

Medizinische Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

**Einfluss eines Polydimethylsiloxan -basierten Beschichtungssubstrates
auf das Wachstum und Überleben von bakteriellen Erregern**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Ann-Kathrin Niebergall
geboren am 16.12.1992 in Halle (Saale)

Betreuerin: PD Dr. Astrid Kehlen

Gutachter: Prof. Dr. F. Jung, BTU Cottbus Senftenberg

Prof. Dr. B. Hiebl, Stiftung Tierärztliche Hochschule, Hannover

02.03.2021

07.10.2021

Referat

Der zunehmende Einsatz von Fremdmaterialien in der modernen Medizin führt zu einem Anstieg von Fremdkörper-assoziierten Infektionen. Die Therapie nosokomialer Infektionen stellt Kliniken trotz intensiver Forschung der vergangenen Jahre auch heute noch vor große Probleme. In diesem Zusammenhang stellen antiadhäsive und antibakterielle Oberflächenbeschichtungen eine vielversprechende Therapieoption dar. Ziel der vorliegenden Arbeit war, ein Silizium-basiertes Beschichtungssubstrat (Polydimethylsiloxan) hinsichtlich seines antibakteriellen Potenzials zu untersuchen.

Zu diesem Zweck wurden *in vitro* drei klinisch bedeutsame Bakterienspezies untersucht: *E. coli*, *S. epidermidis* und *P. aeruginosa*. Im ersten Teil wurden mittels Photometer Wachstumskurven der Erreger nach Kontakt mit unterschiedlichen Konzentrationen des Beschichtungssubstrates in flüssiger Lösung ermittelt. Hieraus konnte eine geeignete Effektkonzentration für nachfolgende Untersuchungen bestimmt werden. Im zweiten Teil wurden Glas-, Polykarbonat- und V2A-Stahlplatten mit 2,0 vol-% der PDMS-Lösung beschichtet. Das Überleben der Bakterien auf den beschichteten Platten wurde zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht und in Korrelation mit dem Wachstum auf unbehandelten Testmaterialplatten gesetzt. Im dritten Teil wurde die Biofilmbildung bakterieller Erreger auf mit PDMS-beschichteten Polykarbonat *in vitro* untersucht. Hierfür wurden zusätzlich vom Institut für medizinische Mikrobiologie in Halle isolierte EAEC-Stämme sowie ein kommerziell erworbener *B. subtilis*-Stamm verwendet.

Für alle untersuchten bakteriellen Erreger konnten konzentrationsabhängige, wachstumshemmende Effekte des PDMS nachgewiesen werden. Die effektive Beschichtungskonzentration zeigte sich bei 2,0 vol-%. Es wurde eine Abhängigkeit des wachstumshemmenden Effektes von der Generationszeit des Bakteriums beobachtet. Zudem konnte ein wachstumshemmender Effekt auf den untersuchten Oberflächen beobachtet werden. Auf der beschichteten Glasoberfläche war dieser am stärksten und konnte über den gesamten Untersuchungszeitraum von 72 Stunden nachgewiesen werden. Die Messung der Biofilmbildung ergab bei 80 % der Bakterien eine verminderte Biofilmbildung nach Kontakt mit PDMS. Dabei fiel auf, dass das Ausmaß der Biofilmbildung eines Bakteriums mit dem Wachstumshemmungseffekt durch PDMS korreliert. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass PDMS ein potenzielles Beschichtungssubstrat im Einsatz auf Fremdmaterialien zur Vorbeugung damit assoziierter Infektionen sein kann.

Niebergall, Ann-Kathrin: Einfluss eines Polydimethylsiloxan-basierten Beschichtungssubstrates auf das Wachstum und Überleben von bakteriellen Erregern, Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 80 Seiten, 2021

Inhaltsverzeichnis

Referat	
Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VIII
Anhangsverzeichnis	VIII
1 Einleitung.....	1
1.1 Einsatz von Biomaterialien und Beschichtungssubstraten in der Medizin	1
1.1.1 Biokompatibilität von Biomaterialien	1
1.1.2 Biomaterial-assoziierte Infektionen.....	3
1.1.3 Einsatz von Beschichtungssubstraten zur Vorbeugung von Biomaterial-assoziierten Infektionen	5
1.2 PDMS-basierte Beschichtungssubstrate	8
1.3 Bakterielle Mikroorganismen.....	10
1.3.1 <i>Escherichia coli</i>	11
1.3.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
1.3.3 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	15
1.3.4 <i>Bacillus subtilis</i> subspezies <i>spizizenii</i>	17
1.4 Biofilme	18
2 Zielstellung	23
3 Material und Methoden.....	24
3.1 Materialien	24
3.1.1 Verwendete Mikroorganismen	24
3.1.2 Chemikalien und Nährmedien.....	24
3.1.3 Verbrauchsmaterialien	25
3.1.4 Geräte.....	26
3.2 Methoden	27
3.2.1 Herstellung der Glukose-Nährbouillon-Agar-Platten	27
3.2.2 Herstellung der physiologischen Kochsalzlösung.....	27
3.2.3 Herstellung des 70 %igem Ethanol.....	27
3.2.4 Langzeitlagerung, Rekultivierung und Überimpfen der Kulturen.....	27

3.2.5	Untersuchungen zu bakteriellen Wachstumskurven nach der Zugabe von PDMS ...	28
3.2.6	Prüfung der bakteriellen Wachstumshemmung von PDMS auf beschichtetem Stahl, Glas und Polykarbonat.....	31
3.2.7	Messung der Biofilmbildung auf mit PDMS-beschichteten und unbeschichteten 96-Well-Mikrotiterplatten.....	32
3.2.8	Reinigung der Materialien	33
3.2.9	Statistik	33
4	Ergebnisse.....	34
4.1	Änderung der optischen Dichte nach PDMS-Zugabe.....	34
4.1.1	PDMS in <i>A. destillata</i>	34
4.1.2	PDMS in Glukose-Nährbouillon	34
4.2	Einfluss von PDMS auf die Wachstumskurven bakterieller Erreger.....	35
4.2.1	Einfluss von PDMS auf das Wachstum von <i>E. coli</i> EcM1	35
4.2.2	Einfluss von PDMS auf das Wachstum von <i>P. aeruginosa</i>	36
4.2.3	Einfluss von PDMS auf das Wachstum von <i>S. epidermidis</i>	37
4.2.4	Vergleich des Einflusses von PDMS auf das Wachstums-verhalten der untersuchten Bakterienstämme	38
4.3	Einfluss von PDMS-beschichteten Materialien auf das bakterielle Überleben am Beispiel von <i>S. epidermidis</i>	39
4.3.1	Einfluss von PDMS-beschichtetem Stahl auf das Überleben von <i>S. epidermidis</i>	39
4.3.2	Einfluss von PDMS-beschichtetem Polykarbonat auf das Überleben von <i>S. epidermidis</i>	41
4.3.3	Einfluss von PDMS-beschichtetem Glas auf das Überleben von <i>S. epidermidis</i>	43
4.3.4	Vergleich des Einflusses der PDMS-beschichteten Materialien auf das Überleben von <i>S. epidermidis</i>	45
4.4	Ergebnisse der Biofilmbildung verschiedener bakterieller Erreger unter dem Einfluss von PDMS.....	45
4.4.1	Einfluss von PDMS auf die Biofilmbildung von <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> EcM1, <i>P. aeruginosa</i> und <i>S. epidermidis</i>	46
4.4.2	Einfluss von PDMS auf die Biofilmbildung von EAEC-Stämmen.....	47
4.4.3	Zusammenfassung des Verhaltens der Biofilmbildung bakterieller Erreger auf PDMS-beschichteter Oberfläche	49
5	Diskussion.....	50
5.1	Eignung von PDMS in der Humanmedizin	50
5.2	Anwendbarkeit von PDMS als Beschichtungssubstrat	52

5.3	Festlegung der effektiven PDMS-Konzentration	53
5.4	Bakterienverhalten unter PDMS-Einfluss.....	54
5.4.1	Einfluss von Material und Oberfläche mit PDMS-Beschichtung auf das Bakterienwachstum	54
5.4.2	Abhängigkeit der PDMS-Effekte von bakteriellen Eigenschaften	56
5.4.3	Zytotoxische Effekte von PDMS auf bakterielle Erreger	58
5.4.4	Biofilmbildung unter dem Einfluss von PDMS	60
5.5	Beurteilung der Anwendbarkeit in der Klinik.....	63
5.6	Ausblick.....	65
6	Zusammenfassung	67
7	Literaturverzeichnis.....	68
8	Thesen.....	80
	Anhangsverzeichnis	IX
	Selbstständigkeitserklärung.....	XV
	Danksagung	XVI

Abkürzungsverzeichnis

<i>aap</i>	<i>dispersin-encoding-Gen</i>
<i>aatA</i>	Anti-Aggregationsprotein-Transportergen
<i>A. dest.</i>	<i>Aqua destillata</i>
Ag-NP	Silber-Nanopartikel
<i>aggR</i>	Aggregationsregulatorgen
AMP	antimikrobielle Peptide
<i>B. anthracis</i>	<i>Bacillus anthracis</i>
<i>B. subtilis ssp. spizizenii</i>	<i>Bacillus subtilis</i> subspezies <i>spizizenii</i>
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CF	zystische Fibrose (Mukoviszidose)
Col + SB	Columbia Schafsblut Plus
DNA	Desoxyribonucleid acid (Desoxyribonukleinsäure)
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EAEC	enteroaggregative <i>E. coli</i>
<i>E. coli</i> EcM1	<i>Escherichia coli</i> (aus Maus isolierter Teststamm)
EHEC	enterohämorrhagische <i>E. coli</i>
EIEC	enteroinvasive <i>E. coli</i> .
EPEC	enteropathogene <i>E. coli</i>
EPS	extrazelluläre polymere Substanz
ETEC	enterotoxische <i>E. coli</i>
EF 2	Elongationsfaktor 2
<i>HEp-2 cells</i>	<i>humane epithels type 2 cells</i>
IL-6	Interleukin 6
KBE	Koloniebildende Einheit
LDH	Laktatdehydrogenase
LPS	Lipopolysaccharide
MW	Mittelwert
NP	Nanopartikel
NaOH	Natriumhydroxid
OD	optische Dichte
OD ₅₉₀	OD gemessen bei einer Wellenlänge von 590 nm
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> (Polymerase-Ketten-Reaktion)
PDMS	Polydimethylsiloxan
PE	Polyethylen

<i>pet</i>	<i>plasmid-encoded toxin</i> Gen
ROS-System	Retikuloendotheliales System
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
U/E	Units pro Einheiten
UPEC	uropathogene <i>E. coli</i>
ZVK	zentraler Venenkatheter

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Grundlegende Aspekte der Interaktion von Bakterienzellen und Oberflächen nach Tuson und Weibel 2013:.....	4
Abbildung 2:	Übersicht prophylaktischer Maßnahmen zur Verhinderung Material-assoziiertes Bakterieninfektionen nach Koo <i>et al.</i> 2017.....	6
Abbildung 3:	Die vier wichtigsten Pathomechanismen der antibakteriellen Wirkung von Silber-Nanopartikeln nach Dakal <i>et al.</i> 2016.....	7
Abbildung 4:	Funktionsweise eines PDMS-basierten Beschichtungssubstrates auf einer unebenen Oberfläche nach Permanon GmbH Deutschland 2015.	8
Abbildung 5:	Elektronenmikroskopische Fotografien einer Glasoberfläche (links) und einer V2A-Stahloberfläche (rechts). (Quelle: Institut für Medizinische Mikrobiologie in Halle).....	10
Abbildung 6:	Schematische Darstellung der Pathogenese von EAEC nach Suerbaum <i>et al.</i> 2012.....	13
Abbildung 7:	Biofilmbildung und Ausbreitung am Beispiel von <i>B. subtilis</i> nach Vlamakis <i>et al.</i> 2013.	20
Abbildung 8:	Schematische Darstellung der EPS eines Biofilmes von <i>E. coli</i> nach Ageorges <i>et al.</i> 2020.....	21
Abbildung 9:	Verteilung der metabolischen Aktivität einzelner Bakterien innerhalb der verschiedenen Schichten im Biofilm	21
Abbildung 10:	Typische Wachstumskurve einer bakteriellen Population.	28
Abbildung 11:	Verlauf der OD ₅₉₀ unterschiedlicher PDMS-Konzentrationen in <i>A. dest</i> über einen Zeitraum von 300 Minuten.	34
Abbildung 12:	Verlauf der OD ₅₉₀ unterschiedlicher PDMS-Konzentrationen in Glukose - Nährbouillon - <i>A. dest</i> - Lösung über einen Zeitraum von 300 Minuten. ..	35
Abbildung 13:	Wachstumskurven von <i>E. coli</i> unter dem Einfluss verschiedener PDMS-Konzentrationen über einen Zeitraum von 300 Minuten	35
Abbildung 14:	Wachstumskurven von <i>P. aeruginosa</i> unter dem Einfluss verschiedener PDMS-Konzentrationen über einen Zeitraum von 330 Minuten	36
Abbildung 15:	Wachstumskurven von <i>S. epidermidis</i> unter dem Einfluss verschiedener PDMS-Konzentrationen über einen Zeitraum von 330 Minuten	37
Abbildung 16:	Relative Wachstumshemmung durch die Beschichtung mit 2,0 vol-% PDMS nach 300 Minuten bei <i>E. coli</i> EcM1 und nach 330 Minuten bei <i>S. epidermidis</i> und <i>P. aeruginosa</i>	38
Abbildung 17:	Mittelwerte der KBE pro Stahl-Testmaterialscheibe nach einmaliger Auftragung von <i>S. epidermidis</i>	39

Abbildung 18:	Mittelwerte der KBE pro Stahl-Testmaterialscheibe nach zweiter Auftragung von <i>S. epidermidis</i> . Auszählung der KBE erfolgte sofort und nach 2, 4, 24, 48 und 72 Stunden.....	40
Abbildung 19:	Prozentuale Hemmung der KBE auf Stahl-Testmaterialscheiben durch die PDMS-Beschichtung	41
Abbildung 20:	Mittelwerte der KBE pro Polykarbonat-Testmaterialscheibe nach einmaliger Auftragung von <i>S. epidermidis</i>	42
Abbildung 21:	Mittelwerte der KBE pro Polykarbonat-Testmaterialscheibe nach zweiter Auftragung von <i>S. epidermidis</i> . Auszählung der KBE erfolgte sofort und nach 2, 4, 24, 48 und 72 Stunden.....	42
Abbildung 22:	Prozentuale Hemmung der KBE auf Polykarbonat-Testmaterialscheiben durch die PDMS-Beschichtung.....	43
Abbildung 23:	Mittelwerte der KBE pro Glas-Testmaterialscheibe nach einmaliger Auftragung von <i>S. epidermidis</i>	44
Abbildung 24:	Mittelwerte der KBE pro Glas-Testmaterialscheibe nach zweiter Auftragung von <i>S. epidermidis</i>	44
Abbildung 25:	Prozentuale Hemmung der KBE auf Glas-Testmaterialscheiben durch die PDMS-Beschichtung	45
Abbildung 26:	Biofilmbildung auf PDMS-freier (-P) und mit PDMS-beschichteter (+P) Polypropylenoberfläche der Stämme <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> EcM1 (in Abbildung <i>E. coli</i>), <i>P. aeruginosa</i> und <i>S. epidermidis</i>	46
Abbildung 27:	Biofilmbildung auf PDMS freier (- P) und mit PDMS beschichteter (+ P) Polypropylenoberfläche der EAEC Stämme 1-2-A, 19-6-E, 61 7 F, P8 E3, S55 C6, 67/2, P8-B1, P32-E-7, pet-11-H, und S55-B1	47
Abbildung 28:	Biofilmbildung auf PDMS freier (- P) und mit PDMS beschichteter (+ P) Polypropylenoberfläche der EAEC Stämme 19 4 F, P8 A12, P8 G8, S60 A7, S52-A4, 5-4-A, 3-6-A und P8-F5	48
Abbildung 29:	Biofilmbildung auf PDMS-freier (- P) und mit PDMS-beschichteter (+ P) Polypropylenoberfläche der EAEC-Stämme O42, 7-6-A, 9-11-A, S60-C7-2.	48
Abbildung 30:	Biofilmbildung auf PDMS-freier (- P) und mit PDMS-beschichteter (+ P) Polypropylenoberfläche der EAEC-Stämme 61-9-F, P2-B8, P8-H3 und S60-B11.....	49

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Verwendete Mikroorganismen.....	24
Tabelle 2:	Verwendete Chemikalien und Nährmedien	24
Tabelle 3:	Verwendete Verbrauchsmaterialien	25
Tabelle 4:	Verwendete Geräte	26

Anhangsverzeichnis

Anhang I:	Zusammensetzung der einzelnen Bestandteile der Ansatzlösung	IX
Anhang II:	Schematische Darstellung des Versuchsablaufes mit einmaliger Keimaufrtragung (n=9) auf Testmaterialscheiben mit und ohne PDMS Beschichtung.....	IX
Anhang III:	Schematische Darstellung des Versuchsablaufes mit zweimaliger Keimaufrtragung (n=9) auf Testmaterialscheiben mit und ohne PDMS Beschichtung.....	X
Anhang IV:	<i>p</i> -Werte von <i>S. epidermidis</i> für die Untersuchungen zu bakteriellen Wachstumskurven nach der Zugabe von PDMS.....	X
Anhang V:	<i>p</i> -Werte für <i>P. aeruginosa</i> für die Untersuchungen zu bakteriellen Wachstumskurven nach der Zugabe von PDMS.....	X
Anhang VI:	<i>p</i> -Werte für <i>E. coli</i> für die Untersuchungen zu bakteriellen Wachstumskurven nach der Zugabe von PDMS.....	XI
Anhang VII:	<i>p</i> -Werte für die Prüfung der bakteriellen Wachstumshemmung von PDMS auf Stahl.....	XI
Anhang VIII:	<i>p</i> -Werte für die Prüfung der bakteriellen Wachstumshemmung von PDMS auf Polykarbonat	XI
Anhang IX:	<i>p</i> -Werte für die Prüfung der bakteriellen Wachstumshemmung von PDMS auf Glas.....	XII
Anhang X:	Messwerte und <i>p</i> -Werte für die Messung der Biofilmbildung auf mit PDMS-beschichteten und unbeschichteten 96 Well-Mikrotiterplatten ...	XIII
Anhang XI:	Zusammenfassende Übersicht der prozentualen Hemmung der Biofilmmasse von allen untersuchten Bakterien auf PDMS beschichteter Polypropylenoberfläche.....	XIV

1 Einleitung

Die moderne Medizin wird durch den Einsatz technischer Geräte und Fremdmaterialien bis in alle Fachbereiche hinein geprägt. Orthopädische Implantate, künstliche Herzklappen, Beatmungsgeräte oder zentralvenöse und periphere Zugänge, um nur einige Beispiele zu nennen, sind aus dem Klinikalltag nicht mehr wegzudenken. Im Zusammenhang mit der Technisierung ist eine Zunahme von Material-assoziierten Infektionen festzustellen. Die Therapie derartiger Infektionen stellt Mediziner auch heute noch vor große Herausforderungen. Laut Hochrechnungen des Robert-Koch-Instituts gab es im Jahr 2018 400.000 - 600.000 nosokomiale Infektionen. Die Zahl der durch nosokomiale Infektionen verursachten Todesfälle liegt in Deutschland trotz moderner Hochleistungsmedizin immer noch bei 6.000 bis 15.000 Fällen pro Jahr (Robert-Koch-Institut 11/2019). Einen großen Anteil solcher Infektionen stellen beispielsweise Harnwegsinfektionen dar. Sie sind in 80 % der Fälle mit Harnblasenkathetern assoziiert (Österreichische Gesellschaft für Infektionskrankheiten 2011).

Neben dem vielfältigen Einsatz von Fremdmaterialien zur Diagnostik und Therapie, stellt auch die zunehmende Resistenzlage bakterieller Erreger ein großes therapeutisches Problem dar. Mit Hilfe von antiadhärenten und antibakteriellen Beschichtungssubstraten könnte sowohl die Fremdkörper-assoziierte Infektionsrate wie auch die Infektionsschwere langfristig gesenkt werden. Dadurch könnte zugleich der Resistenzentwicklung von bakteriellen Erregern entgegen gewirkt werden (Österreichische Gesellschaft für Infektionskrankheiten 2011). Ein Polydimethylsiloxan (PDMS)-basiertes Beschichtungssubstrat, welches aus reinem monomerem Silizium aufgebaut ist, hat in bisherigen Untersuchungen gute Ergebnisse geliefert. So wurde die Adhäsion pathogener bakterieller Erreger an verschiedenen Materialien vermindert. Damit sind große Hoffnungen zur Lösung eines grundlegenden Problems der modernen Medizin geweckt. Die vorliegende Arbeit untersucht ein eben solches PDMS-basiertes Beschichtungssubstrat hinsichtlich seines antiadhäsiven und antibakteriellen Potentials.

1.1 Einsatz von Biomaterialien und Beschichtungssubstraten in der Medizin

1.1.1 Biokompatibilität von Biomaterialien

Die Anwendung von Fremdmaterialien im und am menschlichen Körper wird im Zuge der Technisierung in den kommenden Jahren weiterhin stark zunehmen, sodass die Erprobung neuer biokompatibler Materialien einen höheren und umfangreicheren Stellenwert in der Medizin erhalten wird (Williams 2008).

Biomaterialien sind synthetische oder natürliche Werkstoffe, die sowohl für diagnostische als auch für therapeutische Zwecke eingesetzt werden können und infolgedessen in direktem oder indirektem Kontakt mit menschlichem Gewebe stehen (Francolini *et al.* 2017). Jedes Fremdmaterial, das im oder am Körper verwendet werden soll, muss ein ausreichendes Maß an Biokompatibilität, Sterilisierbarkeit, Temperatur-, Chemikalien- und Flüssigkeitsbeständigkeit aufweisen (Thampi *et al.* 2017). Darüber hinaus sollte ein angewendetes Material weder toxische, immunogene, thrombogene oder entzündungsfördernde Wirkungen entfalten und physiologische Funktionen und Reparaturvorgänge humaner Zellen und Zellverbände nicht beeinträchtigen (Valerio *et al.* 2004; Thevenot *et al.* 2008; Williams 2008; Thampi *et al.* 2017).

Die Biokompatibilität ist definiert als Verträglichkeit zwischen einem Fremdwerkstoff und dem biologischen Gewebe. Diese kann mit Hilfe von Beschichtungssubstraten, die sowohl chemische als auch physikalische Eigenschaften eines Materials verändern können, verbessert werden. Je nach Einsatzgebiet können beispielsweise die Flexibilität, Plastizität und Elastizität von Oberflächen auf diese Art optimiert werden (Wang *et al.* 2015; Askari *et al.* 2017). Zusätzlich zu diesen mechanischen Veränderungen kann mit Hilfe von Beschichtungssubstraten auch die chemische Korrosionsbeständigkeit erhöht und Verschleißentwicklung gesenkt werden, sodass eine verlängerte Haltbarkeit eines Biomaterials erreicht werden kann (Williams 2008; Demnati *et al.* 2015). Ein wesentlicher Faktor, der bei der Verträglichkeit eines Fremdmaterials eine Rolle spielt, ist dessen Hydrophobizität. Hydrophobe Oberflächen sind nicht durch Wasser benetzbar und zeichnen sich durch einen Kontaktwinkel zwischen 90° und 180° aus (Yin *et al.* 2012). Solche wasserabweisende Oberflächen, wie es beispielsweise Silikonöle sind, wurden in vielen Studien als ursächlich für die geringere Adhäsion von sowohl wirtseigenen als auch bakteriellen Proteinen angesehen (Thevenot *et al.* 2008; Bernardes *et al.* 2010). Im inversen Zusammenhang damit stehen auch die Rauheit und freie Oberflächenenergie des Materials (Rafieezad *et al.* 2018). Alle diese Eigenschaften müssen bei der Entwicklung neuartiger Biomaterialien Berücksichtigung finden.

In der vorliegenden Arbeit wurden drei in der Medizin vielfach verwendete Biomaterialien untersucht: rostfreier Stahl (V2A-Stahl), Polykarbonat (Polykarbonat) und Glas (Kalk-Natron Glas). Als rostfreien Stahl bezeichnet man Eisenlegierungen, die mindestens 10,5 % Chrom und maximal 1,5 % Kohlenstoff enthalten. Aufgrund seiner Korrosionsbeständigkeit, Festigkeit, Formbarkeit und Elastizität zählt er zu den am häufigsten verwendeten Werkstoffen in der Medizin (Tony Newson 2002; Niinomi *et al.* 2015). Stahl dient zum einen als grundlegende Oberfläche in Großküchen bei Aufbewahrungsbehältern und Trinkwasserrohren und zum anderen schwerpunktmäßig in chirurgischen Fachbereichen als Material für Operationswerkzeuge, Prothesen und Implantate (Kayser 2014; Demnati *et al.* 2015). Polykarbonate werden ebenso wie

Stahl in vielen verschiedenen Bereich eingesetzt, da sie aufgrund ihrer Thermoplastik ideal zu verarbeiten sind. Im Vergleich zu Metallen ist Polykarbonat preisgünstiger, leichter im Gewicht und besser verträglich. Zusätzlich haben sie den Vorteil einer besonders einfachen Handhabung bei der Reinigung, Sterilisation und hygienischen Aufbereitung (Vani *et al.* 2013; Pfeiffer *et al.* 2016; Murphy *et al.* 2016). Aufgrund dieser Eigenschaften dienen sie als Behälter für Chemikalien, Infusionslösungen und Pharmazeutika, als sterile Verpackungen, als Einwegartikel in Form von Kathetern, Spritzen, Kanülen, Wundmaterial und Nahtmaterial, aber auch als Implantate wie Schläuche, Drainagen, Stents, Prothesen, Herzklappen oder Kontaktlinsen (Kayser 2014; Demnati *et al.* 2015). Glas ist ein anorganischer Werkstoff, der ausschließlich aus im Körper physiologisch vorkommenden Stoffen wie Silizium, Calcium, Natrium und Phosphat aufgebaut ist. Die am häufigsten verwendete Art ist das Kalk-Natron Glas, welches das herkömmliche Flachglas oder Normalglas ist. Es besteht zu 75 % aus Silikat, zu 10 % aus Kalk und zu 15 % aus Natron. Aufgrund seiner chemischen und physikalischen Eigenschaften eignet es sich gut für Produkte, die einer kurzzeitigen chemischen Beanspruchung standhalten müssen und wenig thermisch belastet sind. Zusätzlich ist Glas, mit der Ausnahme von Flusssäure, säurestabil und wird zur Aufbewahrung diverser Chemikalien und Medikamente verwendet (Kayser 2014; Demnati *et al.* 2015).

1.1.2 Biomaterial-assoziierte Infektionen

Trotz intensiver Forschung zur Verbesserung der Biokompatibilität von Fremdmaterialien nehmen nosokomiale Infektionen, die damit in Zusammenhang gebracht werden, weiterhin einen großen Stellenwert in der heutigen Medizin ein. Verlängerte Krankenhausaufenthalte und zusätzliche diagnostische, therapeutische und rehabilitationsmedizinische Maßnahmen sind infolgedessen die Folge und führen zu steigenden Material- und Personalkosten, die das Gesundheitssystem belasten (Thampi *et al.* 2017).

Fremdkörper-assoziierte Infektionen werden in bis zu 95 % der Fälle von Bakterien verursacht (Österreichische Gesellschaft für Infektionskrankheiten 2011). Die Verletzung der physiologischen Hautbarriere hat immunogene, thrombogene und proinflammatorische Vorgänge zur Folge. Nach Kontakt eines Fremdmaterials mit menschlichem Gewebe erfolgt die Bedeckung der Oberfläche mit wirtseigenen Proteinen wie Albumin, Fibrinogen, Immunglobulin G, Fibronectin und dem Von-Willebrand-Faktor (Thevenot *et al.* 2008). Das sogenannte Protein-Fouling dient als Schutzmechanismus vor dem eigenen Immunsystem zur Vorbeugung von Autoimmunität. Allerdings stellen genau diese Proteine die Voraussetzung und Nährstoffquelle zur primären Ansiedlung von Bakterien dar (Banerjee *et al.* 2011). Das gezielte Anheften von bakteriellen Erregern wird anschließend über diverse nicht-kovalente

Wechselwirkungen, wie Van-der-Waals-Kräfte, elektrostatische und hydrophobe Wechselwirkungen, vermittelt (Oliveira *et al.* 2018). Bei einer Entfernung von 0,5 nm bis 2 nm zwischen Bakterium und Wirtsoberflächen stellen hydrophobe Wechselwirkungen die stärksten Kräfte dar (Martienssen *et al.* 2001). Der direkte Kontakt zwischen Oberfläche und Bakterium wird zunächst durch einen dünnen Wasserfilm verhindert. Zur Verdrängung des Wasserfilms spielen hydrophobe Strukturelemente auf der Bakterienaußenseite eine wichtige Rolle, die den vorhandenen Film durchdringen und hydrophobe Bindungen mit der Substratoberfläche eingehen (Martienssen *et al.* 2001). Bakterienspezifische Adhäsine bedingen schlussendlich die feste Anlagerung am Material. Die Erreger können nun proliferieren oder einen Biofilm ausbilden (Romling und Balsalobre 2012; Shida *et al.* 2013).

Das Ausmaß der angesprochenen initialen Proteinadsorption ist beispielsweise durch die Optimierung der Biokompatibilität mit Hilfe von Oberflächeneigenschaften wie Hydrophobizität, Rauheit, Oberflächenenergie, Oberflächenladung und Porosität verringert (Thevenot *et al.* 2008; Shida *et al.* 2013; Francolini *et al.* 2017). Die Eigenschaften einer Materialoberfläche können demzufolge die Geschwindigkeit der Anlagerung von Bakterien sowie der Biofilmbildung zusammen mit dessen Struktur und Festigkeit bestimmen (Martienssen *et al.* 2001). Die grundlegenden Aspekte der Interaktion von Bakterienzellen und Oberflächen sind in Abbildung 1 zusammenfassend dargestellt.

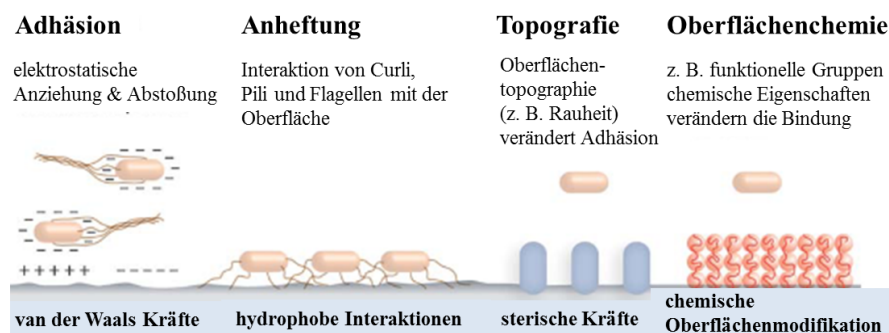


Abbildung 1: Grundlegende Aspekte der Interaktion von Bakterienzellen und Oberflächen nach Tuson und Weibel 2013: Eigenschaften von Oberflächen, wie Ladung, Hydrophobizität, Topografie und Identität chemischer Gruppen an der Oberfläche, interagieren mit physiko-chemischen Eigenschaften von Bakterienzellen und beeinflussen die Anlagerung der Zellen an der Oberfläche.

Die Bedeutung von Fremdkörper-assoziierten Infektionen soll am Beispiel von nosokomialen Harnwegsinfektionen verdeutlicht werden: Harnwegsinfektionen sind die am zweithäufigsten auftretenden nosokomialen Infektionen. Mit zirka 80 % stellen urethrale Dauerkatheter hierfür die häufigste Ursache dar. Diese Art von Kathetern können aus verschiedenen Biomaterialien hergestellt werden. 2015 veröffentlichte das Robert-Koch-Institut Ergebnisse, wonach Latexkatheter das höchste allergene Potential besitzen. Katheter aus Vollsilkon dagegen haben eine hohe Biokompatibilität und sind für die Langzeitanwendung besser geeignet (Prävention und

Kontrolle Katheter-assoziiertes Harnwegsinfektionen 2015). Eine Verminderung von nosokomialen Harnwegsinfektionen konnte bereits durch das Auftragen von Antibiotika-basierten Beschichtungen erreicht werden (Montali 2006; Ding *et al.* 2012). Hierfür wurden Rifampicin und Minocyclin eingesetzt und führten zu einer verringerten Adhäsion mit folglich geringerer Biofilmbildung auf dem Kathetermaterial (Ding *et al.* 2012). Der klinische Einsatz Antibiotika-basierter Beschichtungssubstrate ist allerdings begrenzt, da der präventiv-unspezifische Gebrauch von Antibiotika die Verbreitung von multiresistenten Erregern begünstigt (Taglietti *et al.* 2014; Francolini *et al.* 2017).

1.1.3 Einsatz von Beschichtungssubstraten zur Vorbeugung von Biomaterial-assoziierten Infektionen

Die Therapie von Fremdkörper-assoziierten Infektionen gelangt zunehmend an ihre Grenzen. Ein Grund dafür ist der in den letzten Jahren stetig steigende Einsatz von Antibiotika, der zu vermehrten Resistenzen der Mikroorganismen geführt hat. Aufgrund dieser Problematik müssen neue Strategien zur Prävention und Behandlung von Fremdkörper-assoziierten Infektionen gesucht werden (Francolini *et al.* 2017). Hierfür wären einerseits Oberflächenmodifikationen zur Erhöhung der Biokompatibilität eines Fremdmaterials angebracht. Andererseits würde sich der Einsatz abiotischer, antibakterieller Beschichtungssubstrate anbieten (Thampi *et al.* 2017). Durch das Auftragen von Beschichtungen können mechanische Materialeigenschaften wie Gleitfähigkeit, Formbarkeit, Leichtigkeit, Härte und biologische Verträglichkeit sowie chemische Eigenschaften wie Hydrophobizität und Ladungsenergie verändert werden (Shida *et al.* 2013). Ziel ist daher, ein Substrat zu finden, welches das Anheften und Überleben von Bakterien, Viren oder Einzellern einschränkt, gleichzeitig jedoch das humane Gewebe unverändert belässt. Neben den bereits erwähnten Antibiotika, stehen Beschichtungssubstrate auf der Grundlage von metallionischen Nanopartikeln (NP), antimikrobiellen Peptiden und Antiseptika zur Verfügung (Magdalena Agnes Slusznia 2013; Romanò *et al.* 2015; D'Almeida *et al.* 2017). Abbildung 2 zeigt eine Übersicht prophylaktischer Maßnahmen zur Verhinderung Material-assoziiertes Infektionen.

Die antibakterielle Wirkung dieser Stoffe kann grundlegend auf zwei Mechanismen zurückgeführt werden: bakteriostatische und bakterizide Wirkmechanismen. Bakteriostase bezeichnet die reversible Hemmung der Vermehrung bakterieller Erreger durch Eingriff in den Stoffwechsel. Beispielhaft für bakteriostatische Wirkstoffe sind Antibiotika, wie Makrolide, Tetracycline oder Lincosamine. Eine bakterizide Substanz bewirkt im Gegensatz dazu das irreversible Abtöten der Erreger. Angriffsorte antimikrobieller Substanzen können beispielsweise

die Zellwandbiosynthese, die Proteinbiosynthese, die Nukleinsäuresynthese, Stoffwechsellenzyme und die Zytoplasmamembranen sein. Als bakterizide Antibiotika wirken Aminoglykoside, Betalaktame oder Fluorchinolone (Suerbaum *et al.* 2016).

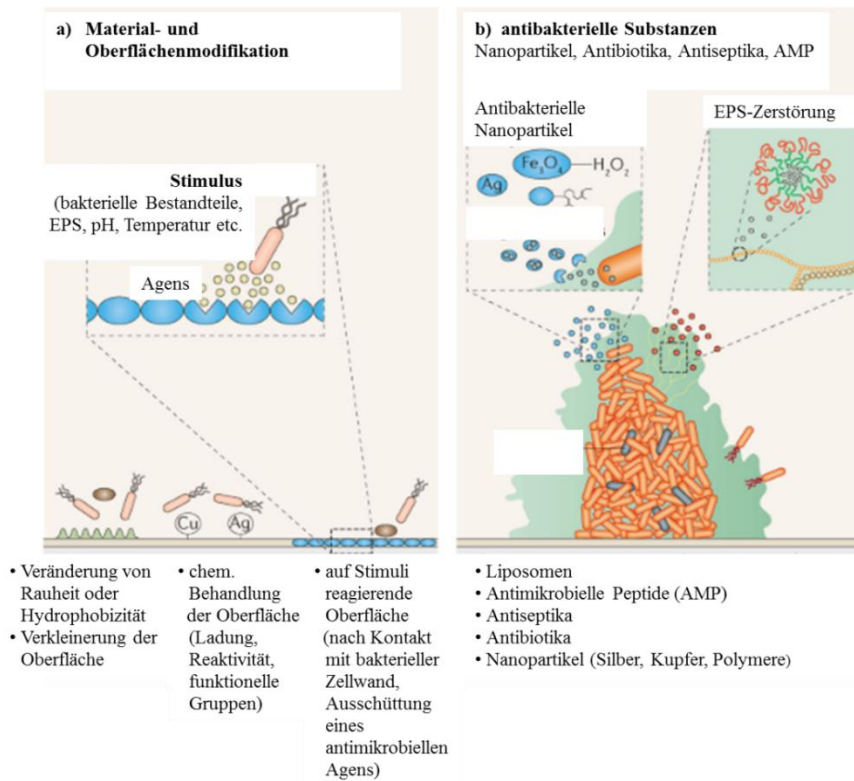


Abbildung 2: Übersicht prophylaktischer Maßnahmen zur Verhinderung Material-assoziierten Bakterieninfektionen nach Koo *et al.* 2017. a) Veränderung der Materialeigenschaften durch physiko-chemische Behandlung des Materials führt zu einer Verbesserung der Biokompatibilität und verschlechtert die Voraussetzungen für bakterielle Adhäsion. b) Antibakterielle Substanzen zum Einbau in das Material oder als Beschichtung

Neben antibiotischen Substraten gibt es eine Vielzahl weiterer potenzieller antibakterieller Beschichtungssubstanzen, von denen eine Auswahl im Folgenden vorgestellt werden soll.

In Untersuchungen zu Silber-Nanopartikeln (Ag-NP) wurden ausgeprägte antibakterielle Effekte nachgewiesen (Taglietti *et al.* 2014; Francolini *et al.* 2017). Die freigesetzten Silberionen binden an negativ geladene Komponenten der Zellwand und -membran. Durch die Entstehung sogenannter *Pits* (Defekte) kommt es zur Membrandestabilisierung und erhöhter Permeabilität. Die Silberionen gelangen in die Bakterienzelle (Faria *et al.* 2014; Chatterjee *et al.* 2015). Die Interaktion mit Enzymen der Atmungskette und Nukleinsäuren führt infolgedessen zur Unterdrückung der Replikation und Transkription von für die Bakterienzelle lebenswichtigen Proteinen und die Bakterienzelle geht zu Grunde (siehe Abbildung 3) (Coughlan *et al.* 2008; Capeletti *et al.* 2014; Dhas *et al.* 2015). Ähnliche Effekte konnten für Beschichtungen aus Zink-, Kupfer- und Magnesiumoxid festgestellt werden (Hemeg 2017). Neben Zellaktivität und Proliferation, inhibieren Zink-Ionen zusätzlich die Glykolyse und Säuretoleranz durch Freisetzung von Sauerstoffradikalen (Applerot *et al.* 2010).

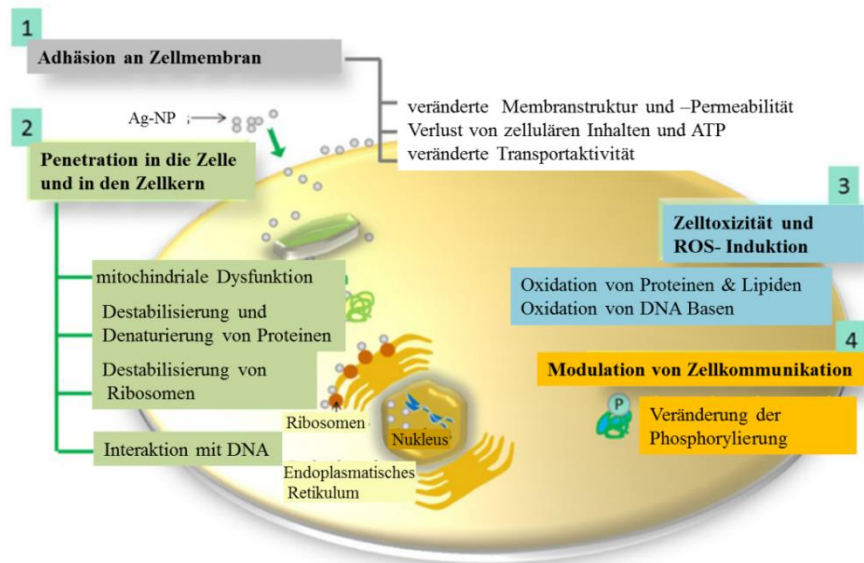


Abbildung 3: Die vier wichtigsten Pathomechanismen der antibakteriellen Wirkung von Silber-Nanopartikeln nach Dakal *et al.* 2016. 1) Ag-NP adhären an der bakteriellen Zelloberfläche und verursachen Membranschäden (Pits) und erhöhte Permeabilität, sodass zelluläre Inhaltsstoffe austreten. 2) Ag-NP penetrieren in die Zelle und interagieren mit Zellorganellen und Biomolekülen, wodurch Funktionsverlust und Fehlfunktionen resultieren. 3) Ag-NP induzieren oxidativen Stress durch Erhöhung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS), was zu Zellschäden und Apoptose führen kann. 4) Ag-NP verändern die Kommunikation innerhalb der Zelle. Alle Pathomechanismen können zu Zelltod führen und sind grundlegend an der antibakteriellen Wirkung von Ag-NP beteiligt.

Ein weiteres hochaktuelles Forschungsthema sind natürliche antimikrobielle Peptide (AMP). AMP finden sich in jedem Organismus und bestehen aus Aminosäuresequenzen unterschiedlicher Länge (Biswaro *et al.* 2018). Ihr amphiphiler Aufbau ist grundlegend für die antibakterielle, antivirale und antifungale Wirkung verantwortlich (Sluszniak 2013; Biswaro *et al.* 2018). Nach Interaktion mit der äußeren Bakterienmembran penetrieren AMP in die Bakterienzelle, wo sie in verschiedene Stoffwechselforgänge eingreifen können. Die genauen Mechanismen sind hierbei noch nicht vollständig geklärt. Verschiedene Autoren postulieren bei der Anwendung von AMP geringere Resistenzentwicklungen im Vergleich zu den herkömmlichen Antibiotika, da die Interaktionen nicht mit spezifischen Rezeptoren in Verbindung gebracht wird (Sluszniak 2013; Biswaro *et al.* 2018). Problematisch könnte allerdings die metabolische Instabilität von AMP sein, die eine orale Anwendung erschwert (Mahlpuu *et al.* 2016).

Ein Beispiel für eine bakteriostatisch und bakterizid wirksame Beschichtungssubstanz Triclosan. Triclosan ist Bestandteil von herkömmlichen Desinfektionsmitteln, Seifen oder Cremes. In niedriger Dosierung wirkt es bakteriostatisch und beeinflusst die bakterielle Lipidsynthese durch Inhibition des Schlüsselenzyms FabI (Enoyl-Acylcarrierprotein-Reduktase). In höheren Dosierungen dagegen wirkt Triclosan vermutlich durch direkte Zellmembranschäden bakterizid (Kapoor *et al.* 2004; Bello und Peteroy-Kelly 2007). Die Moleküle des Triclosan werden laut bisherigen Studien nach und nach vom Material abgegeben, sodass sich eine kontinuierliche

antibakterielle Wirkung aufbauen kann (Vasilev *et al.* 2009). Allerdings zeigte sich auch hier eine Resistenzentwicklung bakterieller Erreger (Thampi *et al.* 2017).

Die hier vorgestellten Beschichtungssubstrate machen deutlich, dass die Investition in eine prophylaktische Bekämpfung bakterieller Infektionen eine perspektivisch aussichtsreiche Behandlungsstrategie darstellt. Aufgrund der zunehmenden Resistenzentwicklung mikrobieller Erreger ist die Forschung an weiteren Beschichtungssubstraten mit hoher Biokompatibilität und kontinuierlicher antibakterieller oder bakteriostatischer Wirkung unabdingbar.

1.2 PDMS-basierte Beschichtungssubstrate

PDMS ist ein Polymer auf der Basis von reinem monomerem Silizium. Es zählt zu den einfachsten Silikonölen, sogenannten Siloxanen (Permanon GmbH Deutschland 2015). Chemisch betrachtet ist PDMS eine farblose, ungiftige und chemisch inerte Flüssigkeit, weshalb es überhaupt in der Medizin Anwendung finden kann. Es kann sich in Materialunebenheiten und Kapillaren einlagern, diese auffüllen und so eine glatte, positiv geladene und hydrophobe Oberfläche erzeugen (siehe Abbildung 4). Die Anlagerung von Schmutzpartikeln oder anderen Molekülen wird auf diese Weise erschwert.

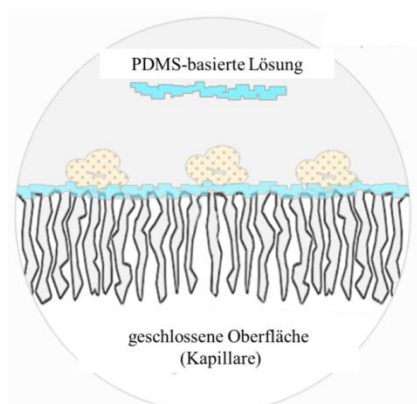


Abbildung 4: Funktionsweise eines PDMS-basierten Beschichtungssubstrates auf einer unebenen Oberfläche nach Permanon GmbH Deutschland 2015. Es bildet sich durch die PDMS-basierte Lösung (hellblau) eine kontinuierliche Schicht auf der porösen Oberfläche (schwarz dargestellt), die ein Einwirken von Schmutzpartikeln (gelblich schraffiert) verhindert.

Das in dieser Arbeit untersuchte PDMS stellt ein innovatives Beschichtungssubstrat dar, welches bereits für den Oberflächenschutz und als Reinigungssubstanz in der Verkehrsmittelbranche und für Solar- und Sanitäreinrichtungen verwendet wird. Laut Hersteller stehen Konzentrate zur Verfügung, die zur Anwendung mit Wasser auf einen PDMS-Anteil der Anwendungslösung zwischen 1 % bis 5 % verdünnt werden (Permanon GmbH Deutschland 2015).

Silizium ist nach Sauerstoff und Eisen das dritthäufigste natürlich auf der Erde vorkommende Element (Heseker 2002; Mortimer *et al.* 2015). Es befindet sich in oxidierter Form unter anderem in Teilen der Erdkruste, in Sand, Quarz, Ton und Glas (Wacker Chemie AG 2019). Im menschlichen Körper ist Silizium nach Eisen und Zink das dritthäufigste Spurenelement, trägt unter anderem zum Aufbau von Knochen, Knorpel, Gefäßen und Bindegewebe bei und unterstützt das Immunsystem. Elementares Silizium ist zu 100 % biologisch abbaubar und verursacht keine toxischen Wirkungen auf humane Zellen (Hiebl *et al.* 2013; Permanon GmbH Deutschland 2015). Silikonöl gehört zur Stoffgruppe der Silikone und besteht aus einem anorganischen Gerüst aus Silizium- und Sauerstoffatomen sowie organischen Gruppen. Aufgrund ihrer chemischen Struktur weisen Silikonöle eine hervorragende Scherstabilität, eine geringe Oberflächenspannung und eine optimale Wasserabweisung auf (Wacker Chemie AG 2019).

Die Beschichtung einer Oberfläche mit PDMS erfolgt über elektrostatische Kräfte und erzeugt auf allen festen und fettfreien Oberflächen eine etwa 40 - 50 nm dicke, positiv geladene, hydrophobe Schicht, ohne das Material in seinen mechanischen, chemischen und physikalischen Eigenschaften zu verändern. PDMS weist eine Hitzestabilität zwischen - 40 °C und + 300 °C auf und ist sowohl Säure- als auch UV-beständig. Demzufolge entstehen keine Schwierigkeiten bei der Lagerung, Sterilisierung und Autoklavierung der Untersuchungsmaterialien (Hiebl *et al.* 2013; Permanon GmbH Deutschland 2015; Pfeiffer *et al.* 2016). Nach Beschichtung einer Oberfläche wirkt diese schmutzabweisend und erleichtert die anschließende Reinigung, deren Kosten im Automobilbereich beispielsweise damit um 50 % gesenkt werden können (Deardorff 2011; Permanon GmbH Deutschland 2015). Elektronenmikroskopische Fotografien von bisher unveröffentlichten Untersuchungen des Instituts für Medizinische Mikrobiologie in Halle in Zusammenarbeit mit C. Hopperdietzel des Instituts für Veterinär Anatomie von der Freien Universität Berlins zeigen den Unterschied zweier identischer Oberflächen vor und nach einer Beschichtung mit PDMS (siehe Abbildung 5). Bei genauerer Betrachtung lässt sich eine glattere und ebenere Oberfläche auf den Bildern mit PDMS-Beschichtung nachweisen.

2013 erfolgten erstmalig mikrobiologische Untersuchungen mit PDMS als medizinisches Beschichtungssubstrat durch Hiebl *et al.*. Dabei wurde ein positiver Einfluss von PDMS auf das Wachstum von Fibroblasten beobachtet. Zugleich gab es keinen Hinweis auf zytotoxische Wirkungen gegenüber humanen Epithelzellen, da die Zellaktivität und die Sekretion des Komplementfaktors C5a, der als Indikator für die Komplementaktivierung gilt, von dem verwendeten PDMS unbeeinflusst blieben (Hiebl *et al.* 2013; Hof *et al.* 2014).

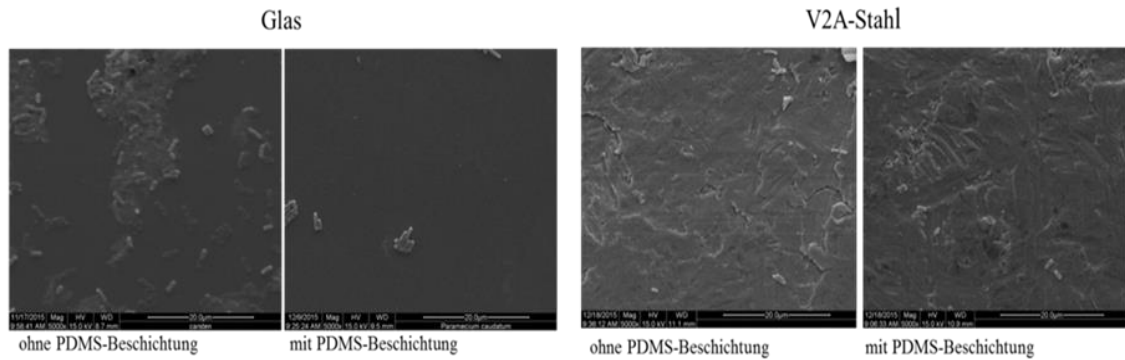


Abbildung 5: Elektronenmikroskopische Fotografien einer Glasoberfläche (links) und einer V2A-Stahloberfläche (rechts). Dargestellt sind jeweils das unbehandelte Material (links) und das Material mit 2,0 vol-% PDMS-Beschichtung. Es zeigt sich eine insgesamt glattere und gleichmäßigere Oberfläche auf den Abbildungen mit PDMS-Beschichtung. (Quelle: Institut für Medizinische Mikrobiologie in Halle mit freundlicher Genehmigung von C. Hopperdietzel)

Drei Jahre später wurden weitere Untersuchungen veröffentlicht, die die Reduktion adhärirter Bakterien auf einer mit PDMS-beschichteten Oberfläche im Vergleich zur unbehandelten Oberfläche postulierten (Pfeiffer *et al.* 2016). Von den Autoren wurde dieses Phänomen auf die hydrophoben Eigenschaften und die entstandene positive Ladung des Materials, die sich aufgrund des Versuchsaufbaus verstärkt auswirken, zurückgeführt (Hiebl *et al.* 2013; Pfeiffer *et al.* 2016). Im Allgemeinen postulieren Wissenschaftler jedoch, dass bakterielle Erreger besser an hydrophoben als an hydrophilen Oberflächen adhären (Banerjee *et al.* 2011; Abdallah *et al.* 2014). Hydrophile Oberflächen stellen eine stabile Grenzflächenwasserschicht bereit und verhindern dadurch den direkten Kontakt zwischen Bakterium und Oberfläche (Shida *et al.* 2013). Die hydrophoben Eigenschaften von PDMS begünstigt somit die Annäherung von Bakterien und ermöglicht die Wechselwirkung zwischen Polymer und Lipiden. Polykarbonate ohne hydrophobe Bestandteile konnten in bisherigen Studien keine antibakteriellen Effekte aufzeigen (Ding *et al.* 2012). Die bisherigen Ergebnisse zur Biokompatibilität und Adhäsion sowie die physikochemischen Eigenschaften von PDMS, in Verbindung mit der wirtschaftlichen Effizienz und Umweltverträglichkeit, lassen das verwendete PDMS zu einem potentiellen, zukunftsorientiertem Beschichtungssubstrat werden. Untersuchungen auf antibakterielle Effekte stellen in diesem Zusammenhang einen wichtigen Faktor dar.

1.3 Bakterielle Mikroorganismen

In der vorliegenden Arbeit wurde das Verhalten bakterieller Erreger unter dem Einfluss eines PDMS-basierten Beschichtungssubstrates untersucht. Um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten, erfolgten die Versuche an verschiedenen Bakterienspezies mit individuellen Besonderheiten und Eigenschaften, die im folgenden Kapitel vorgestellt werden sollen. Zu den verwendeten Erregern gehören *Escherichia coli*-Spezies (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa*

(*P. aeruginosa*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) und *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) subsp. *spizizenii*.

1.3.1 *Escherichia coli*

E. coli gilt als typischer Vertreter der Enterobakterien, die als fakultativ anaerobe und fakultativ pathogene Keime physiologisch im Darmtrakt des Menschen vorkommen. In der Hygienemedizin gilt der Gram-negative, nicht-sporenbildende Keim als klassischer Indikator für Fäkalverunreinigungen von Trink- und Badewasser sowie von Lebensmitteln (Suerbaum *et al.* 2016; Jang *et al.* 2017). Die optimalen Wachstumsbedingungen für *E. coli* liegen in einem warm feuchten Milieu bei einer Temperatur um 36 - 37 °C (Jang *et al.* 2017). Als mesophiler Keim kann *E. coli* bei 37 °C optimal wachsen, allerdings ist auch bei kälteren und wärmeren Bedingungen von 4 °C bis zu 46 °C ein Überleben und Wachsen möglich. Bei hoher Feuchtigkeit und Temperaturen über 60 °C werden die Keime hingegen innerhalb weniger Minuten abgetötet (Madigan *et al.* 2003; Suerbaum *et al.* 2012).

Bezüglich seines zellulären Aufbaus zeigt *E. coli* einige Besonderheiten: Zahlreiche Stämme besitzen eine Kapsel, die das Bakterium vor Trockenheit, Phagozytose und Komplementfaktoren schützt. Für die gerichtete Bewegung der Bakterien ist die peritriche Begeißelung verantwortlich (Suerbaum *et al.* 2012). Die meisten *E. coli*-Stämme sind apathogen und im menschlichen Darm weit verbreitet (Madigan *et al.* 2003). Pathogene Vertreter haben aufgrund stark ausgeprägter genetischer Individualität sehr unterschiedliche infektiöse Potenzen. Sie können intestinale und extraintestinale Infektionen verursachen (Donnenberg 2013). Lediglich 20 % der Genomgröße von *E. coli* sind allen Mitgliedern der Spezies gemein. Die Infektiosität wird durch eine Vielzahl von Virulenzfaktoren, zu denen unter anderem Adhäsine, Endotoxine, Hämolsine, Serinproteasen und Shiga-Toxine zählen, vermittelt (Donnenberg 2013; Suerbaum *et al.* 2016). Haftpili und andere Adhäsine dienen dem Anheften an die Wirtsepithelzellen. Anschließend führt die Freisetzung von endogenen und exogenen Toxinen, wie Lipopolysacchariden durch Förderung der Komplementaktivierung und Ausschüttung von Zytokinen und Entzündungsmediatoren wie Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) und Interleukin-6 (IL-6) zu einer Schädigung des Epithels. Diese Mechanismen ermöglichen dem Bakterium in die Schleimhaut einzuwandern, wo es sich vermehren, im Blut ausbreiten und zu einer Sepsis führen kann (Kaper *et al.* 2004; Hof *et al.* 2009). Der mikrobielle Nachweis von *E. coli* gelingt heutzutage kulturell und molekularbiologisch mittels Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) (Hof *et al.* 2009). Die Anzucht des stäbchenförmigen Bakteriums erfolgt auf einem Vollmedium oder auf Selektivnährböden wie Endo-Agar, MacConkey-Agar oder in Flüssigkulturen (Hof *et al.* 2017).

Durch kontaminiertes Trinkwasser und kontaminierte Lebensmittel entstehen Infektionen mit *E. coli* vor allem in Entwicklungs- und Schwellenländern mit mangelnden Hygienestandards (Hof *et al.* 2009). Bei immunkompetenten Menschen führt eine Besiedlung des Intestinaltraktes mit Kommensalen nur sehr selten zu einer klinischen Manifestation. Bei immunsupprimierten Patienten oder Neugeborene hingegen kann *E. coli* sowohl intestinale als auch extraintestinale Infektionen auslösen. Intestinal erliden die Patienten wässrige Diarrhoen, Exsikkose und Bauchkrämpfe. Nicht selten kann sich eine Appendizitis oder Peritonitis entwickeln. Extraintestinale Manifestationen zeichnen sich beispielsweise durch sekundäre Wundinfektionen und der neonatalen Meningitis aus. Uropathogene Vertreter führen lokal zu eitrigen Entzündungen, wodurch sich eine Zystitis, Harnwegsinfekten oder eine Pyelonephritis herausbilden kann (Hof *et al.* 2014).

E. coli-Stämme werden in verschiedene Pathotypen eingeteilt, die sich hinsichtlich Epidemiologie, Virulenzfaktoren, Pathomechanismen und Klinik voneinander unterscheiden. Sie treten als fakultative oder obligate Pathogene auf (Suerbaum *et al.* 2012). Zu ihnen gehören unter anderem intestinale Pathovaren wie enterotoxische (ETEC), enteroaggregative (EAEC), enterohämorrhagische (EHEC), enteropathogene (EPEC), enteroinvasive (EIEC) und extraintestinale Pathovaren wie uropathogene (UPEC) *E. coli* und die neonatalen Meningitis *E. coli* (NMEC) (Donnenberg 2013).

EAEC werden definiert als *E. coli*, die in einem zellkulturellen *HEp-2* (*humane epithels type 2*) *adherence assay* autoaggregativ und backsteinartig an den Epithelzellen haften (Kaper *et al.* 2004). Erstmals wurde dieser Subtyp 1987 von Nataro beschrieben, der die Assoziation des Bakteriums mit Durchfall bei peruanischen Kindern feststellte (Nataro *et al.* 1987; Harrington *et al.* 2006). Die Diagnose wird anhand der typischen Symptomatik, der Anzucht aus einer Stuhlprobe und durch Nachweis der spezifischen Gene für die Virulenzfaktoren, wie beispielsweise dem Aggregationsregulatorgen (*aggR*), dem Anti-Aggregationsprotein-Transportergen (*aatA*) und dem *dispersin-encoding*-Gen (*aap*) in der PCR gestellt (Imuta *et al.* 2016; Lara *et al.* 2017).

EAEC adhären mittels spezifischer Fimbrien, den sogenannten Aggregative-Adhärenz-Fimbrien (AAF), und Adhäsinen an die Mukosa des Intestinaltraktes, um an dieser Stelle einen dicken, mukösen Biofilm auszubilden (Suerbaum *et al.* 2016). Verschiedene Virulenzfaktoren, wie Serinproteasen und Enterotoxine (EAST), führen zu einer Entzündungsreaktion mit Permeabilitätserhöhung, die den physiologischen Aufbau der Zellwand zerstören und sich klinisch in wässrigem und blutigem Durchfall äußern kann (Huang und Dupont

2004). Eine vereinfachte, schematische Darstellung der Pathogenese von EAEC ist der Abbildung 6 zu entnehmen.

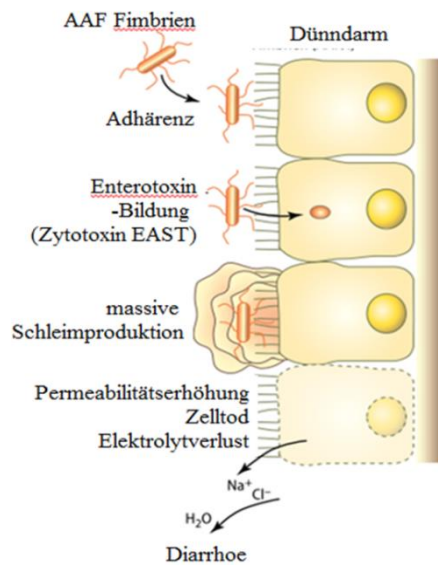


Abbildung 6: Schematische Darstellung der Pathogenese von EAEC nach Suerbaum *et al.* 2012.

Die Bakterien adhären mittels Adhäsine und Fimbrien an dem Darmepithel. Vermittelt durch Enterotoxine und Serinproteasen kommt es zu einer Entzündungsreaktion mit Permeabilitäts- und Schleimproduktion. Die Folge sind Membranschäden und Elektrolytverlust, die zu einer sekretorischen Diarrhoe führen.

Eine Besiedlung mit EAEC wird auch bei symptomlosen Individuen, besonders häufig bei Kindern, beobachtet (Nuesch-Inderbinen *et al.* 2013; Heibelstrup Jensen *et al.* 2016). Die klinische Manifestation verdeutlicht die Heterogenität und Vielfalt an Virulenzfaktoren des Erregers einerseits und die variable Ausprägung des Immunsystems des Wirtes andererseits (Heibelstrup Jensen *et al.* 2014). Die differenzierte Immunreaktion auf die Besiedlung mit EAEC basiert laut neuesten Ergebnissen vor allem auf genetischer Variabilität des Wirtes. Polymorphismus im Bereich der Promotorgene von Interleukin-8 (IL-8) und *Cluster of Differentiation* 14 (CD 14) führt zu individuellen Expressionsausprägungen der Rezeptoren und korreliert mit dem Ausmaß der Diarrhö (Jiang *et al.* 2003; Heibelstrup Jensen *et al.* 2014).

In Ländern mit schlechten hygienischen Standards stellt eine Besiedlung mit EAEC-Stämmen die zweithäufigste Ursache für Durchfall von Reisenden dar (Imuta *et al.* 2016). Die Übertragung erfolgt hauptsächlich über Schmierinfektion und kontaminierte Lebensmittel sowie Trinkwasser. Große Probleme entstehen bei der Keimverschleppung in andere Länder (Harrington *et al.* 2006). Akute Verläufe der Enteritis sind vorwiegend bei Patienten mit einer Immunschwäche beschrieben (Hahn *et al.* 2009). Seltener können EAEC auch chronische Infektionen hervorrufen. Die Bakterien persistieren subklinisch im Darmtrakt und können je nach Abwehrlage des Wirtes lang andauernde Toxin-induzierte Effekte auslösen. Bei Kindern führen chronische EAEC-Infektionen zu Mangelernährung und dadurch bedingte Entwicklungsstörungen

(Okhuysen und Dupont 2010). Aufgrund des meist selbstlimitierenden Verlaufes der Symptome ist eine Antibiotikatherapie nur bei schweren Ausprägungen notwendig. Der Ausgleich von Flüssigkeit und Elektrolyten ist in den meisten Fällen indiziert (Suerbaum *et al.* 2012).

Die vorliegende Arbeit befasst sich unter anderem mit Stammisolaten, aus der Stammsammlung des Institutes für Medizinische Mikrobiologie Halle, die mittels PCR durch das Vorhandensein der Gene *aggR* und/ oder *aatA* dem Pathovar EAEC zugeordnet wurden (siehe Kapitel 3.1.1.). *E. coli* als häufigsten nosokomialen Erreger wird eine überaus große klinische Bedeutung zugeschrieben. Aus diesem Grund wurde dieser Keim in den vorliegenden Untersuchungen verwendet (Hof *et al.* 2014; Talan *et al.* 2016; Uzodi *et al.* 2017).

1.3.2 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa ist der wichtigste humanpathogene Vertreter der Pseudomonaden und gehört zur Gruppe der Gram-negativen Stäbchenbakterien (Neumeister *et al.* 2009). Es ist ein monotrich, polar begeißeltes Bakterium, das nicht zur Ausbildung von Sporen fähig ist. *P. aeruginosa* wird in die Gruppe der Non-Fermenter eingeordnet, da es Glukose nicht anaerob abbauen kann (Suerbaum *et al.* 2016). Als obligater aerober Keim kann es an der Oberfläche von Flüssigkeiten Biofilme, die sogenannte Kahmhaut, ausbilden, da dort ein hoher Sauerstoffgehalt vorherrscht (Hof *et al.* 2017). Natürlicherweise kommt *P. aeruginosa* im Erdboden, in Oberflächengewässern und auf Pflanzen vor. Das Bakterium wächst bevorzugt unter feuchten Bedingungen, kann sich aber auch unter trockenen Gegebenheiten vermehren. Im Krankenhaus wird *P. aeruginosa* häufig an Beatmungsschläuchen, Luftbefeuchtern, Brutkästen, Seifenbehältern und Waschbecken gefunden (Neumeister *et al.* 2009). Außerdem ist das Überleben und die Vermehrung in Augentropfen, Dialyseflüssigkeit und Desinfektionslösungen möglich (Suerbaum *et al.* 2016; Hof *et al.* 2017).

Eine kulturelle Anzucht von *P. aeruginosa* gelingt auf allen nicht-selektiven, belüfteten Nährmedien, wie Blut- oder Nähragar. Der selektive Nachweis erfolgt zusätzlich durch positive Oxidase-Reaktion, Gram-Färbung, Pigmentbildung auf MacConkey- oder Cetrimid-Agar und einen markantem lindenblütenartigen, süßlichem Geruch, der auf die Bildung von Aminoacetophenon zurückzuführen ist (Neumeister *et al.* 2009; Hof *et al.* 2017). Auf bluthaltigem Agar kommt es in der Regel zu einer vollständigen β -Hämolyse (Hof *et al.* 2017). Ein besonderes Merkmal der meisten *P. aeruginosa*-Stämme ist die Produktion der Pigmente *Pyocyanin* und *Pyoverdin*, die einerseits der mikrobiologischen Identifizierung dienlich sind, andererseits über zytotoxische Eigenschaften verfügen (Lau *et al.* 2004; El-Fouly *et al.* 2015; Steinmetz 2016). Die Bildung dieser Pigmente wird durch die Zugabe von Magnesiumchlorid

und Kaliumsulfat, die beide wesentliche Bestandteile des Cetrimid-Agars sind, verstärkt (Zimbro 2009). Als Zwitterion kann *Pyocyanin* leicht durch die Biomembran diffundieren und intrazelluläre Effekte hervorrufen. Es führt zu Zellschäden und hilft dem Bakterium beim Überleben im Gewebe. Zusätzlich blockiert es die Zellatmung und Zilienfunktion, verhindert epidermales Wachstum und hemmt die Ausschüttung von Prostazyklinen (Lau *et al.* 2004). Neben der Bildung von zytotoxischen Pigmenten weist *P. aeruginosa* als nosokomialer Keim eine Reihe von weiteren Virulenzfaktoren auf. Davon befinden sich Pili, Flagellum, Fimbrien und Lipopolysaccharide Membran-assoziiert an der Außenseite des Bakteriums und vermitteln die Adhäsion an Oberflächen (Benie *et al.* 2017). Das Exopolysaccharid Alginate dient als viskose Schleimkapsel und schützt das Bakterium vor Phagozyten, Antibiotikawirkung und Austrocknung. Diese Pathogenitätsfaktoren tragen zur Ausbildung eines mukösen Biofilms bei (Lau *et al.* 2004; Suerbaum *et al.* 2016). Mittels spezifischer Proteasen werden Defensine, Immunglobuline und Komplementfaktoren aufgespalten. Pathogenetisch setzt *P. aeruginosa* zahlreiche Exo- und Endotoxine frei und kann sich damit fast überall im Körper ausbreiten (Hof *et al.* 2009; Suerbaum *et al.* 2016; Hof *et al.* 2017). Eine besonders wichtige Rolle spielt das Exotoxin A, dessen biochemischer Wirkmechanismus dem des Diphtherietoxins ähnelt (Suerbaum *et al.* 2016). Das Toxin wird mittels Endozytose Clathrin-abhängig in die Zelle aufgenommen und die Domäne III des Proteins katalysiert anschließend die Übertragung von Adenosin-Diphosphat-Ribose des Nicotinamid-Adenin-Dinukleotids auf den eukaryontischen Elongationsfaktor 2, was einen Stillstand der Proteinbiosynthese zur Folge hat. Die Zelle geht in die Apoptose über (Pollack 1983; Morlon-Guyot *et al.* 2009).

Als nosokomialer Erreger ist *P. aeruginosa* häufig an Atemwegs-, Wund- und Harnwegsinfektionen beteiligt (Suerbaum *et al.* 2016; Benie *et al.* 2017). Die im Krankenhaus erworbene Pneumonie ist ein mit hoher Letalität verbundenes, häufig auftretendes Krankheitsbild, das vor allem bei immunsupprimierten Patienten vorkommt. Dabei sind 50 - 60 % der immunsupprimierten Patienten mit dem Erreger kolonialisiert (Ewig 2017; Benie *et al.* 2017). Bei an Mukoviszidose erkrankten Personen gehen durch *P. aeruginosa* verursachte Lungeninfektionen mit einer hohen Morbiditäts- und Mortalitätsrate einher (Moore und Mastoridis 2017). Typische durch *P. aeruginosa* ausgelöste Krankheiten stellen Wundinfektionen mit Eiterbildung, Otitiden, Pneumonien und Meningitiden dar (Neumeister *et al.* 2009). Die klinische Relevanz von mit *P. aeruginosa*-assoziierten Infektionen liegt in der Schwere der Manifestation der Symptome, in der hohen Umweltpersistenz des Bakteriums und den dadurch resultierenden schlechten Therapieoptionen (Fu *et al.* 2017).

1.3.3 *Staphylococcus epidermidis*

S. epidermidis gehört zur Gruppe der Gram-positiven, nicht sporentragenden, unbeweglichen, fakultativ pathogenen Bakterien. Physiologisch kommt es auf der Flora von Haut und Schleimhäuten gesunder Menschen vor (Hof *et al.* 2017). Die Vermehrung von Staphylokokken erfolgt sowohl aerob als auch anaerob und Kohlenhydrate werden von ihnen fermentativ abgebaut (Suerbaum *et al.* 2016).

Der kulturelle Nachweis von *S. epidermidis* erfolgt ohne großen Aufwand auf geeigneten Nährböden wie zum Beispiel Schafsblut-Agar (Col+SB). Es produziert auf Col+SB typischerweise ein weißliches Pigment. Ein β -hämolisierendes Verhalten weist *S. epidermidis* nicht auf (Hof *et al.* 2009; Neumeister *et al.* 2009; Hof *et al.* 2017). Als typisches Koagulase-negatives Bakterium und aufgrund des inhibierenden Wachstums unter Desferrioxamin ist eine Abgrenzung des Subtypes *epidermidis* zu anderen Koagulase-negativen Staphylokokkenarten möglich (Hof *et al.* 2009; Suerbaum *et al.* 2012). Die Trehalosespaltung und Oxidasereaktion fallen negativ, die Ureasespaltung positiv aus. Im Grampräparat findet man *S. epidermidis* häufig in Form von Haufen oder Trauben (Neumeister *et al.* 2009).

Im Gegensatz zu *Staphylococcus aureus*, welches eine Vielzahl von extrazellulären Virulenzfaktoren besitzt, sind die Virulenzfaktoren bei *S. epidermidis* eher begrenzt und verursachen bei immungesunden Menschen keine invasive Infektion (Sabaté Bescó *et al.* 2017). Nichtsdestotrotz gilt *S. epidermidis* als einer der häufigsten Verursacher von Biofilm-assoziierten opportunistischen Infektionen, die häufig mit Fremdmaterialien in Zusammenhang stehen (Lassen 2017). Aufgrund der Ausbildung von hydrophoben Wechselwirkungen und Van-der-Waals-Kräften haftet das Bakterium gut an hydrophoben Oberflächen, beispielsweise an Wundflächen und Materialien wie Polykarbonaten (Shida *et al.* 2013). Die Anlagerung der Bakterien an native Oberflächen ohne pathologische Konsequenz wird durch spezifische Adhäsine, wie das Autolysin (AtIE), extrazelluläre DNA und die Staphylokokken-Oberflächenproteine (SSP-1 und SSP-2) vermittelt (Sabaté Bescó *et al.* 2017). Nach Einführen von Fremdmaterial spielen eine Reihe weiterer Virulenzfaktoren eine Rolle. Dazu gehören Adhäsine für Fibrinogen, Fibronectin, Kollagen und Elastin, die Peptidoglycan-bindenden Teichonsäuren der Zellwand und Hämagglutinine (Sabaté Bescó *et al.* 2017). Die Anlagerung an eine Fremdoberfläche stellt den ersten Schritt für die Biofilmbildung der Bakterien dar. Für die weitere Ausbildung und Reifung des Biofilmes von *S. epidermidis* wird in der Literatur das interzelluläre Polysaccharid-Adhäsin (PIA) hervorgehoben (Buttner *et al.* 2015; Suerbaum *et al.* 2016). Viele *S. epidermidis*-Stämme besitzen zusätzlich eine Kapsel aus säurehaltigen Bestandteilen, die eine hydrophile Oberfläche bildet und zu einem besseren Anheften führt (Hogt *et al.* 1985). Innerhalb weniger Stunden vermehren und formieren sich die

Bakterien zu einem Biofilm, wodurch sie vor Phagozytose und Antibiotikaangriff geschützt sind (Suerbaum *et al.* 2016).

S. epidermidis verursacht bis zu 40 % der durch künstliche Herzklappen entstehenden Endokarditiden, besiedelt bis zu 30 % aller Katheter und ist an 50 % der Gelenkimplantatinfektionen beteiligt (Suerbaum *et al.* 2016). Bei immunsupprimierten Patienten zählt *S. epidermidis* zu den häufigsten Auslösern einer nosokomialen Sepsis (Lassen 2017). Der zunehmende Einsatz technischer Geräte in der Medizin und die steigende Anzahl von Patienten mit geschwächtem Immunsystem haben dazu geführt, dass Infektionen mit *S. epidermidis* in den letzten Jahren immer häufiger geworden sind (Lassen 2017). Die Untersuchung dieses Erregers hat für die folgende Arbeit daher besonders großen Stellenwert.

1.3.4 *Bacillus subtilis* subspezies *spizizenii*

B. subtilis subsp. *spizizenii* gehört zur Gruppe der überwiegend Gram-positiven und endosporenbildenden Bazillen (Cao *et al.* 2017). Als fakultativ pathogene Stäbchenbakterien können Bazillen in der natürlichen Flora des menschlichen Intestinaltraktes vorkommen und sind aufgrund der peritrichen Begeißelung gut beweglich (Neumeister *et al.* 2009; Hof *et al.* 2017). Bazillensämme sind in der Luft, im Erdboden und in Wasser ubiquitär verbreitet (Hahn *et al.* 2009). In der Medizin zeichnet sich *B. subtilis* durch vielfältige Einsatzgebiete aus. *B. subtilis* dient als Sterilisationsindikator, als Bioindikator zur Abklärung der Phenylketonurie und zur Produktion von Antibiotika, extrazellulärer Proteine, industrieller Enzyme und Vitamine, wie beispielsweise Riboflavin (Vitamin B₂) (Ozturk *et al.* 2016; Cao *et al.* 2017).

Der diagnostische Nachweis des aerob wachsenden Bakteriums gelingt anhand der Erregeranzucht auf bluthaltigem Agar. *B. subtilis* bildet unscharf begrenzte Kolonien mit trockener Oberfläche und kleinem Hämolysehaufen. Die Katalasereaktion ist positiv. Häufig erfolgt die Bildung von β -Laktamasen. Unter aeroben Bedingungen werden einzelne Endosporen gebildet, die sehr resistent gegen physikalische und chemische Umwelteinflüsse sind. Abgrenzungen zu anderen Subspezies, wie *Bacillus anthracis* oder *Bacillus cereus*, erfolgen mittels Ausschluss spezifischer Virulenzfaktoren und Hämolyseverhalten (Hahn *et al.* 2009; Neumeister *et al.* 2009; Hof *et al.* 2017).

Der einzige obligat pathogene Vertreter der Gruppe der Bazillen ist *B. anthracis*, der als Verursacher des Milzbrandes von großer klinischer Bedeutung ist (Hof *et al.* 2017). Diese Erkrankung kann sich auf der Haut (Hautbrand), im Intestinaltrakt (Darmbrand) und in der Lunge (Lungenbrand) in Form von Sepsis, Nekrosen, Gewebeschädigungen und Ödemen manifestieren.

Unbehandelt zeigen diese Infektionen hohe Letalitätsraten zwischen 20 % für den Hautbrand bis zu 97 % für den Lungenmilzbrand (Neumeister *et al.* 2009; Suerbaum *et al.* 2016). *B. anthracis* ist aufgrund seiner hohen Widerstandsfähigkeit, Aggressivität und Toxizität als besonders risikoreich einzustufen und erfordert spezielle Schutzmaßnahmen bei der mikrobiologischen Anzucht im Labor. In der Geschichte finden sich Vorfälle der Nutzung von *B. anthracis* als potenzielle Biowaffe (Hof *et al.* 2017). Zur Überprüfung der Wirksamkeit des PDMS-basierten Substrates wurde aus den genannten Gründen, die einen besonderen Umgang mit *B. anthracis* erforderlich machen, der deutlich ungefährlichere, fakultativ pathogene Vertreter *B. subtilis* subsp. *spizizenii* als sporenbildendes Bakterium verwendet.

Pathogenetisch besitzt *B. subtilis* subsp. *spizizenii* die Fähigkeit zur Ausbildung von Endosporen, die zur Resistenz des Bakteriums gegenüber chemischen und physikalischen Umwelteinflüssen wie Hitze, Strahlung, Trockenheit und pH-Änderungen führen (Pompeo *et al.* 2016). Der Erreger kann sich sogar in 70 %-igem Alkohol vermehren (Suerbaum *et al.* 2016). Typischerweise nehmen die Sporen über lange Zeiträume einen inaktiven Zustand ein, um auf diese Weise auch bei Nährstoffmangel und Stress zu überleben. Als Reaktion auf verbesserte Nährstoffbedingungen werden sie aktiviert und keimen aus (Pompeo *et al.* 2016; Huang und Hull 2017). Als fakultativ pathogener Keim kann *B. subtilis* vor allem bei immunsupprimierten Patienten Lebensmittelvergiftungen mit Erbrechen und Diarrhoe hervorrufen (Hof *et al.* 2017). Mit der Ausbildung eines Biofilmes und der Produktion von Kollagenasen, Proteasen, Lecithinasen, Hämolytinen und Toxinen verursachen sie Gewebeschädigungen und breiten sich dadurch weiter im Gewebe aus. (Hahn *et al.* 2009). Aufgrund der genannten Eigenschaften, der ubiquitären Verbreitung und der vielseitig technisch-medizinischen Einsatzbereiche besitzen Bazillen einen hohen Stellenwert in der Medizin. *B. subtilis* dient bevorzugt als Testorganismus für Untersuchungen an Biofilmen (Mielich-Süss und Lopez 2015; Cao *et al.* 2017).

1.4 Biofilme

Biofilme sind komplexe und dynamische mikrobielle Lebensformen, bei denen sich Bakterien oberflächenassoziiert zusammenschließen und in eine sie schützende, visköse Substanz, die sogenannte extrazelluläre polymere Substanz (EPS), eingebettet sind (Gupta *et al.* 2016). Viele Bakterien sind in der Lage Biofilme auszubilden, davon sind Staphylokokken, Pseudomonaden, Bazillen und Escherichien besonders hervorzuheben (Flemming und Wingender 2001). Im medizinischen Alltag sind Biofilme weit verbreitet und entstehen sowohl an künstlichen Oberflächen medizinischer Geräte, wie Kathetern, Endotrachealkanülen, orthopädischen Implantaten oder Nahtmaterialien, als auch an natürlichen Oberflächen wie Wundrändern und Zähnen (Donlan und Costerton 2002; Francolini *et al.* 2017; Percival 2017). Die Anwesenheit

von Biofilmen spielt bei Krankheiten wie Harnwegsinfekten, Endokarditiden, Peridontitiden, Rhinosinitiden, Osteomyelitiden und der zystischen Fibrose eine bedeutende Rolle (Gupta *et al.* 2016). Zystische Fibrose (CF) ist eine Erkrankung, die mit einer Zunahme der Viskosität von physiologischen Sekreten im Respirationstrakt einhergeht und damit eine optimale Nährbodenfläche für eine Vielzahl von Bakterien bietet (Fu *et al.* 2017; Moore und Mastoridis 2017). Angesiedelte Erreger sind durch den viskösen Schleim zusätzlich vor Antikörpern und Phagozyten geschützt, greifen das ohnehin geschwächte Immunsystem weiter an und führen zu schwerwiegenden opportunistischen Infektionen, wie beispielsweise einer Pneumonie (Donlan und Costerton 2002; Faria *et al.* 2014).

Hinsichtlich der zellulären Anordnung und des beteiligten Erregerspektrums werden verschiedene Biofilmtypen unterschieden. Nach der Diversität bezüglich beteiligter Spezies werden Biofilme in homogene, aus einer Spezies aufgebaute, und in heterogene, aus verschiedenen Spezies aufgebaute, Biofilme unterteilt (Gupta *et al.* 2016). Heterogene Biofilme kommen vor allem in der Umwelt vor, wohingegen homogene Biofilme in der Medizin eine bedeutende Rolle spielen. Nach der Struktur ihres Aufbaus wiederum können sie in einschichtige oder mehrschichtige Biofilme unterschieden werden. Bei einschichtiger Anordnung dominiert die Wechselwirkung zwischen Bakterium und Oberfläche (Karatan und Watnick 2009; Gupta *et al.* 2016). Mikroorganismen, die mehrschichtige Biofilme ausbilden, besitzen hingegen die Fähigkeit sowohl an Fremdmaterial zu haften als auch Zell-Zell-Interaktionen zu vermitteln (Gupta *et al.* 2016).

Voraussetzung für die Bildung von Biofilmen sind spezifische Oberflächen-kolonisierende Faktoren von Mikroorganismen. Diese können biochemisch in extrazelluläre Polysaccharide, extrazelluläre DNA und Oberflächenproteine unterteilt werden (siehe Abbildung 8). Zur letzten Gruppe gehören beispielsweise die in *E. coli* vorkommenden Autoporter-Adhäsine, Agglutinine, Flagellen oder Pili. Aufgrund der großen molekulargenetischen Diversität an Oberflächen-kolonisierenden Faktoren gleicht kein Biofilm dem anderen (Ageorges *et al.* 2020).

Die Ausbildung eines Biofilmes ist ein komplexer Vorgang und kann in verschiedene Stadien eingeteilt werden (siehe Abbildung 7) (Gupta *et al.* 2016): reversible Anlagerung, irreversible Anlagerung, Wachstum, Reifung und Streuung. Voraussetzung für die Anlagerung der Bakterien ist das Einführen von Fremdmaterial in den menschlichen Organismus. Die Oberfläche des Fremdkörpers wird innerhalb von Millisekunden von wirtseigenen Proteinen, Zuckern und Blutprodukten bedeckt, die den Bakterien als Nährstoffe dienen (Percival 2017).

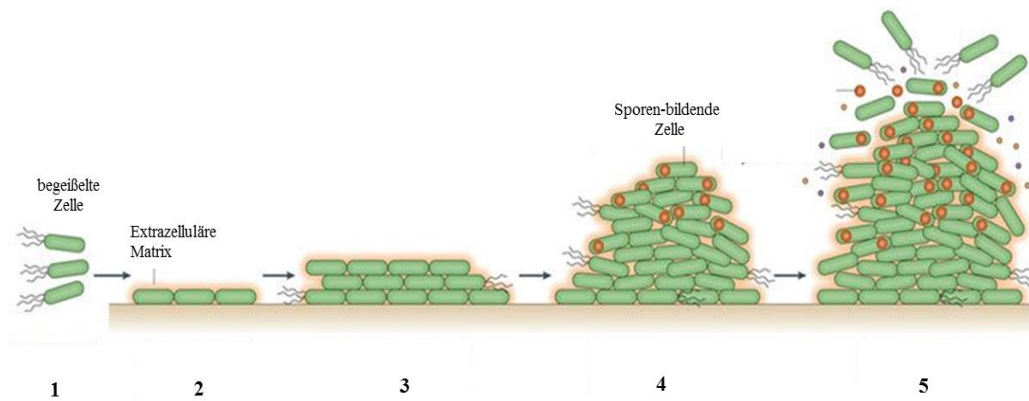


Abbildung 7: Biofilmbildung und Ausbreitung am Beispiel von *B. subtilis* nach Vlamakis *et al.* 2013.

1) Erstbesiedelung einer Oberfläche durch eine begeißelte Bakterienzelle. 2) Differenzierung von einer begeißelten Zelle zu einer unbeweglichen, die extrazelluläre Matrix synthetisierenden Zelle (EPS = orange), Adhäsion und Anordnung der Zellen in Kettenform. 3) Exponentielles Wachstum des Biofilmes 4) Reifung des Biofilmes: Sporulation, Nährstoffmangel im Zentrum. 5) Ausbrechen einzelner Bakterienzellen aus dem Biofilm durch Sporen- und Geißelbildung, Auswanderung und Verbreitung im Gewebe.

Die initiale, reversible Anlagerung erfolgt durch physikalische Kräfte und bakterielle Organellen wie Pili, Fimbrien oder Flagellen. Anschließend vermitteln spezifische Virulenzfaktoren, wie Adhäsine, die Immobilisierung der Mikroorganismen und die irreversible Anheftung an die Oberfläche (Wang *et al.* 2015; Gupta *et al.* 2016). Diese beiden Vorgänge erfolgen innerhalb weniger Minuten (Percival 2017). Im nächsten Schritt reifen die Bakterien zu Mikrokolonien. Sie kommunizieren über Autoinduktionssignale und können durch Veränderung ihrer Genexpression Biofilm-spezifische Proteine, wie die EPS, synthetisieren (Gupta *et al.* 2016; Percival 2017). Diese umschließt die Bakterien und bettet sie so in ein stabiles Netzwerk ein (Fritsche 2016). Die EPS stellt mit 80 % den größten Volumenanteil innerhalb des Biofilmes dar (Percival 2017). In bakteriellen Biofilmen wird sie unterteilt in die Bakterienzell-assoziierte EPS und die interstitielle EPS. Eine schematische Darstellung der molekularen Strukturen der EPS am Beispiel von *E. coli* ist in Abbildung 8 dargestellt.

Bakterien-assoziierte Faktoren können direkt befestigt, verankert oder mit der bakteriellen Oberfläche verbunden sein. *E. coli* bildet als zelluläre EPS zum einen Pili und Flagellen, zum anderen aber auch kapselbildende Polysaccharide wie Lipopolysaccharide (LPS), Glukosamine oder Colansäure aus. Colansäure kann von der Bakterienoberfläche freigesetzt werden und zusammen mit Zellulose die interstitielle EPS bilden. Diese wird weiterhin stabilisiert durch extrazelluläre DNA und Exoproteine (Ageorges *et al.* 2020). EPS, als wasserbindende Schicht, dient als Kleber zur Stabilisierung des Biofilmes und zur Kommunikation der Bakterienzellen untereinander sowie der Nährstoffversorgung. Sie hilft darüber hinaus den Bakterien als Schutz vor Antibiotika und zur Immunabwehr des Wirtes (Faria *et al.* 2014). Bei der Reifung verliert eine Mehrzahl der beteiligten Erreger bewegungsvermittelnde Anhängsel, wodurch eine verbesserte Vernetzung und Kommunikation der Bakterien untereinander resultiert (Donlan und Costerton

2002; Vlamakis *et al.* 2013). Innerhalb des stabilen Netzwerkes können die Mikroorganismen anschließend reifen, wachsen und proliferieren. Teile des Biofilmes können sich ablösen und die Bakterien im Körper über Flüssigkeiten und Gewebe verbreiten. Aus diesem Grund entwickeln sich nicht nur lokale, sondern auch systemische Infektionen (Wang *et al.* 2015; Gupta *et al.* 2016). Biofilme verursachen auf diesem Weg bis zu 75 % aller nosokomialen bakteriellen Infektionen, wovon Fremdