethode. Jedoch fügte er nach der Inkubation einen Farbstoff hinzu, um die MIC genau zu bestimmen. Dieser Farbstoff ändert seine Farbe von Gelb zu Blau, wenn Bakterien vorhanden sind. Die gebrauchte Methode wird also eher nicht der Grund für die stark abweichenden Resultate sein. Vielmehr könnte die Reinheit des CBD eine Rolle spielen.

Dass CBD, wie von Appendino behauptet, eine gleiche antibiotische Wirkung zeigt wie spezifische Antibiotika, wurde in dieser Arbeit widerlegt. In Hinblick auf die zahlreichen Antibiotikaresistenzen von *S. aureus* könnte Cannabidiol trotzdem als potentieller Hemmstoff in den Vordergrund rücken. Die medizinische Verwendung von CBD kann jedoch erst erfolgen, wenn der Einfluss auf den Menschen geklärt ist.

Nikotin konnte nur in hohen Konzentrationen (1024 $\mu\text{g/ml}$ für *M. bovis* BCG, 2048 $\mu\text{g/ml}$ für *M. smegmatis* und *E. coli* und 4096 $\mu\text{g/ml}$ für *S. aureus*) wirken. In anderen Versuchen bewährte sich Nikotin als potentieller Wachstumshemmer für Bakterien der menschlichen Mundflora [36].

Die bereits bestehende Literatur kann durch die erhaltenen Resultate ergänzt werden. Vorherige Studien von Greenstein und seines Forscherteams belegen die verstärkte Vermehrung von *M. tuberculosis* bei Nikotindosen von 5 mg/ml. Als Gegensatz stören Nikotindosen von 100-250 $\mu\text{g/ml}$ das Wachstum [54]. Hinzugefügt muss werden, dass die Datenlage der Studie von Greenstein et al. sehr unklar und in gewisser Weise widersprüchlich ist.

Die erforschten Ergebnisse werfen auch neues Licht auf die Studie von Naser. Laut Naser beträgt die genaue Konzentration 0.27 μg Nikotin/ml [55] (eine Zigarette enthält im Durchschnitt 12 mg Nikotin [56]), um *M. tuberculosis*-Zellen zu zerstören. Ebenfalls soll Nikotin wirksam gegen andere Mykobakterienstämme sein. Die Wirksamkeit bei antibiotika-resistenten Bakterien verschaffe Nikotin einen Vorteil gegenüber aktuellen Behandlungsmöglichkeiten. Dieser Wirkmechanismus kann durch Naser, sowie auch generell noch nicht erklärt werden [55].

In dieser Arbeit erstreckte sich die getestete Konzentrationsspanne von Nikotin von 0.001953125 $\mu\text{g/ml}$ bis 4096 $\mu\text{g/ml}$. Eine hemmende Wirkung des Stoffes auf *M. bovis* BCG konnte bis zu einer Konzentration von 1024 $\mu\text{g/ml}$ nicht festgestellt werden. Bei knapp 4.1 mg/ml konnte in den Versuchen Nikotin *M. bovis* BCG noch hemmen. So konnte weder die von Greenstein, noch die von Naser erforschte MIC bestätigt werden.

Für den Menschen wird, wie im Kapitel 1.4 bereits erwähnt, der LD₅₀ bei oraler Einnahme von Nikotin auf 0.5-1 mg/kg geschätzt. Ausgegangen von den Resultaten dieser Arbeit entspräche die benötigte Konzentration ungefähr 930 mg/kg, um *M. bovis* BCG im Körper zu beeinträchtigen. Dieser Wert besagt aber noch nichts, da er nicht berücksichtigt, wie Nikotin im menschlichen Körper aufgenommen und verstoffwechselt wird. Dies ist ein gewichtiges Argument gegen die Toxikologie-Vorversuche mit Bakterien. Wie viel Nikotin ein Mensch aufnehmen müsste, dass *M. bovis* BCG *in vivo** am Wachsen gehemmt wird, kann dem *in vitro*-Wert nicht entnommen werden. In dieser stark toxischen Dosis wäre das Nikotin bereits tödlich und kann sich folglich als kein Alternativantibiotikum für *M. bovis* BCG erweisen.

Relevant für die Verwendung des Nikotins *in vivo* wäre die ED₅₀. Dies ist die Dosis einer Substanz, bei welcher bei 50 % aller Individuen eine therapeutische Wirkung erkannt wurde. Leider konnte jedoch keine ED₅₀ gefunden werden [57].

Der Einnahmeform des Nikotins gebührt ebenfalls eine gewisse Aufmerksamkeit. Wenn Nikotin via Zigarettenrauch eingenommen wird, kommt es zwar effizient zu den evtl. von Tuberkulose befallenen Lungenzellen. Andererseits inhaliert ein Mensch mit dem Rauch die sehr gefährlichen Teerstoffe, welche die Zellen schädigen. Dadurch kann sich das Risiko für eine Krebserkrankung, besonders Lungenkrebs, verdoppeln [58]. Auch Naser rät (aus mikrobiologischen Gründen) vom Rauchen ab. Nikotinkonsum in der Form vom Rauchen sei nicht effektiv, da der Nikotinspiegel im Körper dadurch zu wenig konstant ist [55]. Eine mögliche Alternative zur Aufnahme des Nikotins durch Rauchen wäre ein Nikotininhalator. Hierbei verdampft Nikotin, welches die Schleimhäute anschliessend aufnehmen können [59].

Aufgrund der Tatsache, dass die Resultate der vorliegenden Arbeit denjenigen von Greenstein und denen von Naser widersprechen, zeigt, dass mehr Forschungen nötig sind, um genauere Auskunft über die Wirkung von Nikotin auf *M. tuberculosis* geben zu können.

Ähnliche Arbeiten beschäftigten sich mit einer möglichen wachstumshemmenden Wirkung des vom Nussbaum produzierten Juglons auf die grampositiven Mund- und Darmbakterien *E. faecium* und *S. salivarius*. Die Ergebnisse zeigten eine minimale inhibitorische Konzentration von 1 mg Juglon/ml DMSO [45]. Auch die antibiotische Wirkung von CBD auf die gleichen beiden Bakterien konnte mit einer MIC von ebenfalls 1 mg/ml nachgewiesen werden [8].

Auffallend ist, dass sowohl Nikotin und CBD als auch Juglon pflanzliche Antibiotika sind. So könnte vermutet werden, dass auch Nikotin *E. faecium* und *S. salivarius* hemmt.

4.7.1 Relevanz für die Tuberkulosebehandlung

Isoniazid und die Kanamycine konnten das als Modellorganismus für *M. tuberculosis* verwendete Mykobakterium hemmen. Dies bedingt allerdings, dass *M. tuberculosis* keine Resistenz gegenüber den Kanamycinen aufweist, was in der multiresistenten Tuberkulose der Fall sein kann [12]. Das Hauptproblem bei der Bekämpfung der Tuberkulose sind gerade diese extrem ausgeprägten Antibiotikaresistenzen von *M. tuberculosis*.

Da weder CBD, noch Nikotin ein therapeutisches Potential gegen Tuberkulose zeigte, sollte wohl nach anderen Medikamenten gesucht werden.

4.8 Schlussbemerkungen

Die Hypothese 1 kann verworfen werden, da die benötigte Dosis Nikotin, um *M. bovis* BCG zu hemmen, so hoch ist, dass sie für den Menschen wahrscheinlich toxisch wäre. Ob Nikotin wirklich helfen kann, Tuberkulose zu verhindern, wird bezweifelt. Verstärkt wird dieser Zweifel durch den Globalen Tuberkulosereport 2016 der Weltgesundheitsorganisation. Laut der WHO gilt Rauchen sogar als Risikofaktor bei der Tuberkulose. Es erhöhe die Chance einer Aktivierung der Tuberkulose um das 1.9-Fache [60]. Auch bei keinen weiteren der getesteten Bakterien konnte sich Nikotin bewähren.

Die untersuchte Hypothese 2 konnte ebenfalls widerlegt werden. Anders als vermutet, konnte CBD die grampositiven Bakterien *M. smegmatis*, *M. abscessus* und *M. bovis* BCG nicht hemmen. Das ebenfalls grampositive Bakterium *S. aureus* hingegen konnte durch CBD (bei einer minimalen Hemmkonzentration von 64 µg/ml) im Wachstum gehemmt werden. Auch gegen das gramnegative Bakterium *E. coli* konnte Cannabidiol nicht wirken.

Da die Wirkung von CBD und Nikotin auf Bakterien sowie auf den menschlichen Organismus noch grösstenteils ungeklärt ist, kann es keine sichere Erklärung geben, ob sie sich als Antibiotika für die verwendeten Bakterien (ausser CBD für *S. aureus*) bewähren würden. Möglicherweise unterscheiden sich die Wirkmechanismen von CBD und Nikotin von denjenigen von Isoniazid, Kanamycin A und

Kanamycin B. Diese beziehen sich auf Auswirkungen auf die Zellwand und die Ribosomen des Bakteriums.

In den Versuchen konnte besonders der Unterschied von Kanamycin A und Kanamycin B verdeutlicht werden. So ist die MIC von Kanamycin A bei *S. aureus* mit 16 µg/ml 8-mal grösser als die MIC von Kanamycin B. Bei *M. bovis* BCG hingegen ist die kleinste noch hemmende Konzentration 4-mal kleiner als bei Kanamycin B. Keine der Kanamycine konnte *M. abscessus* oder *E. coli* im Wachstum stören.

Kanamycin A (C₁₈H₃₆N₄O₁₁) und B (C₁₈H₃₇N₅O₁₀) [30] sind in ihrem strukturellen Aufbau mit einer Ausnahme identisch. Einziger Unterschied liegt darin, dass Kanamycin B eine 2'-Aminogruppe besitzt, während Kanamycin A eine 2'-Hydroxygruppe hat. Die Wirkungsweise jedoch unterscheidet sich nicht. Obwohl die beiden Kanamycine sich in ihrer Struktur kaum unterscheiden, genügt dies bereits, um bestimmte Bakterien unterschiedlich stark zu beeinflussen. Kleine strukturelle Unterschiede könnten Grundlage für neue Antibiotika sein [61].

4.9 Folgeuntersuchungen

Das Gebiet um Tuberkulose bietet noch sehr viel Forschungsstoff. Grundlegende Versuche zur antibiotischen Wirkung verschiedener Substanzen auf den *Mycobacterium tuberculosis*-Komplex wäre ein Vorschlag für weiterführende Untersuchungen. Dies sollte wichtige Erkenntnisse zu neuen Antituberkulotika bringen.

Aber auch der medizinische Nutzen von Cannabidiol und Nikotin ist weitgehend noch ungewiss. So bietet es sich an, zu untersuchen, welchen Einfluss Cannabidiol und Nikotin auf weitere Bakterien haben.

Ein weiterer Vorschlag für weiterführende Arbeiten könnte der Einfluss weiterer Cannabinoiden auf *S. aureus* getestet werden, um mehr über das therapeutische Potential von *C. sativa* bzw. *C. indica* zu erfahren. Ebenfalls könnte untersucht werden, ob CBD oder gegebenenfalls andere Cannabinoide auch auf weitere Bakterien der Gattung Staphylokokken wirken kann. Dies könnte Aufschluss über die Verbindung von Cannabidiol zu der Gattung Staphylokokken geben.

Angesichts der Vermutung, dass neben Juglon und CBD auch Nikotin gegen *E. faecium* und *S. salivarius* wirken könnte, wäre dies eine geeignete Grundlage für Folgeuntersuchungen.

Die mögliche Verwertung der natürlichen Stoffe Cannabidiol, Nikotin und Juglon als Energiequelle für Bakterien, wäre ebenfalls ein gutes Fundament für weitere Forschungen. Die Begründung zur Fragestellung, warum die Inhibitionswerte bei zunehmender Konzentration steigen, wäre Ziel dieser Arbeit.

5 Reflexion

Die Themenfindung gestaltete sich vergleichsweise recht einfach, denn ich wusste sehr schnell, dass ich gerne eine aktuelle biomedizinische Thematik in meiner Maturaarbeit aufgreifen möchte. Mein Interesse gilt besonders der Suche nach neuen Therapiemethoden für schwer behandelbare Krankheiten. Zwar begeistern mich eher neurologische Krankheiten wie das Parkinsonsyndrom oder Alzheimer, jedoch ist leider noch zu wenig darüber bekannt, um eigene Versuche durchzuführen. Besonders da wir die Tuberkulose bereits in der Kantonsschule behandelten, wurde mir klar, wie viel Ausschöpfungs- und Forschungspotential das ganze Gebiet um Tuberkulose noch hat.

Nach ein wenig Recherchieren stiess ich auf zahlreiche Zeitungsartikel, in welchen behauptet wird, mit Nikotin ein neues Antibiotikum gegen Tuberkulose gefunden zu haben. Da meine Schwester C. Weltert auch schon auf das antibiotische Potential von Nikotin in Form einer Maturaarbeit eingegangen ist, bildete dies eine ideale Basis für meine Maturaarbeit. Auch die Versuche von P. Kunz und N. Lötcher vom vorherigen Jahr halfen mir sehr meinen Rahmen der Arbeit festzulegen.

Leider konnte mir das Labor der Kantonsschule Sursee nicht die nötige Ausstattung zur Durchführung bieten. So wendete ich mich an Prof. Dr. Peter Sander und sein Forschungsteam der Universität Zürich. Er konnte mir anbieten, mit Dr. Michael Dal Molin meine Hypothesen zu untersuchen und die Experimente in dem Institut für Medizinische Mikrobiologie durchzuführen. Diese konnte ich bereits in den Fasnachtsferien 2018 machen, was mir noch viel Zeit für das schriftliche Verfassen der Arbeit verschaffte.

Probleme traten eigentlich keine auf. Anfänglich war es schwierig für mich, die einzelnen Verfahrensschritte zu verstehen. Besonders das Gebiet um GFP bereitete mir Schwierigkeiten im Verständnis. Die Auswertung der Daten stellte sich ebenfalls als Hindernis dar, da ich lange probieren musste, bis ich endlich ein repräsentatives Diagramm hatte. Auch mit der Formel zur Inhibition hatte ich anfangs Mühe. Dank Michael Dal Molin und auch Frau Mez wurden mir die offenen Fragen zur Auswertung jedoch schnell klar.

Schlussendlich kann ich sagen, dass ich mit meiner Arbeit und meinen erhaltenen Resultaten sehr zufrieden bin. Auf jeden Fall war die Maturaarbeit eine aufwändige Angelegenheit, welche mir aber trotzdem sehr viel Spass machte. Dank der Arbeit kann ich mir bereits jetzt eine Vorstellung der Bachelor- sowie der Masterarbeit machen.

6 Danksagung

Zum Schluss bedanke ich mich bei all meinen Wegbegleitern, welche mir zum Rat zur Seite standen. Ein grosses Dankeschön gilt hierbei der Betreuerin an der Kantonsschule Sursee Frau Dr. Konstanze Mez. Sie half mir bei allfälligen Fragen stets.

Des Weiteren bedanke ich mich bei dem gesamten Laborteam des Instituts für Medizinische Mikrobiologie in Zürich. Hierbei gilt mein grösster Dank Dr. Michael Dal Molin und Herrn Prof. Dr. Sander. Sie ermöglichten erst die Experimentdurchführung. Alle Materialien wurden für mich bestellt sowie auch finanziert. Ihre Unterstützung bei der Maturaarbeit verschaffte mir einen Einblick in die Laborwelt. Bei Unklarheiten und für Tipps standen sie mir stets zur Verfügung, was für das Verfassen der Arbeit von grosser Bedeutung war.

Ein weiteres Dankeschön geht an Chiara Weltert und Hans M. Weltert für die Bereitschaft zur sprachlichen Korrektur der Arbeit.

7 Bibliografie

Sofern nichts anderes vermerkt, wurden die Quellen zuletzt am 03.10.2018 aufgerufen.

- [1] Anonym.
<http://www.spiegel.de/wissenschaft/mensch/antibakteriell-nikotin-wirkt-gegen-tuberkulose-er-reger-a-135355.html>
- [2] Anonym.
<https://www.deutsche-apotheker-zeitung.de/daz-az/2001/daz-23-2001/uid-824> (20.07.2018)
- [3] Waschke N.
<https://www.wissenschaft.de/umwelt-natur/nikotin-kann-tuberkulose-erreger-bekaempfen/>
(21.07.2018)
- [4] Dewald U.
<https://www.wissenschaft.de/umwelt-natur/rauchen-hilft-der-tuberkulose/> (01.08.2018)
- [5] Anonym.
<https://www.augsburger-allgemeine.de/themenwelten/gesundheit/Rauchen-erhoeht-An-steckungsgefahr-mit-Tuberkulose-id5506486.html> (01.08.2018)
- [6] Anonym.
<https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/47585/Tuberkulose-40-Millionen-Todesfaelle-durch-Rauchen-bis-2050> (01.08.2018)
- [7] Grotenhermen F, Berger M, Gebhardt K.
Cannabidiol CBD. Nachtschatten Verlag AG, Solothurn 2015.
- [8] Kunz P.
2017. Antibakterielle Wirkung von *Cannabis sativa* und Cannabidiol auf Bakterien der menschlichen Mund- und Darmflora. Maturaarbeit, Kantonsschule Sursee
- [9] Anonym.
<https://de.wikipedia.org/wiki/Tuberkulose>
- [10] Anonym.
https://www.bgrci.de/fileadmin/BGRCI/Downloads/DL_Praevention/Fachwissen/Biologische-Arbeitsstoffe/Mikroorganismen/Mycobacterium_tuberculosis_04_14.pdf (05.09.2018)
- [11] Anonym.
https://de.wikipedia.org/wiki/Mycobacterium_tuberculosis (03.08.2018)
- [12] Dias M.
<http://www.who.int/tb/areas-of-work/drug-resistant-tb/xdr-tb-faq/en/>
- [13] Anonym. Wikipedia.
https://de.wikipedia.org/wiki/Mycobacterium_bovis
- [14] Anonym.
http://flexikon.doccheck.com/de/Mycobacterium_bovis

- [15] Hahn H, Falke D, Klein P.
Medizinische Mikrobiologie. Springer Science & Business Media, Berlin 1991.
- [16] Anonym.
https://de.wikipedia.org/wiki/Tuberkulose_der_Rinder#Klinisches_Bild_und_Diagnostik
(30.07.2018)
- [17] Anonym.
https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/Mycobacterium-bovis.pdf?__blob=publicationFile&v=4
- [18] Frey J.
Einstufung von Organismen. Modul 1: Bakterien. Bundesamt für Umwelt BAFU, Bundesamt für Gesundheit BAG, 2013.
- [19] Tsogyal D, Christian M, Erich W.
Atypische Mykobakteriose der Lunge. Therapeutische Umschau 2011, 68, 402-406, 2013.
doi: 10.1024/0040-5930/a000184
- [20] Falsey RR, Kinzer MH, Hurst S, Kalus A, Pottinger PS, Duchin JS, Zhang J, Noble-Wang J, Shinohara MM.
Cutaneous inoculation of nontuberculous mycobacteria during professional tattooing: a case series and epidemiologic study. Clinical Infectious Diseases. 57 (6), e143–e147, 2013.
doi: 10.1093/cid/cit347
- [21] Schreiber J, Burkhardt U, Rüscher-Gerdes S, Amthor M, Richter E, Zugehör M, Rosahl W, Ernst Martin.
Nichttuberkulöse Mykobakteriose der Lungen durch Mycobacterium smegmatis. Pneumologie. 55 (5), 238-243, 2011.
doi: 10.1055/s-2001-13948
- [22] Anonym.
https://en.wikipedia.org/wiki/Mycobacterium_abscessus (28.08.2018)
- [23] Anonym.
<http://www.imm.uzh.ch/de/research/experimental/sander/virulencemabscessus.html>
(08.09.2018)
- [24] Anonym.
https://de.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus
- [25] Anonym.
<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli> (01.10.2018)
- [26] Anonym.
https://de.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli#Humanpathogenit%C3%A4t
- [27] Anonym.
<https://de.wikipedia.org/wiki/Isoniazid> (02.07.2018)

- [28] Anonym.
<https://de.wikipedia.org/wiki/Kanamycine> (02.07.2018)
- [29] Anonym.
<https://de.wikipedia.org/wiki/Aminoglykoside> (02.07.2018)
- [30] Anonym.
<https://www.drugbank.ca/drugs/DB01172>
- [31] Anonym.
<https://de.wikipedia.org/wiki/Cannabidiol>
- [32] Colbert M.
<http://theleafonline.com/c/science/2014/06/cannabinoid-profiles-crash-course-cbd/>
- [33] Anonym.
<https://de.wikipedia.org/wiki/Nicotin>
- [34] Anonym.
https://de.wikipedia.org/wiki/Gr%C3%BCn_fluoreszierendes_Protein (06.07.2018)
- [35] Anonym.
[https://de.wikipedia.org/wiki/Vektor_\(Gentechnik\)#Plasmidvektoren](https://de.wikipedia.org/wiki/Vektor_(Gentechnik)#Plasmidvektoren) (06.07.2018)
- [36] Weltert C. L.
2016. Extraktion und Quantifizierung von Nikotin aus Tabak und Untersuchung der antibiologischen Wirkung auf die Bakterien der humanen oralen Flora. Maturaarbeit, Kantonsschule Sursee
- [37] Anonym.
<https://www.dahw.de/unsere-arbeit/medizinische-soziale-arbeit/tuberkulose/welt-tuberkulose-tag/aufruf-zum-welt-tuberkulose-tag-am-24-maerz-20160.html>
- [38] Snapper SB, Melton RE, Mustafa S, Kieser T, Jacobs WR Jr.
Isolation and characterization of efficient plasmid transformation mutants of *Mycobacterium smegmatis*. Mol Microbiol. 4 (11), 1911-9, 1990.
doi: 10.1111/j.1365-2958.1990.tb02040.x
- [39] Kusunoki S, Ezaki T.
Proposal of *Mycobacterium peregrinum* sp. nov., nom. rev., and elevation of *Mycobacterium chelonae* subsp. *abscessus* (Kubica et al.) to species status: *Mycobacterium abscessus* comb. nov. Int J Syst Bacteriol. 42 (2), 240-5, 1992.
doi: 10.1099/00207713-42-2-240
- [40] Soni I, Chakrapani H, Chopra S.
Draft genome sequence of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Genome Announc. 3 (5), e01095-15, 2015.
doi: 10.1128/genomeA.01095-15.

- [41] Casadaban MJ, Cohen SN.
Analysis of gene control signals by DNA fusion and cloning in *Escherichia coli*. *J Mol Biol.* 138 (2), 179-207, 1980.
doi: 10.1016/0022-2836(80)90283-1
- [42] Brosch R, Gordon SV, Garnier T, Eiglmeier K, Frigui W, Valenti P, Dos Santos S, Duthoy S, Lacroix C, Garcia-Playo C, Inwald JK, Golby P, Garcia JN, Hewinson RG, Behr MA, Quail MA, Churcher C, Barrell BG, Parkhill J, Cole ST.
Genome plasticity of BCG and impact on vaccine efficacy. *Proc Natl Acad Sci.* 104 (13), 5596-601, 2007.
doi: 10.1073/pnas.0700869104
- [43] Venisse N, Grégoire N, Marliat M, Couet W.
Mechanism-Based Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Models of In Vitro Fungistatic and Fungicidal Effects against *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 52 (3), 937-943, 2008.
doi: 10.1128/AAC.01030-07
- [44] Anonym.
http://www.mpibpc.mpg.de/151749/Desinfizierende_Wirkung_von_Alkohol
- [45] Löttscher N.
2017. Wirkung von Juglon auf Bakterien der menschlichen Mund- und Darmflora. Maturaarbeit, Kantonsschule Sursee
- [46] Anonym.
<https://de.wikipedia.org/wiki/MTT-Test> (28.08.2018)
- [47] Naik SK, Mohanty S, Padhi A, Pati R, Sonawane A.
Evaluation of antibacterial and cytotoxic activity of *Artemisia nilagirica* and *Murraya koenigii* leaf extracts against mycobacteria and macrophages. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 14 (1), 87, 2014.
doi: 10.1186/1472-6882-14-87.
- [48] Matthys H, Seeger W.
Klinische Pneumologie. Springer Science & Business Media, Berlin 2008.
- [49] Dal Molin M, Selchow P, Tschumi A, Laage-Witt S, Sander P.
Identification of novel scaffolds targeting *Mycobacterium tuberculosis*. *Submitted.*
- [50] Geisenberger O, Ammendola A, Christensen B, Molin S, Schleifer K, Eberl L.
Monitoring the conjugal transfer of plasmid RP4 in activated sludge and in situ identification of the transconjugants, *FEMS Microbiology Letters*, 174 (1), 9–17, 1999.
doi: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13543.x
- [51] Loddenkemper R, Hauer B.
<https://www.aerzteblatt.de/archiv/67255/Resistente-Tuberkulose>
- [52] Lüscher H.
<https://www.vitalstoffmedizin.ch/index.php/de/wirkstoffe/cbd-cannabidiol>

- [53] Appendino G, Gibbons S, Giana A, Pagani A, Grassi G, Stavri M, Smith E, Rahman M. Antibacterial Cannabinoids from *Cannabis sativa*: a structure – activity study. J. Nat. Prod. 71 (8), 1427-1430, 2008.
doi: 10.1021/np8002673
- [54] Greenstein R, Su L, Brown S. Growth of *M. avium* subspecies paratuberculosis in culture is enhanced by nicotinic acid, nicotinamide, and α and β nicotinamide adenine dinucleotide. Dig Dis Sci. 56 (2), 368-75, 2011.
doi: 10.1007/s10620-010-1301-7.
- [55] Le Page M.
<https://www.newscientist.com/article/dn769-nicotine-fix/>
- [56] Anonym.
<https://www.nicotinell.de/haeufig-gestellte-fragen/wie-viel-nikotin-hat-eine-zigarette.html>
(26.07.2018)
- [57] Anonym.
<https://de.wikipedia.org/wiki/Effektivdosis> (19.09.2018)
- [58] Anonym.
<https://de.wikipedia.org/wiki/Tabakrauchen>
- [59] Anonym.
<http://www.exsmokers.de/rauchen-aufgeben/nikotin-inhalatoren/> (26.07.2018)
- [60] Global tuberculosis report 2016. World Health Organization, Geneva 2016.
- [61] Anonym.
https://en.wikipedia.org/wiki/Structure%E2%80%93activity_relationship
- [62] Anonym.
<https://de.wikipedia.org/wiki/Pathogenit%C3%A4t>
- [63] Koops M.
<http://www.biologie-lexikon.de/lexikon/mesophil.php>
- [64] Koops M.
<http://www.biologie-lexikon.de/lexikon/grampositiv.php>
- [65] Anonym.
<https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/zoosen/71915>
- [66] Anonym.
<https://de.wikipedia.org/wiki/Attenuierung>
- [67] Anonym.
https://de.wikipedia.org/wiki/In_vivo

8 Begriffserklärung

Pathogen: «Pathogenität [...] ist die grundsätzliche Fähigkeit von infektiösen Organismen oder Toxinen, einen bestimmten Organismus krank zu machen, auch wenn nicht jede Infektion zu einer Krankheit führt (inapparente bzw. asymptomatische Infektion).» [62]

Mesophilen: «Als mesophil bezeichnet man Mikroorganismen (Kleinstlebewesen), die optimal bei "mittleren" Temperaturen, d. h. ungefähr zwischen 20 und 45 Grad Celsius* wachsen.» [63]

Grampositive: «Grampositive Bakterien besitzen eine anders gebaute Zellwand als gramnegative Bakterien. Grampositive Bakterien halten mit ihrer Zellwand den Farbstoff Gentianaviolett nach dem Auswaschen des Farbstoffs vergleichsweise stark zurück und weisen somit eine gut erkennbare Färbung auf. Die Begriffe "grampositiv" und "gramnegativ" gehen auf den Dänen Hans Christian Gram (1853-1938) zurück.» [64]

Zoonosen: «Definiert nach der EU-Zoonoserichtlinie (92/117 EWG und weiteren Quellen dort) sind Zoonosen sämtliche Krankheiten und/oder sämtliche Infektionen, die auf natürlichem Weg zwischen (Wirbel-) Tier und Mensch übertragbar sind» [65]

Attenuierung: «Unter Attenuierung [...] versteht man in der Mikrobiologie die gezielte Verminderung der krankmachenden Eigenschaften eines Erregers (Virulenz), wobei aber gleichzeitig seine Vermehrungsfähigkeit erhalten bleibt oder nur gering herabgesetzt wird.» [66]

in vitro/in vivo: «Als in vivo [...] bezeichnet man in der Wissenschaft Prozesse, die im lebendigen Organismus ablaufen. Im Gegensatz dazu werden Abläufe, die in künstlicher Umgebung (z. B. im Reagenzglas) oder ganz allgemein außerhalb lebender Organismen stattfinden, mit dem Begriff in vitro belegt.» [67]

9 Anhang

9.1 Rohdaten der Fluoreszenzmessung

9.1.1 *M. smegmatis*

Tab. A1: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für *M. smegmatis*, Versuch 1

| | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| pre | 29943 | 32205 | 31631 | 31790 | 31782 | 31354 | 30938 | 31813 | 30808 | 32410 |
| | 33223 | 33878 | 32716 | 32289 | 32353 | 32865 | 32423 | 32466 | 32923 | 32411 |
| | 32354 | 32056 | 33705 | 33713 | 32430 | 33607 | 33482 | 34560 | 32565 | 34002 |
| | 22250 | 29408 | 31088 | 31933 | 32755 | 33637 | 33037 | 33132 | 33628 | 33241 |
| | 33263 | 35816 | 34684 | 34480 | 32877 | 32873 | 32706 | 33005 | 32747 | 33117 |
| | 32595 | 33559 | 33922 | 32466 | 33326 | 34505 | 32905 | 33976 | 32992 | 32780 |
| | 32516 | 31048 | 30979 | 31296 | 31870 | 33872 | 31712 | 32880 | 32100 | 33261 |
| post | 83390 | 115773 | 130802 | 235938 | 464826 | 618566 | 592411 | 912473 | 940851 | 687406 |
| | 53923 | 28158 | 29508 | 28562 | 129288 | 73129 | 269066 | 523893 | 609999 | 823569 |
| | 77210 | 54615 | 34087 | 28386 | 28560 | 41639 | 469062 | 990102 | 807428 | 800234 |
| | 43919 | 394576 | 1161304 | 416836 | 559837 | 1175164 | 543544 | 1211008 | 1093276 | 692073 |
| | 98468 | 30647 | 800798 | 309971 | 366058 | 729434 | 443560 | 761218 | 663463 | 618045 |
| | 800852 | 556852 | 751502 | 568413 | 889618 | 889834 | 603522 | 783191 | 822016 | 546304 |
| | 1471736 | 548759 | 672219 | 810632 | 876785 | 919726 | 588641 | 869525 | 926280 | 560643 |
| Inhibition % | 93.0670157 | 84.0715757 | 86.2237818 | 61.9569046 | 49.5190223 | 31.5986395 | 1.94050131 | -20 | -15.019439 | -20 |
| | 97.3033848 | 101.093745 | 100.446308 | 100.695175 | 88.692528 | 95.3015803 | 58.5635765 | 34.5396783 | 26.8684426 | -20 |
| | 94.1631598 | 95.7013773 | 99.9467816 | 100.99626 | 100.451476 | 99.061931 | 23.5878184 | -20 | 1.84786643 | -20 |
| | 98.5050563 | 29.6876294 | -20 | 50.5710165 | 37.5517458 | -20 | 8.11675222 | -20 | -18.70785 | -20 |
| | 95.4670682 | 101.007714 | -20.168148 | 64.505535 | 60.5192746 | 21.4569946 | 26.0967559 | 12.9473294 | 29.4132394 | -10.881359 |

Tab. A2: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für *M. smegmatis*, Versuch 2

| | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| pre | 27105 | 27826 | 27512 | 25469 | 27080 | 28749 | 27079 | 27783 | 28434 | 28645 |
| | 28582 | 28154 | 26682 | 27797 | 28041 | 28725 | 27958 | 28289 | 29115 | 27774 |
| | 27446 | 27667 | 27725 | 27698 | 28714 | 28981 | 29228 | 29800 | 29844 | 29499 |
| | 26090 | 28122 | 28086 | 27825 | 27753 | 28923 | 29044 | 28660 | 28415 | 29421 |
| | 30081 | 28902 | 29990 | 28969 | 28405 | 29700 | 28381 | 28622 | 28478 | 29802 |
| | 28044 | 28333 | 27467 | 28622 | 28643 | 29459 | 29417 | 29042 | 30276 | 29026 |
| | 27668 | 27401 | 27360 | 28982 | 28071 | 28792 | 27989 | 29347 | 29354 | 29892 |
| post | 70091 | 86185 | 110465 | 186331 | 480019 | 711734 | 912557 | 667541 | 945786 | 982801 |
| | 82468 | 52556 | 33774 | 28004 | 64344 | 157209 | 279427 | 409999 | 1190040 | 1173906 |
| | 86310 | 63653 | 44433 | 60245 | 49831 | 52194 | 47776 | 480194 | 1674058 | 944526 |
| | 1338217 | 1548336 | 1875145 | 785230 | 1568055 | 1996006 | 1437252 | 767496 | 930194 | 965274 |
| | 27333 | 80568 | 1014999 | 1093271 | 615758 | 774939 | 767040 | 657211 | 879449 | 932090 |
| | 1106527 | 907639 | 768109 | 836646 | 694954 | 716621 | 844645 | 647935 | 926701 | 868215 |
| | 1763590 | 686490 | 744899 | 957388 | 611202 | 815186 | 925048 | 705708 | 981840 | 781678 |
| Inhibition % | 96.0176835 | 93.3668859 | 88.7991715 | 80.1693095 | 32.1819685 | 0.71045194 | -8.3066077 | -3.161483 | -2.1246467 | -13.648177 |
| | 95.0010437 | 97.2254217 | 99.0434662 | 99.9744081 | 94.5565614 | 81.3221766 | 69.2086442 | 38.3986986 | -20 | -20 |
| | 94.5449878 | 95.9105517 | 97.7433332 | 95.9766264 | 96.8304215 | 96.6242511 | 97.7253356 | 27.1366287 | -83.330676 | -9.0985506 |
| | 24.4818993 | -20 | -20 | 18.5203155 | -20 | -20 | -20 | -9.1260885 | 5.41689173 | -20 |
| | 100.158522 | 92.1431048 | -20 | -14.635956 | -0.7817473 | 5.12383416 | 17.6217035 | 7.16260564 | 10.7399917 | -20 |

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien

9 Anhang

Tab. A3: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für *M. smegmatis*, Versuch 3

| | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| pre | 31568 | 30881 | 27204 | 30604 | 30304 | 30387 | 31343 | 31235 | 30765 | 31384 |
| | 30482 | | 30696 | 28386 | 28420 | 29643 | 31311 | 30587 | 29148 | 30963 |
| | 26703 | 31963 | 33085 | 31413 | 30658 | 30443 | 31329 | 31678 | 31440 | 32806 |
| | 31312 | 31605 | 33351 | 32835 | 32226 | 31237 | 31820 | 31966 | 30887 | 30824 |
| | 31867 | 33713 | 33420 | 32198 | 32989 | 31656 | 33345 | 31448 | 31087 | 32205 |
| | 31597 | 33418 | 32397 | 31834 | 31413 | 31743 | 33192 | 31628 | 32735 | 32051 |
| | 29636 | 33979 | 32209 | 32552 | 31833 | 30122 | 36583 | 31931 | 31729 | 33126 |
| post | 42248 | 60489 | 65870 | 105375 | 130702 | 461816 | 790895 | 248868 | 337108 | 496402 |
| | 33987 | 28217 | 24287 | 25142 | 21360 | 19464 | 20949 | 29147 | 45061 | 272108 |
| | 34510 | 28560 | 31956 | 25761 | 27273 | 25681 | 28013 | 36302 | 165056 | 232152 |
| | 349999 | 312087 | 251640 | 413319 | 266043 | 225092 | 141414 | 122275 | 147333 | 129616 |
| | 23973 | 26323 | 25000 | 169468 | 313959 | 236828 | 204800 | 181003 | 197961 | 180708 |
| | 624225 | 425580 | 407408 | 943776 | 384165 | 667415 | 1058498 | 237602 | 312824 | 432171 |
| | 227953 | 381808 | 298688 | 331431 | 244386 | 308422 | 327059 | 291759 | 194320 | 152562 |
| Inhibition % | 98.1979459 | 92.4985875 | 89.8301964 | 91.8119478 | 71.6278426 | 32.2747195 | 26.0528353 | -5.4592062 | -8.6095462 | -16.026218 |
| | 99.4096773 | 93.3697542 | 101.7013 | 100.354384 | 101.984568 | 101.596025 | 101.008774 | 100.695602 | 94.3904313 | 39.8952663 |
| | 98.6934372 | 100.864546 | 100.301611 | 100.61949 | 100.957548 | 100.7476 | 100.322829 | 97.7545114 | 52.514713 | 50.0842588 |
| | -20 | 19.9087386 | 17.7314133 | -20 | -10.207862 | 30.0629543 | 62.8795654 | 65.2380934 | 28.7500076 | 18.848675 |
| | 104.025785 | 102.122984 | 103.174148 | 54.1260489 | -20 | 25.8680618 | 41.6251864 | 42.5475681 | -2.2305539 | -20 |

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien

9 Anhang

9.1.2 *M. abscessus*

Tab. B1: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für *M. abscessus*, Versuch 1

| | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | | | | | | | | | | |
| pre | 3930 | 4008 | 4074 | 4113 | 3969 | 4200 | 4220 | 4231 | 4169 | 4058 | |
| | 4089 | 4042 | 4296 | 4165 | 4160 | 4322 | 4218 | 4287 | 4336 | 4231 | |
| | 3830 | 3998 | 4085 | 4301 | 4082 | 4235 | 4106 | 4250 | 4174 | 4290 | |
| | 4278 | 4225 | 4229 | 4295 | 4093 | 4117 | 4096 | 4198 | 4276 | 4395 | |
| | 6323 | 5445 | 5055 | 4717 | 4407 | 4218 | 4241 | 4259 | 4184 | 4134 | |
| | 4123 | 4017 | 4053 | 4203 | 4222 | 4209 | 4359 | 4228 | 4265 | 4201 | |
| | 3960 | 4031 | 4065 | 4196 | 4175 | 4220 | 4274 | 4276 | 4154 | 4189 | |
| | | | | | | | | | | | |
| post | 81757 | 70876 | 70126 | 99311 | 115532 | 134511 | 145668 | 156691 | 155052 | 349367 | |
| | 93224 | 44322 | 38539 | 265191 | 198734 | 180650 | 338081 | 284368 | 230410 | 270859 | |
| | 77588 | 98784 | 72908 | 89951 | 60073 | 58961 | 227040 | 170265 | 275707 | 226944 | |
| | 421262 | 295779 | 298237 | 332895 | 320808 | 294426 | 293898 | 406631 | 271507 | 261313 | |
| | 34782 | 43906 | 113436 | 178143 | 185289 | 236816 | 254172 | 246030 | 256586 | 258421 | |
| | 126799 | 142960 | 201540 | 175331 | 226004 | 207740 | 234318 | 227948 | 267823 | 249413 | |
| | 171544 | 204982 | 242906 | 243336 | 254598 | 259006 | 240576 | 229748 | 274597 | 291316 | |
| | | | | | | | | | | | |
| Inhibition % | 36.658555 | 51.8769071 | 66.5501909 | 44.3995374 | 49.754318 | 35.9776948 | 38.5270624 | 31.8514015 | 42.7723456 | -20 | |
| | 27.3612583 | 71.0044775 | 82.6392691 | -20 | 12.2924217 | 13.3174055 | -20 | -20 | 14.1991825 | -8.7469716 | |
| | 40.0190292 | 31.7899858 | 65.1449697 | 49.9210665 | 74.7699642 | 73.1082774 | 3.16143381 | 25.7861045 | -2.9903394 | 9.16641849 | |
| | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | 1.14308544 | 10.4568853 | |
| | 82.775192 | 80.7248781 | 54.4332376 | 27.3209594 | 27.7024353 | 8.70920138 | -5.7528508 | -7.2207513 | 6.66055256 | 11.4544087 | |
| | | | | | | | | | | | |
| 4183 | 4114 | 4129 | 4094 | 3988 | 4220 | 4044 | 4206 | 4131 | 4158 | 4070 | 4126 |
| 4315 | 4188 | 4293 | 4155 | 4125 | 4185 | 4225 | 4385 | 4240 | 4266 | 4238 | 4314 |
| 4170 | 4348 | 4252 | 4115 | 4213 | 4140 | 4255 | 4272 | 4181 | 4179 | 4315 | 4249 |
| 4307 | 4296 | 4148 | 4149 | 4295 | 4189 | 4227 | 4257 | 4289 | 4296 | 4285 | 4008 |
| 4213 | 4293 | 4373 | 4372 | 4204 | 4253 | 4183 | 4374 | 4274 | 4344 | 4205 | 4255 |
| 4313 | 4232 | 4151 | 4107 | 4280 | 4225 | 4305 | 4301 | 4333 | 4221 | 4248 | 4195 |
| 4121 | 4088 | 3988 | 4083 | 4072 | 4282 | 4202 | 4259 | 4223 | 4213 | 4230 | 4030 |
| | | | | | | | | | | | |
| 227846 | 296948 | 326144 | 125314 | 292526 | 200868 | 282288 | 202845 | 239319 | 187788 | 204209 | 371597 |
| 325001 | 449562 | 222211 | 186485 | 261014 | 200324 | 237843 | 172652 | 203796 | 200634 | 203603 | 260303 |
| 249295 | 228480 | 201269 | 243861 | 199207 | 196255 | 191942 | 247023 | 236120 | 204778 | 182837 | 280012 |
| 200555 | 248448 | 282342 | 348056 | 238312 | 241201 | 266250 | 230424 | 285605 | 311340 | 270512 | 162773 |
| 243827 | 233563 | 257095 | 186336 | 298214 | 247102 | 298421 | 207024 | 258917 | 237212 | 288684 | 275364 |
| 147538 | 235031 | 303847 | 254934 | 320079 | 248682 | 279998 | 278256 | 242872 | 285709 | 239302 | 276186 |
| 246691 | 251541 | 224960 | 267203 | 247394 | 192130 | 240154 | 238042 | 252878 | 205703 | 255125 | 188752 |
| | | | | | | | | | | | |
| -20 | -20 | -7.4393263 | 51.6743741 | 8.71679358 | 19.558868 | -0.8298485 | 27.5172414 | 1.48822364 | 34.7791342 | 14.9184635 | -20 |
| -20 | -20 | 27.2525154 | 27.2945502 | 18.694177 | 19.7785658 | 15.286123 | 38.5597599 | 16.3750042 | 30.2281457 | 15.1869278 | 5.84208745 |
| -20 | 2.83982782 | 34.2388892 | 4.41473732 | 38.26686 | 21.438853 | 31.9340835 | 11.3995708 | 2.82876187 | 28.7468476 | 24.0289888 | -1.4069435 |
| 19.0342597 | 1.25098586 | -20 | -20 | 3.73592652 | -20 | -11.061049 | 3.25854952 | -13.165104 | -20 | -6.1341891 | 14.0621617 |
| 1.18113808 | 7.27124183 | -14.567948 | 30.7676796 | -20 | -20 | -20 | 13.2743893 | -2.4291645 | -15.648171 | -13.374382 | -20 |

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien

9 Anhang

Tab. B2: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für *M. abscessus*, Versuch 2

| | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| pre | 4116 | 3998 | 4047 | 4208 | 3944 | 4200 | 4156 | 4140 | 3918 | 3990 | |
| | 4009 | 4338 | 4240 | 4269 | 4093 | 4057 | 4042 | 4070 | 4076 | 4219 | |
| | 3822 | 4038 | 4325 | 4402 | 4324 | 4304 | 4290 | 4039 | 4224 | 4117 | |
| | 4197 | 4133 | 4159 | 4193 | 4250 | 4253 | 4280 | 4150 | 4195 | 4234 | |
| | 6403 | 5717 | 5159 | 4771 | 4485 | 4505 | 4240 | 4186 | 4118 | 4267 | |
| | 3966 | 4282 | 4097 | 4117 | 4188 | 4162 | 4039 | 4006 | 3983 | 4016 | |
| | 3793 | 3886 | 4025 | 4108 | 4024 | 4283 | 4060 | 4047 | 4078 | 4143 | |
| post | 88022 | 68123 | 79544 | 87764 | 199129 | 123403 | 163466 | 167008 | 175871 | 230838 | |
| | 84041 | 52638 | 58029 | 232096 | 202224 | 271421 | 187708 | 329883 | 199631 | 388115 | |
| | 93318 | 71401 | 63261 | 73315 | 75580 | 67128 | 335942 | 138731 | 176652 | 253650 | |
| | 565064 | 534445 | 451754 | 515999 | 314395 | 233500 | 291593 | 262849 | 334318 | 255342 | |
| | 27036 | 33547 | 107136 | 133914 | 275130 | 179827 | 249795 | 263563 | 278888 | 260129 | |
| | 99277 | 175973 | 231268 | 240712 | 231532 | 241379 | 227525 | 267444 | 247734 | 273009 | |
| | 233503 | 278247 | 323356 | 240447 | 275568 | 271702 | 282808 | 290407 | 158385 | 256736 | |
| Inhibition % | 11.8273242 | 62.7126036 | 66.7737577 | 64.670365 | 14.2375696 | 49.7413346 | 28.6785543 | 38.1445022 | 29.4742757 | 15.6758445 | |
| | 15.9927783 | 71.8588866 | 76.3073277 | 3.64400722 | 12.8860925 | -12.658751 | 17.8165677 | -20 | 19.7420154 | -20 | |
| | 6.24273218 | 60.820659 | 74.0304834 | 70.8378824 | 68.6384282 | 73.5003691 | -20 | 48.8650557 | 29.1905877 | 7.1995448 | |
| | -20 | -20 | -20 | -20 | -14.310514 | 14.2838448 | -3.1540815 | 9.62701349 | -20 | 0.55207484 | |
| | 90.9145751 | 89.7882802 | 67.9516149 | 45.2031603 | 0.16157413 | 34.3847423 | 11.8509664 | 9.37876676 | -20 | -1.3439274 | |
| 4170 | 4059 | 4072 | 4133 | 4145 | 4185 | 4142 | 4672 | 4250 | 4110 | 3996 | 4082 |
| 4243 | 4237 | 4137 | 4116 | 4061 | 4234 | 4296 | 4467 | 4208 | 4195 | 4165 | 4174 |
| 4118 | 4178 | 4207 | 4044 | 4111 | 4085 | 4300 | 4555 | 4156 | 4290 | 4320 | 4165 |
| 4206 | 4174 | 4093 | 4099 | 4186 | 4261 | 4301 | 4417 | 4199 | 4253 | 4202 | 4290 |
| 4141 | 4227 | 4090 | 4203 | 4238 | 4226 | 4283 | 4585 | 4378 | 4240 | 4202 | 4134 |
| 4035 | 4036 | 4173 | 4160 | 4206 | 4186 | 4106 | 4341 | 4169 | 4188 | 4122 | 4234 |
| 4111 | 3831 | 4109 | 4253 | 3934 | 4145 | 4073 | 4323 | 4130 | 4094 | 4199 | 4133 |
| 235872 | 262123 | 294816 | 333967 | 260624 | 387702 | 311053 | 373503 | 265359 | 293155 | 270313 | 417116 |
| 279539 | 180913 | 274048 | 366769 | 408611 | 358634 | 230691 | 298957 | 240390 | 173195 | 270847 | 228084 |
| 170055 | 268501 | 289575 | 323174 | 353431 | 336834 | 295738 | 304105 | 252599 | 320520 | 287472 | 259760 |
| 184281 | 140074 | 348554 | 244059 | 390852 | 382981 | 285122 | 276223 | 319550 | 333761 | 185948 | 296268 |
| 316981 | 199008 | 238597 | 420606 | 292870 | 249943 | 306556 | 277004 | 324736 | 230609 | 159835 | 271684 |
| 261211 | 228049 | 355634 | 370824 | 261556 | 306176 | 246718 | 306056 | 295150 | 197639 | 271719 | 333182 |
| 267560 | 234462 | 271046 | 291957 | 264781 | 232857 | 304905 | 266760 | 283841 | 329238 | 224468 | 274836 |
| 9.8579604 | -15.212286 | 17.2993668 | 10.0512421 | 0.36206689 | -20 | -20 | -20 | 10.2409763 | -20 | 0.52516967 | -20 |
| -7.1324056 | 21.0605329 | 23.2110089 | 1.10578444 | -20 | -17.373535 | 6.61119865 | 2.35386569 | 18.8216208 | 12.6362151 | 0.32591552 | 31.9439041 |
| 35.4564302 | -18.069335 | 18.7973605 | 12.991439 | -20 | -10.148598 | -20 | 0.6470957 | 14.6226383 | -20 | -5.8911963 | 22.3155642 |
| 31.6224549 | 40.9869381 | -20 | 16.6394542 | -20 | -20 | 6.58108342 | -3.6071098 | -12.769541 | -1.3917565 | 17.4879464 | -7.9217582 |
| -18.761365 | 15.3990488 | 12.1551866 | -20 | -10.780946 | -7.4731773 | -0.5491947 | -3.9073138 | -14.633422 | 30.3475714 | 29.3431578 | 1.16438002 |

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien

9 Anhang

Tab. B3: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für *M. abscessus*, Versuch 3

| | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| pre | 3975 | 3974 | 4063 | 4004 | 3971 | 4131 | 4064 | 3965 | 4145 | 4008 | |
| | 4431 | 4230 | 4339 | 4008 | 4080 | 4017 | 4034 | 4184 | 4092 | 4005 | |
| | 4039 | 4564 | 4427 | 4836 | 4280 | 4354 | 4173 | 4049 | 4263 | 4108 | |
| | 4097 | 4011 | 4263 | 4089 | 4252 | 4169 | 4278 | 4229 | 4131 | 4088 | |
| | 6496 | 5690 | 5296 | 4826 | 4401 | 4393 | 4174 | 4190 | 4191 | 4071 | |
| | 4085 | 4133 | 4190 | 4066 | 4219 | 4087 | 4051 | 4136 | 4126 | 4033 | |
| | 3834 | 4062 | 3912 | 4097 | 4011 | 4110 | 4100 | 4017 | 4150 | 3979 | |
| post | 94759 | 77035 | 94996 | 202094 | 229645 | 204214 | 186959 | 186120 | 342679 | 269409 | |
| | 96857 | 55371 | 43649 | 388111 | 372017 | 309791 | 333087 | 299776 | 269858 | 293674 | |
| | 119105 | 120446 | 109542 | 105649 | 111051 | 79799 | 119765 | 148717 | 202531 | 309699 | |
| | 424329 | 414365 | 743632 | 343051 | 280709 | 405943 | 244831 | 262766 | 194854 | 201099 | |
| | 32029 | 34864 | 121267 | 165016 | 201319 | 184490 | 188529 | 274142 | 174088 | 183334 | |
| | 100287 | 160160 | 192413 | 201055 | 261141 | 286528 | 262330 | 180859 | 263199 | 263262 | |
| | 204094 | 253784 | 227218 | 240951 | 266822 | 286915 | 269690 | 151067 | 334271 | 349039 | |
| Inhibition % | 5.73967938 | 53.2217996 | 51.7212636 | -0.5272747 | 12.2471517 | 29.1483266 | 29.1834775 | -2.9740975 | -20 | -2.3710338 | |
| | 3.57828409 | 67.2025909 | 79.0986527 | -20 | -20 | -8.2343696 | -20 | -20 | -2.5699807 | -11.730445 | |
| | -19.551575 | 25.5237924 | 44.083602 | 48.6222027 | 58.4323817 | 73.2629512 | 55.2241465 | 18.178836 | 23.4297278 | -17.918689 | |
| | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | 9.36619294 | -20 | 42.2296601 | 42.8872507 | |
| 87.0783105 | 88.2407475 | 47.7424501 | 32.1588142 | 24.9610359 | 36.2538139 | 30.5672728 | -20 | 48.5285385 | 48.0348902 | | |
| 4033 | 4133 | 4032 | 4086 | 4057 | 3954 | 3993 | 4120 | 4053 | 4012 | 3980 | 4058 |
| 4245 | 4317 | 4218 | 4200 | 4009 | 4138 | 4216 | 6242 | 4091 | 4038 | 4097 | 3960 |
| 4141 | 4220 | 4026 | 3931 | 4030 | 3929 | 4321 | 5563 | 3980 | 4081 | 4381 | 4145 |
| 4184 | 4102 | 4071 | 4455 | 4114 | 3984 | 4057 | 4940 | 4032 | 3947 | 3989 | 4140 |
| 4099 | 4072 | 3985 | 4126 | 4004 | 4012 | 3957 | 5033 | 4067 | 4093 | 4158 | 4013 |
| 4069 | 4184 | 4135 | 4065 | 4121 | 3869 | 3922 | 5009 | 3968 | 4022 | 3968 | 4098 |
| 4271 | 4077 | 3989 | 4130 | 3981 | 3978 | 3957 | 3980 | 4102 | 4041 | 4101 | 3975 |
| 294873 | 459572 | 137815 | 289811 | 227459 | 270274 | 274707 | 324850 | 372735 | 288587 | 331153 | 356091 |
| 262792 | 747140 | 304485 | 296395 | 255766 | 256735 | 288187 | 271221 | 245966 | 305658 | 237491 | 251136 |
| 331055 | 307075 | 293690 | 371227 | 277344 | 170486 | 305292 | 242308 | 196710 | 229098 | 233509 | 260921 |
| 416454 | 366596 | 311053 | 262098 | 254701 | 246559 | 251893 | 248403 | 193632 | 259714 | 149899 | 198707 |
| 262272 | 268145 | 262449 | 294496 | 265175 | 360693 | 340633 | 250772 | 324390 | 265972 | 199667 | 293367 |
| 246078 | 281751 | 269578 | 343575 | 257011 | 252757 | 247462 | 350738 | 352462 | 291386 | 244237 | 258926 |
| 282213 | 275060 | 144383 | 329000 | 334068 | 255818 | 271952 | 305932 | 261084 | 322919 | 254922 | 423650 |
| -20 | -20 | 49.6196516 | 15.8367429 | 11.6827565 | -7.04051 | -11.190336 | 7.4687408 | -5.818736 | 0.97399208 | -20 | -20 |
| -6.911381 | -20 | -13.154582 | 13.9020258 | 0.49209097 | -1.6000386 | -16.74231 | 23.0821258 | 30.5697087 | -4.9667998 | 2.80919464 | 3.05530934 |
| -20 | -9.1247464 | -9.0799542 | -8.1414658 | -8.0373625 | 33.0634012 | -20 | 31.4130514 | 44.6944175 | 21.6800961 | 4.47268361 | -0.7830254 |
| -20 | -20 | -20 | 20.6140905 | 24.053959 | 3.67662826 | 7.48763508 | 19.1131326 | 26.240605 | 19.8152189 | 41.8530046 | 53.6204143 |
| 7.17008133 | 2.55177351 | -20 | 10.620733 | 20.8726186 | -20 | -20 | 18.3317326 | -24.631056 | 17.8614668 | 22.0346621 | 31.046595 |

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien

9 Anhang

9.1.3 *S. aureus*

Tab. C1: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für *S. aureus*, Versuch 1

| | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | | | | | | | | | | |
| pre | 16006 | 16900 | 17316 | 18313 | 17720 | 18399 | 18164 | 18422 | 18246 | 18183 | |
| | 17235 | 17641 | 17581 | 18171 | 17432 | 18136 | 17716 | 17758 | 17946 | 17732 | |
| | 17475 | 17536 | 17933 | 18239 | 18431 | 18179 | 17810 | 18207 | 18589 | 18005 | |
| | 17948 | 17842 | 18304 | 17768 | 17943 | 17990 | 18376 | 17839 | 17569 | 17894 | |
| | 19685 | 18675 | 18246 | 18248 | 18449 | 18335 | 18125 | 17922 | 17481 | 17644 | |
| | 17885 | 17618 | 17720 | 18023 | 17874 | 17740 | 17603 | 17929 | 17482 | 17525 | |
| | 18051 | 18402 | 18092 | 17705 | 17798 | 17880 | 17644 | 16764 | 17328 | 17084 | |
| | | | | | | | | | | | |
| post | 264249 | 313194 | 385659 | 386039 | 435584 | 514221 | 484791 | 628228 | 581604 | 655467 | |
| | 19256 | 20543 | 20752 | 20862 | 20927 | 46891 | 233148 | 364355 | 994578 | 937423 | |
| | 19923 | 21546 | 22002 | 21113 | 21402 | 21593 | 21206 | 22467 | 319706 | 384386 | |
| | 17748 | 16948 | 16943 | 17931 | 20764 | 261421 | 619285 | 940406 | 599486 | 593698 | |
| | 27094 | 1468621 | 1177816 | 600908 | 695889 | 577463 | 501632 | 485144 | 544424 | 504683 | |
| | 478537 | 486149 | 535642 | 477378 | 455377 | 474347 | 465004 | 467254 | 471235 | 534396 | |
| | 437304 | 573035 | 448173 | 434464 | 436472 | 439404 | 480842 | 476352 | 514052 | 513765 | |
| | | | | | | | | | | | |
| Inhibition % | 46.3294352 | 36.8578303 | 28.9360364 | 19.8967466 | 4.52249136 | -8.7452955 | -4.428207 | -20 | -20 | -20 | |
| | 99.5618922 | 99.3805869 | 99.3879099 | 99.4139898 | 99.2019546 | 93.6969955 | 51.8359536 | 22.8920836 | 8.37498234 | -20 | |
| | 99.4690519 | 99.1442832 | 99.2140372 | 99.3740458 | 99.3200533 | 99.2515915 | 99.240598 | 99.0513242 | 33.4762706 | 29.049693 | |
| | 100.047692 | 100.161025 | 100.316608 | 99.9608828 | 99.3259726 | 42.2347146 | 20.573852 | -20 | -17.20784 | -16.119717 | |
| | 98.2258949 | 55.8336678 | -20 | -20 | -20 | -20 | -4.4930271 | -1.9178501 | -6.1163459 | 1.83060181 | |
| | | | | | | | | | | | |
| 10150 | 18018 | 18152 | 17885 | 18054 | 18060 | 18339 | 19746 | 18423 | 18443 | 18672 | 18904 |
| 17574 | 17778 | 17432 | 17914 | 17907 | 17997 | 18058 | 18904 | 18159 | 18110 | 18719 | 18000 |
| 17803 | 17897 | 18015 | 17892 | 17887 | 18089 | 18177 | 18196 | 18553 | 18347 | 18898 | 18432 |
| 17934 | 17980 | 18096 | 17720 | 18135 | 17832 | 18537 | 18728 | 18341 | 18968 | 18573 | 18201 |
| 17586 | 17332 | 17973 | 18199 | 18074 | 17937 | 18223 | 18210 | 18589 | 18250 | 18217 | 18032 |
| 17429 | 18180 | 17929 | 18043 | 17830 | 18188 | 18356 | 18092 | 17944 | 18307 | 17987 | 18544 |
| 17483 | 17754 | 17764 | 17803 | 17469 | 17385 | 17697 | 18055 | 17631 | 18105 | 17725 | 18579 |
| | | | | | | | | | | | |
| 10250 | 641657 | 496394 | 461647 | 436107 | 469490 | 490979 | 470429 | 476130 | 451507 | 505802 | 533068 |
| 755878 | 665117 | 550664 | 543140 | 516733 | 506374 | 495176 | 503501 | 537154 | 518044 | 533276 | 533880 |
| 1063009 | 793803 | 627346 | 554904 | 496723 | 475810 | 486393 | 476051 | 484289 | 505329 | 535349 | 521497 |
| 571711 | 577406 | 569057 | 806152 | 526348 | 528955 | 506977 | 495435 | 532734 | 601087 | 530514 | 538127 |
| 646330 | 567862 | 488727 | 461450 | 523995 | 470671 | 400778 | 451855 | 471213 | 498329 | 533211 | 502051 |
| 505962 | 504978 | 437655 | 504040 | 499849 | 517993 | 491028 | 484664 | 514649 | 517054 | 526295 | 497557 |
| 524894 | 558652 | 596734 | 488262 | 466638 | 537882 | 492429 | 502432 | 510922 | 508578 | 505926 | 624962 |
| | | | | | | | | | | | |
| -20 | -20 | -14.002045 | 8.72005842 | 13.2301082 | 9.70190005 | 0.01036622 | 3.06183026 | 7.76239052 | 13.1459194 | 4.03705112 | -7.4189444 |
| -20 | -20 | -20 | -8.0431822 | -3.5033261 | 2.32381859 | -0.8770112 | -4.0443576 | -4.5328204 | -0.1984191 | -1.3753605 | -7.5742821 |
| 0.8753445 | -10.836496 | -20 | -10.462657 | 0.64859885 | 8.43822014 | 0.98022421 | 1.84642891 | 6.11978327 | 2.35107989 | -1.7844016 | -4.9966084 |
| -9.2348509 | -3.4686464 | 4.78312866 | -20 | -13.313177 | 1.71656571 | -3.0698978 | 1.44654582 | -4.4281042 | -18.894426 | -5.0452136 | 14.3112362 |
| -20 | -1.7013966 | 18.6617619 | 5.70391628 | -12.786804 | 12.9265595 | 19.3272544 | 10.4450025 | 8.06547601 | 2.09023348 | -5.5945246 | 20.2512646 |

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien

9 Anhang

Tab. C2: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für *S. aureus*, Versuch 2

| | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| pre | 15552 | 16414 | 17524 | 17695 | 17787 | 17925 | 17958 | 18079 | 18173 | 17671 | |
| | 16725 | 16925 | 17811 | 17765 | 17950 | 17637 | 18185 | 17932 | 17828 | 17520 | |
| | 17352 | 17393 | 17779 | 18029 | 17847 | 18034 | 18135 | 18148 | 18284 | 17721 | |
| | 17732 | 17890 | 17810 | 17643 | 18377 | 17383 | 18042 | 17862 | 17949 | 17325 | |
| | 19456 | 18543 | 17833 | 17766 | 17794 | 17923 | 17799 | 17616 | 17573 | 17482 | |
| | 17214 | 17398 | 17370 | 17174 | 17433 | 17974 | 17627 | 16996 | 17560 | 17685 | |
| | 17862 | 17691 | 17124 | 17880 | 17709 | 17282 | 17518 | 17479 | 17474 | 17039 | |
| post | 262483 | 295603 | 312797 | 374159 | 396433 | 428057 | 417852 | 413322 | 460277 | 563380 | |
| | 17096 | 17025 | 17785 | 17915 | 17927 | 338982 | 175766 | 361344 | 920830 | 913578 | |
| | 16960 | 17783 | 17650 | 17921 | 17987 | 17774 | 18289 | 26213 | 239427 | 382012 | |
| | 16969 | 17063 | 16589 | 16394 | 16946 | 322725 | 635261 | 755654 | 584979 | 581913 | |
| | 23782 | 1344448 | 1223287 | 612502 | 473422 | 507899 | 487365 | 563233 | 558423 | 555584 | |
| | 481485 | 461422 | 525756 | 494426 | 499096 | 488684 | 501112 | 590674 | 534435 | 535221 | |
| | 344472 | 388190 | 396407 | 473939 | 471100 | 468010 | 521099 | 497070 | 491718 | 621827 | |
| Inhibition % | 47.0028953 | 37.2620268 | 41.9019267 | 25.2274343 | 21.3299564 | 12.8785642 | 17.2326008 | 30.9733756 | 14.3644119 | -5.440827 | |
| | 99.9201739 | 99.9775027 | 100.005119 | 99.9685311 | 100.00478 | 31.7806928 | 67.3696024 | 40.0407164 | -20 | -20 | |
| | 100.084459 | 99.9121679 | 100.025395 | 100.02267 | 99.970909 | 100.055243 | 99.9681144 | 98.5913304 | 57.1553673 | 29.6056039 | |
| | 100.233519 | 100.223332 | 100.322507 | 100.273726 | 100.316087 | 32.2406336 | -20 | -20 | -19.68491 | 6.6027904 | |
| | 98.6689886 | -20 | -0.7644849 | -20 | -0.5122368 | -8.8625088 | 6.70256308 | -13.799655 | -14.068481 | 10.9611232 | |
| 17634 | 18210 | 17931 | 18393 | 18016 | 18706 | 18765 | 18774 | 18068 | 18435 | 18652 | 18396 |
| 17093 | 17608 | 17810 | 17803 | 17594 | 18295 | 17650 | 18357 | 17660 | 18288 | 18413 | 17804 |
| 17779 | 17657 | 17957 | 17852 | 17996 | 18324 | 18255 | 17868 | 17797 | 18012 | 18213 | 18006 |
| 17656 | 17600 | 18109 | 17605 | 17961 | 17388 | 17806 | 18110 | 17859 | 17967 | 17901 | 17452 |
| 17653 | 17494 | 18295 | 17895 | 17410 | 17946 | 17367 | 17960 | 17643 | 18065 | 17607 | 17579 |
| 17267 | 17796 | 17837 | 17574 | 18040 | 17646 | 16979 | 18126 | 16935 | 17698 | 17790 | 17008 |
| 17032 | 17535 | 18024 | 17662 | 17302 | 17638 | 17093 | 18159 | 16370 | 17082 | 16907 | 17458 |
| 471466 | 522987 | 410824 | 415339 | 500304 | 405678 | 496144 | 426849 | 415553 | 557158 | 460398 | 616025 |
| 697191 | 625079 | 467323 | 444917 | 446130 | 456575 | 424433 | 422159 | 425870 | 462493 | 466186 | 509432 |
| 1000847 | 835485 | 561045 | 492187 | 491655 | 441677 | 426793 | 444124 | 447367 | 438714 | 410879 | 439379 |
| 690812 | 519922 | 483334 | 594850 | 439775 | 472077 | 461378 | 468885 | 458908 | 766228 | 485462 | 493308 |
| 860282 | 489045 | 429824 | 388727 | 487118 | 458684 | 540333 | 444387 | 443905 | 455496 | 492628 | 467771 |
| 643756 | 467373 | 442378 | 488401 | 499419 | 444811 | 454522 | 444361 | 485300 | 443367 | 463798 | 496250 |
| 641702 | 496847 | 429906 | 468258 | 465613 | 467818 | 444798 | 439435 | 439661 | 489520 | 485181 | 445731 |
| 27.5170015 | -12.381697 | 7.43414372 | 15.5448418 | -0.1838377 | 9.1838866 | -9.5516538 | 4.11478734 | 14.9277019 | -20 | -20 | -20 |
| -8.5269116 | -20 | -5.8753839 | 9.24015827 | 11.0598246 | -2.7581615 | 6.88737204 | 5.21168815 | 12.7084937 | -4.4993989 | -0.5361653 | -2.7551699 |
| 1.89 | 8.37477885 | -9.3846559 | -0.8045921 | 1.61271896 | 0.73484069 | 6.35597008 | 0.05556949 | 8.11395863 | 1.09390979 | 11.8762975 | 11.8916285 |
| -7.8696122 | -4.814845 | -12.974354 | -20 | 5.77189424 | -0.9455409 | -3.8829767 | -6.9898534 | -4.5630414 | -20 | -0.0601353 | -11.10888 |
| -20 | 1.62761055 | 0.01992172 | 17.6593104 | -4.7980491 | 2.0303553 | -20 | -1.1749214 | -1.0056443 | 7.21680754 | -1.5926891 | -5.1477046 |

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien

9 Anhang

Tab. C3: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für *S. aureus*, Versuch 3

| | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| pre | 16139 | 17038 | 17436 | 18081 | 17709 | 17744 | 18439 | 18743 | 18522 | 18445 | |
| | 17531 | 17765 | 17623 | 17749 | 17223 | 17541 | 17986 | 18183 | 18102 | 17595 | |
| | 18102 | 17737 | 18215 | 18251 | 17984 | 17707 | 18475 | 18705 | 18579 | 18002 | |
| | 17825 | 17068 | 17952 | 17994 | 17752 | 17564 | 18395 | 18040 | 18292 | 17931 | |
| | 19438 | 18325 | 18017 | 18397 | 17745 | 17977 | 18421 | 18191 | 18144 | 17512 | |
| | 17856 | 17757 | 17308 | 18533 | 17117 | 17313 | 17744 | 17630 | 17876 | 17896 | |
| | 17449 | 17248 | 18014 | 17586 | 17459 | 17061 | 17694 | 17246 | 17840 | 17147 | |
| post | 291694 | 393868 | 452126 | 458625 | 560135 | 501836 | 517831 | 486745 | 515769 | 557268 | |
| | 16450 | 18217 | 17860 | 18135 | 161344 | 23371 | 361088 | 360453 | 853880 | 862141 | |
| | 17354 | 17247 | 18487 | 18218 | 17958 | 17658 | 18233 | 134447 | 446725 | 361704 | |
| | 17048 | 16273 | 16419 | 16549 | 16214 | 302692 | 672716 | 733666 | 611950 | 633462 | |
| | 26214 | 1512033 | 1385795 | 862490 | 736665 | 662783 | 653224 | 622899 | 625265 | 625353 | |
| | 569189 | 560979 | 588293 | 601398 | 560455 | 557206 | 546234 | 569276 | 652382 | 638342 | |
| | 457239 | 455158 | 517622 | 506858 | 552551 | 575217 | 566921 | 570464 | 583822 | 603242 | |
| Inhibition % | 50.175391 | 30.7222658 | 23.853084 | 24.4760568 | 0.05895944 | 10.2639296 | 5.38144545 | 14.9911086 | 21.552551 | 13.0786244 | |
| | 100.195955 | 99.9167915 | 99.9584699 | 99.9338644 | 73.4697146 | 98.9197002 | 35.0490679 | 37.8925154 | -20 | -20 | |
| | 100.135732 | 100.090199 | 99.9522872 | 100.005659 | 100.004793 | 100.009083 | 100.045854 | 78.9778248 | 32.4480951 | 44.5945772 | |
| | 100.176826 | 100.18147 | 100.306802 | 100.295583 | 100.287585 | 48.8699962 | -19.287144 | -20 | -4.9737414 | -5.1630672 | |
| | 98.4522648 | -19.737377 | -20 | -3.8573783 | -20 | -15.714234 | -15.734366 | -9.4943986 | -7.3262527 | -3.7749475 | |
| 18080 | 18373 | 18594 | 18603 | 18477 | 18196 | 18305 | 17886 | 18779 | 18779 | 18894 | 18517 |
| 17138 | 17679 | 18479 | 18432 | 17900 | 17725 | 17335 | 17837 | 18165 | 18241 | 18702 | 18286 |
| 17516 | 18294 | 18302 | 17962 | 18216 | 17941 | 17830 | 17720 | 16704 | 18721 | 18210 | 17866 |
| 17499 | 17629 | 18543 | 18540 | 18373 | 17839 | 17169 | 17226 | 16041 | 18365 | 18640 | 17986 |
| 17469 | 18000 | 18421 | 18675 | 18223 | 17578 | 17922 | 17846 | 15514 | 18810 | 17935 | 17687 |
| 16755 | 17656 | 18440 | 18766 | 17527 | 17933 | 17881 | 17615 | 16765 | 17324 | 18103 | 17508 |
| 17147 | 17820 | 18523 | 18764 | 17314 | 17152 | 18273 | 16710 | 15843 | 16968 | 18011 | 17558 |
| 566011 | 597815 | 650544 | 672147 | 669144 | 635186 | 635350 | 694777 | 685607 | 657331 | 655171 | 675257 |
| 705720 | 668818 | 660153 | 651140 | 648744 | 683840 | 660644 | 671893 | 667614 | 753429 | 672326 | 812834 |
| 997424 | 903976 | 753909 | 672596 | 705426 | 636133 | 647516 | 660806 | 774489 | 653542 | 674397 | 658230 |
| 640089 | 639216 | 662966 | 620721 | 702751 | 734776 | 896204 | 908881 | 813583 | 735664 | 703565 | 685910 |
| 710577 | 627468 | 596535 | 641626 | 613287 | 760552 | 770254 | 704429 | 770075 | 721057 | 714753 | 748474 |
| 576453 | 613885 | 638070 | 649509 | 676767 | 718368 | 653047 | 661444 | 878944 | 625590 | 844075 | 797177 |
| 592843 | 611680 | 618912 | 671384 | 647043 | 591429 | 696285 | 616975 | 875211 | 646883 | 691987 | 715987 |
| 1.8700761 | 2.69851825 | -2.0136373 | -3.5881732 | 1.15800027 | 11.8802237 | 2.78806192 | -5.1794865 | 22.4767341 | -5.2307885 | 22.8924321 | 15.6576683 |
| -20 | -9.2137617 | -3.5641254 | -0.2584471 | 4.25321044 | 4.92804467 | -1.195038 | -1.6235063 | -20 | -20 | 20.8086526 | -2.0101657 |
| -20 | -20 | -18.690704 | -3.6556266 | -4.351827 | 11.7406953 | 0.87072607 | 0.0991108 | 12.1143765 | -4.6059364 | 20.5454887 | 17.8294673 |
| -8.2117829 | -4.6352923 | -7.3378206 | 7.76035316 | -8.8612468 | -20 | -20 | -20 | 7.17296926 | -14.125451 | -1.7194701 | 4.30901961 |
| -20 | -2.6593451 | 3.72645052 | 4.5591527 | 5.36814987 | -20 | -10.904044 | -14.596856 | 12.229425 | -11.809774 | -3.3774842 | -4.6522984 |

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien

9 Anhang

9.1.4 *E. coli*

Tab. D1: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für E. coli, Versuch 1

| | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| pre | 30085 | 31776 | 31865 | 32565 | 32197 | 33714 | 32410 | 32438 | 30966 | 32176 | |
| | 31863 | 31686 | 30893 | 32656 | 32612 | 32280 | 32433 | 32936 | 31365 | 30505 | |
| | 32215 | 32195 | 31636 | 31581 | 32669 | 32903 | 32429 | 33008 | 30677 | 31893 | |
| | 31193 | 30839 | 32230 | 31647 | 32145 | 32771 | 31681 | 32649 | 32195 | 31603 | |
| | 32667 | 31946 | 31864 | 31327 | 33365 | 33115 | 31887 | 32064 | 31965 | 29919 | |
| | 33480 | 31624 | 30509 | 31600 | 32130 | 31955 | 31372 | 30582 | 31663 | 29609 | |
| | 32284 | 31841 | 32076 | 32237 | 32695 | 31265 | 30852 | 31774 | 31540 | 31418 | |
| post | 1946896 | 2057687 | 3225166 | 3143755 | 3360627 | 3715396 | 3840230 | 4951953 | 4287716 | 5241392 | |
| | 3083755 | 3248434 | 3292063 | 3477416 | 3384056 | 3352889 | 3604237 | 3399988 | 3499631 | 3359329 | |
| | 398328 | 2401993 | 3394560 | 3230720 | 3018673 | 3063746 | 3149153 | 3203606 | 3229156 | 3208820 | |
| | 2801066 | 2588272 | 3141572 | 3478858 | 3137269 | 3380624 | 3342213 | 3969829 | 3181239 | 3173470 | |
| | 28190 | 33935 | 900430 | 1786237 | 2898402 | 3386005 | 3329773 | 3276647 | 3285590 | 3190723 | |
| | 3476746 | 3224766 | 3119579 | 3143154 | 2944997 | 3107662 | 3092999 | 3086968 | 3039187 | 3253580 | |
| | 1632777 | 2300404 | 2808729 | 2897615 | 3301544 | 3627977 | 3336698 | 3448516 | 3350397 | 3506401 | |
| Inhibition % | 44.3864366 | 36.5512889 | -3.4195848 | -0.0193211 | -14.269088 | -19.770471 | -20 | -20 | -20 | -20 | |
| | 11.4079636 | -0.7412279 | -5.5843812 | -10.746253 | -15.075582 | -7.9738712 | -16.704034 | -10.249401 | -15.30822 | -3.2809972 | |
| | 89.37118 | 25.7714864 | -8.9049895 | -2.8142036 | -2.5297975 | 1.42827454 | -1.8347563 | -3.819238 | -6.3143882 | 1.38933422 | |
| | -20 | -12.68384 | -11.987867 | -20 | 5.02462379 | 6.88007864 | -0.1668675 | -15.261513 | 5.09788132 | 9.58130516 | |
| | 100.279793 | 99.9123193 | 68.7213458 | 38.7741218 | 12.3353709 | 6.73105115 | 0.209543 | 5.03062827 | 1.95294042 | 9.08038644 | |
| 32845 | 32017 | 34676 | 35381 | 35207 | 35028 | 35551 | 35109 | 35428 | 35725 | 35022 | 33526 |
| 31507 | 31645 | 32011 | 33092 | 33669 | 33125 | 33160 | 32958 | 33707 | 32925 | 33026 | 33807 |
| 32794 | 32164 | 33412 | 33270 | 34266 | 33585 | 32692 | 32737 | 34231 | 33745 | 33756 | 31723 |
| 32405 | 31822 | 31837 | 33354 | 33831 | 33120 | 32776 | 33456 | 33762 | 33913 | 34244 | 32845 |
| 30975 | 32521 | 32327 | 32681 | 34133 | 32016 | 34408 | 30483 | 33936 | 33616 | 33613 | 33194 |
| 31220 | 32774 | 33667 | 32642 | 33508 | 32238 | 32020 | 32064 | 34200 | 33726 | 33410 | 33311 |
| 30507 | 31991 | 32176 | 32140 | 32145 | 32313 | 29093 | 32234 | 30819 | 33085 | 31613 | 33354 |
| 4266773 | 4221544 | 4538237 | 3849660 | 3991808 | 4082205 | 5043317 | 4325096 | 4465994 | 5414477 | 4372455 | 5587857 |
| 3424685 | 3672278 | 3433467 | 3507034 | 3596421 | 3517259 | 3707518 | 3658343 | 3745228 | 3745519 | 3688024 | 3859867 |
| 3366283 | 3724564 | 3332307 | 3199097 | 3232248 | 3282341 | 3294642 | 3250355 | 3141449 | 3403940 | 3330029 | 3279651 |
| 3421352 | 3878746 | 3285818 | 3089815 | 3066878 | 3123287 | 3672628 | 3215418 | 3120467 | 3884733 | 3186582 | 3295592 |
| 4215685 | 3983844 | 3381306 | 3065385 | 3080362 | 3001618 | 3671127 | 2898244 | 2976562 | 3064140 | 3130842 | 3184262 |
| 3400209 | 3792228 | 3386652 | 3261033 | 3112060 | 3128352 | 2990483 | 3083670 | 3244062 | 3141798 | 3289304 | 3344353 |
| 3724560 | 4444973 | 3575202 | 3297975 | 3151301 | 3136284 | 2931992 | 3298294 | 3247605 | 3303789 | 3299519 | 3512811 |
| -20 | -11.417338 | -20 | -18.248311 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 |
| -0.7265706 | 3.18966501 | -1.3955294 | -7.6209881 | -15.734226 | -12.564733 | -20 | -18.83734 | -15.610922 | -19.419288 | -12.244655 | -15.571872 |
| 1.00747903 | 1.79954384 | 1.62067135 | 1.91885216 | -3.9050047 | -4.9757865 | -10.283316 | -5.4634107 | 3.19683497 | -8.4342835 | -1.2509415 | 1.95319127 |
| 8.21222294 | 12.830447 | 8.16692607 | 6.37623785 | 2.70806134 | 0.41883059 | -20 | 2.53844142 | 3.95594931 | -17.766545 | 3.45872859 | 6.24198627 |
| -13.296702 | 10.4506293 | 5.47284338 | 7.12309519 | 2.27575158 | 4.33809194 | -20 | 12.2421401 | 8.43406711 | 7.32832789 | 5.16478429 | 9.44210239 |

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien

9 Anhang

Tab. D2: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für E. coli, Versuch 2

| | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| pre | 29486 | 30637 | 32149 | 32469 | 33063 | 32306 | 32277 | 33441 | 32210 | 34407 | |
| | 30392 | 32319 | 32777 | 32923 | 32137 | 33032 | 30713 | 31546 | 32318 | 32741 | |
| | 31492 | 31960 | 32832 | 33356 | 33563 | 31842 | 32788 | 33117 | 32833 | 32868 | |
| | 29900 | 31297 | 32924 | 33582 | 33811 | 32690 | 33569 | 32875 | 32940 | 32961 | |
| | 31835 | 31029 | 31907 | 32687 | 33623 | 33526 | 33005 | 32890 | 32551 | 33013 | |
| | 32608 | 31503 | 32768 | 32350 | 32880 | 32711 | 31702 | 30993 | 31927 | 32699 | |
| | 31043 | 32235 | 33515 | 32300 | 33029 | 31469 | 31965 | 32612 | 32589 | 32687 | |
| post | 2661895 | 2471893 | 3880562 | 3232715 | 4611609 | 3976888 | 4219950 | 4220297 | 4474891 | 5514189 | |
| | 3587039 | 3343419 | 3248091 | 3387749 | 3710849 | 3678398 | 3948925 | 3932306 | 4073987 | 3945547 | |
| | 371853 | 2368469 | 3586328 | 3252954 | 3166534 | 3066685 | 3220802 | 3324234 | 3522893 | 3710172 | |
| | 2723833 | 2921166 | 3511578 | 3847543 | 3335616 | 3613471 | 3608233 | 4332928 | 3378368 | 3533559 | |
| | 27448 | 31481 | 999984 | 2155664 | 3524404 | 3723670 | 3905728 | 3896062 | 3734850 | 3693958 | |
| | 3273305 | 3236709 | 3349986 | 3297732 | 3174963 | 3182542 | 3196780 | 3422768 | 3562372 | 3677028 | |
| | 1556266 | 2231154 | 3023843 | 3484154 | 3723263 | 3945893 | 3837518 | 3899464 | 4008211 | 3872820 | |
| Inhibition % | 18.8484623 | 23.8552347 | -15.991623 | 1.99117192 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | |
| | -9.6744501 | -3.330119 | 3.07170878 | -2.7571904 | -17.051087 | -15.743909 | -20 | -15.025203 | -14.493121 | -7.3682177 | |
| | 89.5009058 | 27.0922933 | -7.1248426 | 1.37171698 | 0.26831986 | 3.67718285 | -0.7592307 | 2.90690694 | 1.11853134 | -0.90951 | |
| | -20 | -20 | -16.307195 | -10.531268 | 10.5068991 | 8.49488258 | 6.02755189 | -11.210501 | 15.8440267 | 8.83524629 | |
| | 100.28778 | 99.9794557 | 67.6437932 | 38.4905897 | 5.38965861 | 5.68001417 | -1.7928707 | 0.08798487 | 6.87586464 | 4.6580987 | |
| 32761 | 34062 | 33371 | 33184 | 34023 | 33005 | 33252 | 33190 | 32700 | 32776 | 32963 | 34171 |
| 31254 | 33190 | 32632 | 30907 | 32677 | 31672 | 32329 | 31805 | 32728 | 33672 | 33163 | 33441 |
| 31630 | 32780 | 32667 | 32255 | 33255 | 31567 | 31117 | 31510 | 33864 | 32289 | 31664 | 32797 |
| 32194 | 33149 | 33472 | 33147 | 34424 | 31280 | 33496 | 32226 | 31836 | 33003 | 32691 | 31583 |
| 33344 | 33257 | 33449 | 33870 | 33819 | 32475 | 32369 | 33375 | 31972 | 33075 | 32448 | 32809 |
| 31736 | 33068 | 33349 | 32971 | 32469 | 30606 | 32866 | 31067 | 32021 | 31638 | 31437 | 29399 |
| 31823 | 33517 | 33846 | 33360 | 32296 | 31184 | 31200 | 30803 | 32458 | 31888 | 32597 | 29934 |
| 4373272 | 5802147 | 4668111 | 4140402 | 5565912 | 4539323 | 4477758 | 4910294 | 4947182 | 5838340 | 5000240 | 6108142 |
| 3852238 | 4101873 | 3660898 | 3724627 | 3754551 | 3891950 | 3853461 | 3930044 | 4087103 | 3922490 | 3976720 | 3792287 |
| 3748684 | 4063646 | 3636939 | 3365852 | 3252250 | 3447055 | 3451063 | 3539160 | 3620581 | 3651822 | 3664597 | 3628203 |
| 3656363 | 4016753 | 3647291 | 4285294 | 3131868 | 3343563 | 3320113 | 3466063 | 3378503 | 4273195 | 3433884 | 3610282 |
| 3638388 | 4117610 | 3649784 | 3178454 | 3202398 | 3329974 | 3916731 | 3329370 | 3119173 | 3254645 | 3400321 | 3426439 |
| 3747321 | 4144713 | 3547544 | 3361730 | 3373686 | 3402600 | 3251545 | 3475827 | 3498964 | 3571736 | 3477503 | 3540526 |
| 3899830 | 4290925 | 3731933 | 3498156 | 3517129 | 3231993 | 3384788 | 3447553 | 3558537 | 3610766 | 3439628 | 3699176 |
| -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 |
| -2.8233345 | 1.04194966 | -3.2249456 | -10.895115 | -11.3997 | -14.516774 | -18.697596 | -13.188563 | -16.967656 | -9.9137268 | -14.493836 | -7.1786398 |
| -0.0366823 | 1.97150586 | -2.5433322 | -0.1238033 | 3.63533927 | -1.3187352 | -6.1953877 | -1.838768 | -3.5097688 | -2.2626698 | -5.429563 | -2.4995375 |
| 6.29498226 | 6.43932419 | 2.28857354 | -20 | 11.0621198 | -3.4857858 | 1.92985273 | -0.5419686 | 5.10488414 | -18.515173 | 0.16859719 | 2.42376949 |
| 6.76174697 | 4.07065558 | 2.22115332 | 9.22851058 | 9.03540024 | -3.0623675 | -15.867438 | 3.46153598 | 12.4586956 | 9.95393398 | 1.15365199 | 7.43888978 |

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien

9 Anhang

Tab. D3: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für *E. coli*, Versuch 3

| | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| pre | 31152 | 32582 | 33693 | 33876 | 34793 | 35010 | 34574 | 33947 | 34977 | 34358 | |
| | 32526 | 32554 | 33330 | 32913 | 34716 | 33606 | 34256 | 34764 | 34352 | 33116 | |
| | 32988 | 33869 | 33635 | 34462 | 34217 | 34348 | 35608 | 33366 | 34089 | 32811 | |
| | 32285 | 32048 | 33512 | 34361 | 35248 | 33210 | 33592 | 34601 | 34646 | 34736 | |
| | 31031 | 32166 | 32844 | 33675 | 32941 | 34912 | 34983 | 34629 | 33250 | 33950 | |
| | 32997 | 33712 | 34424 | 32464 | 34230 | 33416 | 34730 | 34187 | 33584 | 33076 | |
| | 31927 | 32235 | 34251 | 34106 | 32749 | 34260 | 32956 | 32817 | 32951 | 32838 | |
| post | 2226080 | 2567622 | 2968150 | 3438065 | 4718601 | 4962262 | 5502557 | 6662039 | 5766871 | 6607806 | |
| | 4214100 | 3876646 | 3467876 | 3810966 | 4423312 | 4768249 | 4827748 | 5153445 | 5329197 | 5242010 | |
| | 312367 | 1732216 | 3725485 | 3264345 | 3901859 | 3985165 | 4196357 | 4415498 | 4642708 | 4791520 | |
| | 3051730 | 3364642 | 4077112 | 5060113 | 4681272 | 5205207 | 4973344 | 4587915 | 4493770 | 4628559 | |
| | 30273 | 38296 | 1227991 | 2876416 | 4190066 | 5093536 | 5317757 | 5118658 | 4960868 | 4734020 | |
| | 3878852 | 3899770 | 4150331 | 4082040 | 4535499 | 4113022 | 4145043 | 4251696 | 4472518 | 4614155 | |
| | 1720604 | 2616962 | 3684899 | 4355509 | 4771423 | 4840944 | 5064811 | 5004372 | 5102533 | 4921254 | |
| Inhibition % | 42.9548042 | 34.447459 | 28.7171473 | 15.9078288 | -4.0682951 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | |
| | -8.7160579 | 0.59794953 | 16.576508 | 6.69462825 | 2.49261073 | -16.061784 | -16.607647 | -20 | -19.302545 | -13.705515 | |
| | 92.7355986 | 56.0685336 | 10.3200722 | 20.2020813 | 14.0768785 | 3.1347688 | -1.2486875 | -3.8831007 | -3.8344649 | -3.8714622 | |
| | -20 | -20 | -10.74148 | -16.305945 | 1.90345585 | -7.5766047 | 1.81798884 | 8.37980261 | 12.012166 | 5.98984799 | |
| | 100.044863 | 99.762844 | 67.2746714 | 34.2237346 | 12.2688447 | -5.2557286 | -5.0289195 | -2.299636 | 2.79457667 | 3.83102831 | |
| 35041 | 35706 | 35454 | 34030 | 35042 | 34799 | 36840 | 33991 | 33829 | 34538 | 35323 | 35717 |
| 33507 | 34564 | 35021 | 34997 | 34377 | 35724 | 35643 | 35297 | 35804 | 34285 | 34926 | 34782 |
| 33553 | 34634 | 35367 | 34200 | 35679 | 35511 | 34609 | 35708 | 35389 | 34886 | 35536 | 33532 |
| 33950 | 35532 | 35036 | 33974 | 35529 | 35411 | 36028 | 35270 | 34136 | 35139 | 35174 | 35077 |
| 33305 | 35516 | 34527 | 35859 | 34998 | 35580 | 35818 | 35724 | 35599 | 35089 | 34946 | 35192 |
| 34132 | 35238 | 34253 | 32012 | 34561 | 33069 | 35654 | 35451 | 34443 | 34582 | 34336 | 34589 |
| 33602 | 35501 | 34254 | 35020 | 34004 | 34984 | 24282 | 15451 | 34853 | 33744 | 34708 | 33651 |
| 3640058 | 7090843 | 5884758 | 5257330 | 6859962 | 5902441 | 7313283 | 6250758 | 6598500 | 8243650 | 6525428 | 8707901 |
| 5218700 | 4988732 | 4590592 | 5035146 | 5249680 | 5441630 | 5774328 | 5810505 | 6163137 | 5994384 | 6108633 | 5984237 |
| 4751331 | 5152363 | 4717619 | 4801659 | 5049577 | 5207342 | 5232894 | 5723236 | 5788426 | 5825085 | 5869989 | 5815493 |
| 4644652 | 4960645 | 5933330 | 5872749 | 6551047 | 6899445 | 5268335 | 5427721 | 5746228 | 7129444 | 5824357 | 5710364 |
| 4419708 | 4840403 | 4636965 | 4440661 | 4818111 | 4924207 | 6022204 | 5235820 | 5311810 | 5436889 | 5770615 | 5659084 |
| 4549648 | 4581909 | 5874215 | 4765548 | 4879536 | 5068942 | 6810866 | 6994379 | 5492745 | 5459385 | 5774431 | 5722104 |
| 4605951 | 4775580 | 4733092 | 4646253 | 4858613 | 4904852 | 4851306 | 5578289 | 6904135 | 5352059 | 5584586 | 5440596 |
| -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -16.556919 | -7.4168153 | 10.6836142 | -20 | -20 | -20 | -20 |
| -14.814684 | -8.9463852 | 21.9828798 | -5.6990824 | -7.6394603 | -7.404567 | 15.2989503 | 17.0119277 | -12.285125 | -9.8615509 | -5.8228366 | -4.6090761 |
| -4.4658715 | -12.544964 | 19.8086335 | -0.7632286 | -3.5104463 | -2.7496155 | 23.2867791 | 18.2670369 | -5.4180266 | -6.7416364 | -1.6650941 | -1.641695 |
| -0.8464784 | -3.9042854 | -20 | -20 | -20 | -20 | -8.6605384 | 2.71635367 | 16.8545439 | -20 | -4.320656 | -4.9906031 |
| 4.07298094 | -1.3675554 | 2.04587997 | 4.45931519 | 0.83966071 | -0.3974927 | -20 | 6.1788901 | 23.1828879 | -1.5954576 | -3.3520913 | -4.0420291 |

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien

9 Anhang

9.1.5 *M. bovis* BCG

Tab. E1: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für *M. bovis* BCG, Versuch 1

| | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|---------|---------|
| | | | | | | | | | | | | |
| pre | 24457 | 28209 | 30828 | 26107 | 21058 | 29112 | 25118 | 24006 | 24110 | 24247 | | |
| | 23154 | 22771 | 22166 | 21742 | 20997 | 33721 | 23162 | 26801 | 25436 | 23569 | | |
| | 24650 | 22459 | 21801 | 24204 | 24289 | 21432 | 25293 | 24027 | 31103 | 23906 | | |
| | 40953 | 27128 | 33607 | 50517 | 30229 | 30961 | 25711 | 27244 | 24812 | 22925 | | |
| | 28422 | 28383 | 25299 | 25879 | 24795 | 25959 | 27702 | 23574 | 25514 | 22925 | | |
| | 24626 | 30537 | 29129 | 28358 | 32122 | 26518 | 29104 | 27250 | 23260 | 31576 | | |
| | 26244 | 22994 | 40185 | 33986 | 22477 | 26669 | 26850 | 25597 | 24711 | 27595 | | |
| | | | | | | | | | | | | |
| post | 120098 | 89488 | 89402 | 89544 | 103677 | 108578 | 106774 | 100633 | 92105 | 97224 | | |
| | 119582 | 148498 | 135394 | 125216 | 98098 | 78165 | 202975 | 130652 | 120986 | 6697972 | | |
| | 79993 | 48958 | 104442 | 97255 | 86032 | 97137 | 5038923 | 1000000 | 1000000 | 8227253 | | |
| | 717547 | 6425649 | 8136354 | 8508358 | 8310086 | 6271142 | 9573557 | 1000000 | 9418140 | 9931614 | | |
| | 239977 | 147055 | 407734 | 854477 | 9182727 | 9715081 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | | |
| | 1000000 | 1000000 | 9213940 | 1000000 | 1000000 | 8769273 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 9123157 | | |
| | 3153460 | 8674359 | 8396282 | 8794940 | 8803509 | 1000000 | 8181290 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | | |
| | | | | | | | | | | | | |
| Inhibition % | 90.1961267 | 93.6942203 | 99.3621552 | 93.4862454 | 91.5603784 | 99.0907948 | 91.6240119 | 92.1488247 | 93.0325139 | 99.1979589 | | |
| | 90.1286385 | 87.134336 | 98.7681594 | 89.4226268 | 92.1245389 | 99.4912285 | 81.5923418 | 89.328904 | 90.1956157 | 26.6515913 | | |
| | 94.3258318 | 97.2892186 | 99.1009601 | 92.5137016 | 93.6719992 | 99.1345865 | -20 | 0 | 0 | 0 | | |
| | 78.262089 | 26.004972 | 3.10819206 | 3.27731172 | 5.62415653 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | | |
| | 93.2303223 | 98.6274308 | 95.4314207 | 90.5508925 | -4.3197443 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | | |
| | | | | | | | | | | | | |
| | 23151 | 25368 | 22253 | 23616 | 22527 | 24790 | 22477 | 23052 | 23369 | 26647 | 24653 | 25814 |
| | 24532 | 22538 | 21369 | 22137 | 21522 | 23674 | 22405 | 24130 | 23732 | 25191 | 23436 | 26476 |
| | 25598 | 21340 | 22940 | 22989 | 22330 | 23161 | 23777 | 21706 | 22183 | 23689 | 28165 | 22901 |
| | 29429 | 25911 | 22102 | 22989 | 23117 | 25804 | 23355 | 23187 | 25626 | 24919 | 26283 | 24850 |
| | 22798 | 24192 | 21761 | 23320 | 22158 | 24482 | 25029 | 22527 | 23582 | 26906 | 27710 | 23447 |
| | 31560 | 23183 | 22551 | 22311 | 21625 | 23719 | 22863 | 26365 | 28445 | 23928 | 27208 | 24205 |
| | 28786 | 24211 | 24040 | 23563 | 22778 | 22091 | 24904 | 22548 | 21356 | 24545 | 24292 | 23130 |
| | | | | | | | | | | | | |
| | 118168 | 118889 | 126411 | 169613 | 2276688 | 9497968 | 8238223 | 8822553 | 9323725 | 1000000 | 1000000 | 1000000 |
| | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 9691687 | 1000000 | 1000000 | 9355605 | 8867687 | 9643543 | 1000000 | 1000000 | 1000000 |
| | 1000000 | 1000000 | 8550743 | 7943207 | 9114278 | 9126887 | 9598152 | 9020334 | 1000000 | 8830837 | 1000000 | 1000000 |
| | 1000000 | 1000000 | 9160568 | 1000000 | 9160747 | 8608850 | 1000000 | 9487168 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 |
| | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 9621029 | 9937994 | 9281682 | 8979445 | 1000000 | 1000000 | 9322118 | 9825898 |
| | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 9948109 | 1000000 | 9537426 | 1000000 | 9425089 | 1000000 |
| | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 |
| | | | | | | | | | | | | |
| | 90.2731128 | 90.4044809 | 89.3471419 | 85.0471741 | -20 | -20 | 17.2269736 | -20 | 2.2461606 | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 | -20 | 0 | 0 | 5.96939018 | -20 | -1.1154132 | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | -20 | -20 | -20 | -20 | 3.52625245 | -20 | 0 | -20 | 0 | 0 |
| | -20 | -20 | -20 | 0 | -20 | -20 | 0 | -20 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | -20 | -20 | -20 | 0 | -20 | -20 | -20 | -20 | 0 | 0 | -20 | -20 |

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien

9 Anhang

Tab. E2: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für *M. bovis* BCG, Versuch 2

| | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| pre | 21360 | 22151 | 20370 | 25668 | 21352 | 23468 | 21619 | 21965 | 22622 | 22689 | 23287 |
| | 22243 | 22815 | 21472 | 22294 | 23034 | 20665 | 20430 | 22326 | 24757 | 23898 | 21917 |
| | 21750 | 22763 | 21716 | 23456 | 21870 | 22883 | 23571 | 23799 | 24047 | 23517 | 22974 |
| | 21995 | 22897 | 21930 | 22987 | 23397 | 22569 | 24243 | 22713 | 23934 | 22395 | 21087 |
| | 25425 | 25888 | 24444 | 23651 | 22958 | 23952 | 22082 | 24059 | 23413 | 23226 | 24439 |
| | 22992 | 22127 | 23026 | 19862 | 20658 | 21752 | 21809 | 23858 | 23884 | 22100 | 22017 |
| | 22521 | 23251 | 19960 | 22960 | 20621 | 21008 | 21272 | 21643 | 21981 | 22062 | 22920 |
| post | 55423 | 79556 | 81192 | 63704 | 57144 | 111478 | 131184 | 77822 | 109665 | 158605 | 142868 |
| | 108618 | 127518 | 126639 | 106204 | 78208 | 119932 | 135117 | 99314 | 255139 | 1000000 | 1000000 |
| | 81391 | 103469 | 102700 | 97335 | 177233 | 121213 | 4118487 | 1000000 | 8414909 | 9505141 | 1000000 |
| | 644368 | 6290944 | 5150477 | 8829878 | 7675317 | 8558865 | 9475968 | 5223447 | 8396337 | 9361553 | 1000000 |
| | 123811 | 297916 | 120215 | 350004 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 9362429 | 9659994 | 9591940 | 1000000 |
| | 9851123 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 9720986 | 1000000 | 1000000 |
| | 1114109 | 6301119 | 8118028 | 8997124 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 |
| Inhibition % | 99.6534708 | 94.1294617 | 93.7913294 | 96.0961972 | 96.3427095 | 90.9874945 | 88.8013974 | 94.2888547 | 99.1024981 | 86.0928609 | 87.7567924 |
| | 99.1212122 | 89.2852428 | 89.2525303 | 91.4176654 | 94.3525159 | 89.8638362 | 88.2921078 | 92.1253915 | 97.6240041 | 0 | 0 |
| | 99.393237 | 91.7414097 | 91.7218313 | 92.4346471 | 84.116324 | 89.936722 | -20 | 0 | 13.4689617 | -20 | 0 |
| | 43.0120848 | 0.16206818 | 36.6540894 | 1.86364438 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | -20 | 0 |
| | 90.9628506 | 95.665052 | 98.8167047 | 96.3631361 | 0 | 0 | 0 | -20 | -20 | -20 | 0 |
| 22398 | 25315 | 24984 | 22626 | 23308 | 23326 | 23714 | 22139 | 23386 | 23972 | 23517 | |
| 21872 | 23631 | 23312 | 23350 | 24289 | 24418 | 25582 | 22843 | 23963 | 23495 | 29276 | |
| 21200 | 22957 | 23453 | 25589 | 23234 | 23862 | 25621 | 30411 | 23216 | 24885 | 26149 | |
| 22570 | 22700 | 24618 | 23725 | 24080 | 27608 | 25271 | 24580 | 25762 | 23708 | 26886 | |
| 23854 | 23280 | 23751 | 24801 | 25528 | 24562 | 25621 | 26280 | 24865 | 25211 | 25491 | |
| 23049 | 23015 | 24406 | 23152 | 24221 | 25421 | 27104 | 27246 | 25433 | 25444 | 25768 | |
| 23004 | 22143 | 24805 | 24382 | 24163 | 26224 | 23940 | 26229 | 103980 | 23970 | 26885 | |
| 169613 | 145627 | 111910 | 389209 | 6240320 | 1000000 | 9456496 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | |
| 1000000 | 8786802 | 1000000 | 7524212 | 8529993 | 6023359 | 1000000 | 9884108 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | |
| 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 7403260 | 1000000 | 1000000 | 9065936 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | |
| 1000000 | 1000000 | 5003522 | 1000000 | 9358280 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 9571774 | |
| 1000000 | 1000000 | 7821210 | 1000000 | 8234193 | 8120712 | 1000000 | 1000000 | 9515803 | 1000000 | 1000000 | |
| 1000000 | 1000000 | 9368997 | 1000000 | 7604680 | 1000000 | 1000000 | 9520468 | 9079793 | 1000000 | 1000000 | |
| 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | |
| 84.9412133 | 87.6563197 | 99.0697145 | 62.4930682 | 17.9962149 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 0 | -20 | 89.5493161 | -20 | -12.206666 | -20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 2.65674912 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 0 | 0 | -20 | 0 | -20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -20 | |
| 0 | 0 | -20 | 0 | -20 | -20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien

9 Anhang

Tab. E3: Pre und post Inkubationsfluoreszenz für *M. bovis* BCG, Versuch 3

| | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----------|---------|
| pre | 21849 | 21058 | 21373 | 21108 | 21324 | 22264 | 21841 | 20140 | 21115 | 21592 | |
| | 21233 | 22117 | 22092 | 21488 | 21643 | 20683 | 21618 | 20922 | 19938 | 21105 | |
| | 21154 | 21750 | 22740 | 22452 | 20209 | 22734 | 22477 | 21503 | 21766 | 22945 | |
| | 21312 | 21717 | 21470 | 21870 | 20091 | 19990 | 22617 | 21493 | 22190 | 23248 | |
| | 24811 | 24445 | 22930 | 23679 | 20677 | 23167 | 21959 | 22609 | 23396 | 20907 | |
| | 21845 | 23150 | 22205 | 21927 | 20699 | 22171 | 21604 | 21928 | 22581 | 21672 | |
| | 20278 | 20629 | 21317 | 21792 | 21251 | 22730 | 22102 | 22410 | 24542 | 22139 | |
| post | 97942 | 103906 | 100243 | 107919 | 67015 | 111649 | 117328 | 114521 | 123615 | 103772 | |
| | 164328 | 136566 | 105754 | 164678 | 72791 | 253734 | 192900 | 313791 | 237677 | 1000000 | |
| | 111215 | 82215 | 38502 | 75844 | 46704 | 49053 | 6493898 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | |
| | 3136133 | 140419 | 8663098 | 8097111 | 1000000 | 1000000 | 8985131 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | |
| | 184632 | 404142 | 318089 | 805041 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | |
| | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | |
| | 4626373 | 8023889 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | |
| Inhibition % | 92.2207307 | 91.5369858 | 91.9407496 | 91.1317081 | 95.3313456 | 90.8579617 | 90.2380901 | 90.3679097 | 89.5289028 | 91.600641 | |
| | 85.3800751 | 88.2962481 | 91.4447985 | 85.3665566 | 94.7720515 | 76.2027005 | 82.493341 | 70.0872658 | 77.7831403 | 0 | |
| | 90.7992677 | 93.8190647 | 98.3871232 | 94.538171 | 97.2958519 | 97.3068745 | -20 | 0 | 0 | 0 | |
| | 32.3609177 | 98.5166277 | -20 | -20 | 0 | 0 | -20 | 0 | 0 | 0 | |
| | 96.5268098 | 95.2534576 | 69.7914172 | 19.9687398 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 21130 | 22035 | 22374 | 22337 | 22399 | 22143 | 23120 | 20107 | 24971 | 21454 | 22017 | 22761 |
| 21476 | 21261 | 20390 | 20399 | 19350 | 20340 | 21486 | 22092 | 22126 | 23553 | 21195 | 26379 |
| 23488 | 21163 | 19385 | 20683 | 31648 | 24864 | 23232 | 32471 | 22782 | 22849 | 23566 | 22622 |
| 21162 | 21630 | 20328 | 22744 | 21491 | 22084 | 21189 | 23881 | 23559 | 22193 | 22273 | 22059 |
| 22401 | 21936 | 20358 | 23725 | 20502 | 22797 | 24496 | 23187 | 21949 | 23083 | 23810 | 24781 |
| 21136 | 21469 | 24268 | 22001 | 22785 | 22752 | 22289 | 26525 | 25416 | 22753 | 22481 | 25163 |
| 22411 | 19996 | 20928 | 20297 | 21533 | 22602 | 23057 | 22759 | 24013 | 23635 | 22189 | 22922 |
| 137965 | 122288 | 109410 | 112191 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 |
| 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 8430485 | 9928111 | 1000000 | 1000000 |
| 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 |
| 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 8483426 | 1000000 | 1000000 | 1000000 |
| 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 |
| 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 |
| 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 | 1000000 |
| 88.0642986 | 89.7488151 | 91.097209 | 90.8093075 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -20 | -20 | 0 | |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -20 | 0 | 0 | |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

9.2 MIC der Mikrodilutionsmethode⁵

9.2.1 *M. smegmatis*

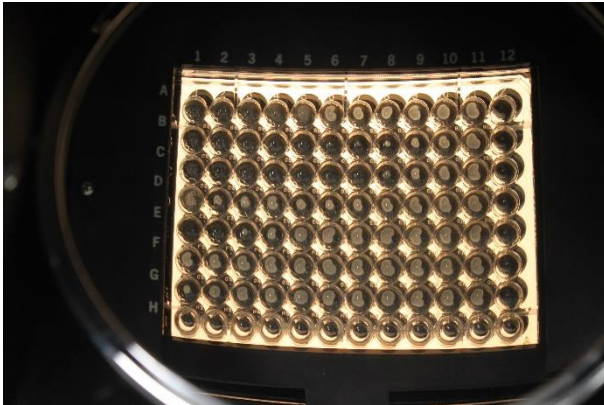


Abb. A1: *M. smegmatis* post Inkubation, Versuch 1

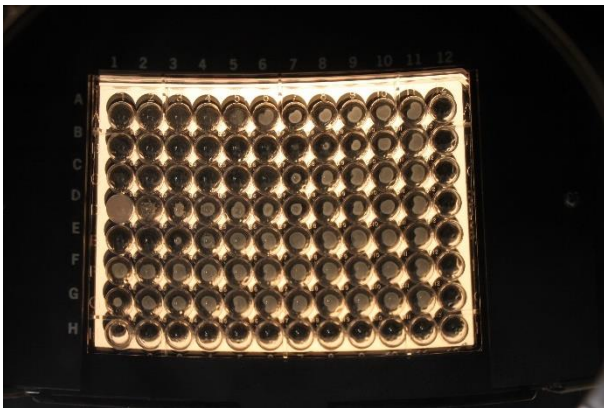


Abb. A2: *M. smegmatis* post Inkubation, Versuch 2

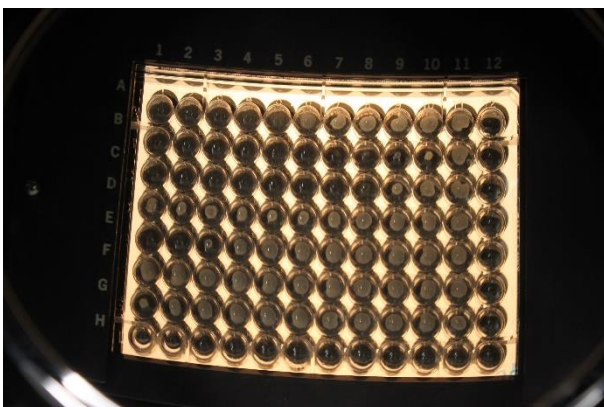


Abb. A3: *M. smegmatis* post Inkubation, Versuch 3

⁵ Aus organisatorischen Gründen konnten nicht bei allen Bakterienstämmen Fotos gemacht werden.

Tab. F: MIC von *M. smegmatis* bei verschiedenen Antibiotika

| Antibiotikum | Versuch 1 | Versuch 2 | Versuch 3 | Median |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Isoniazid | 32 µg/ml | 32 µg/ml | 16 µg/ml | 32 µg/ml |
| Kanamycin A | 4 µg/ml | 16 µg/ml | 4 µg/ml | 4 µg/ml |
| Kanamycin B | 8 µg/ml | 4 µg/ml | 2 µg/ml | 4 µg/ml |
| CBD | > 1024 µg/ml | > 1024 µg/ml | > 1024 µg/ml | > 1024 µg/ml |
| Nikotin | 2048 µg/ml | > 2048 µg/ml | 2048 µg/ml | 2048 µg/ml |

9.2.2 *M. abscessus*

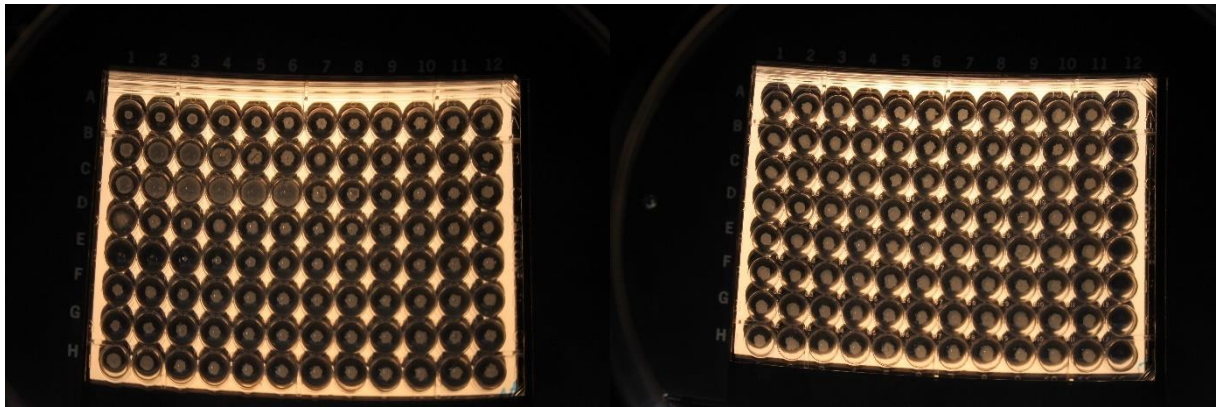


Abb. B1: *M. abscessus* post Inkubation, Versuch 1

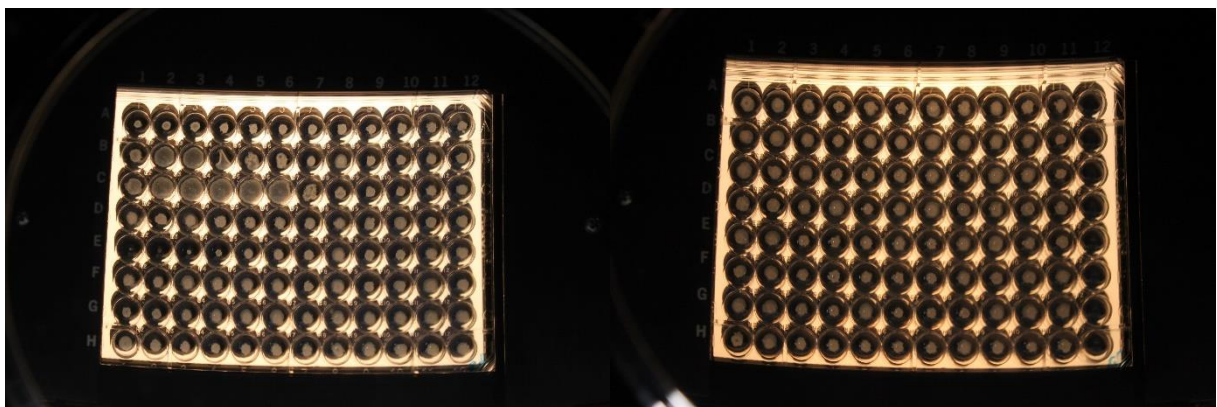


Abb. B2: *M. abscessus* post Inkubation, Versuch 2

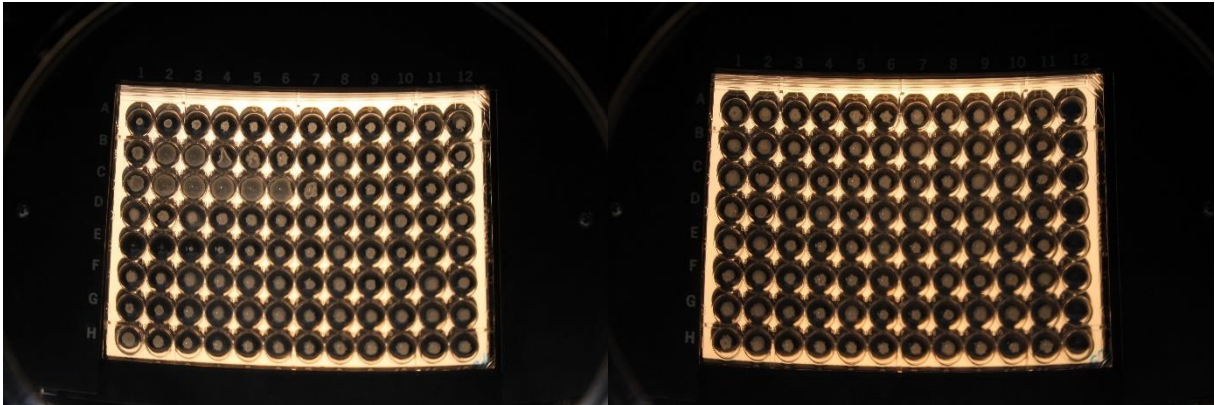


Abb. B3: *M. abscessus* post Inkubation, Versuch 3

Tab. G: MIC von *M. abscessus* bei verschiedenen Antibiotika

| Antibiotikum | Platte 1 | Platte 2 | Platte 3 | Median |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Isoniazid | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml |
| Kanamycin A | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml |
| Kanamycin B | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml |
| CBD | > 1024 µg/ml | > 1024 µg/ml | > 1024 µg/ml | > 1024 µg/ml |
| Nikotin | > 4096 µg/ml | > 4096 µg/ml | > 4096 µg/ml | > 4096 µg/ml |

9.2.3 *S. aureus*

Tab. H: MIC von *S. aureus* bei verschiedenen Antibiotika

| Antibiotikum | Platte 1 | Platte 2 | Platte 3 | Median |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Isoniazid | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml |
| Kanamycin A | 16 µg/ml | 16 µg/ml | 32 µg/ml | 16 µg/ml |
| Kanamycin B | 2 µg/ml | 2 µg/ml | 4 µg/ml | 2 µg/ml |
| CBD | 64 µg/ml | 64 µg/ml | 64 µg/ml | 64 µg/ml |
| Nikotin | > 4096 µg/ml | > 4096 µg/ml | > 4096 µg/ml | > 4096 µg/ml |

9.2.4 *E. coli*

Tab. I: MIC von *E. coli* bei verschiedenen Antibiotika

| Antibiotikum | Platte 1 | Platte 2 | Platte 3 | Median |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Isoniazid | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml |
| Kanamycin A | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml |
| Kanamycin B | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml | > 256 µg/ml |
| CBD | > 1024 µg/ml | > 1024 µg/ml | > 1024 µg/ml | > 1024 µg/ml |
| Nikotin | 2048 µg/ml | 4096 µg/ml | 2048 µg/ml | 2048 µg/ml |

Wirkung von Nikotin und Cannabidiol auf potentiell humanpathogene Bakterien
9 Anhang

9.2.5 *M. bovis* BCG

Tab. J: MIC von M. abscessus bei verschiedenen Antibiotika

| Antibiotikum | Platte 1 | Platte 2 | Platte 3 | Median |
|--------------|---------------|--------------|---------------|---------------|
| Isoniazid | 0.03125 µg/ml | 0.0625 µg/ml | 0.03125 µg/ml | 0.03125 µg/ml |
| Kanamycin A | 2 µg/ml | 2 µg/ml | 4 µg/ml | 2 µg/ml |
| Kanamycin B | 4 µg/ml | 8 µg/ml | 8 µg/ml | 8 µg/ml |
| CBD | > 1024 µg/ml | > 1024 µg/ml | > 1024 µg/ml | > 1024 µg/ml |
| Nikotin | 512 µg/ml | 1024 µg/ml | 1024 µg/ml | 1024 µg/ml |

10 Deklaration

„Ich erkläre hiermit,

- dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Benutzung der angegebenen Quellen verfasst habe,
- dass ich auf eine eventuelle Mithilfe Dritter in der Arbeit ausdrücklich hinweise,
- dass ich vorgängig die Schulleitung und die betreuende Lehrperson informiere, wenn ich diese Maturaarbeit, bzw. Teile oder Zusammenfassungen davon veröffentlichen werde, oder Kopien dieser Arbeit zur weiteren Verbreitung an Dritte aushändigen werde.“

Ort: Büron

Datum: 11.10.2018

Unterschrift:

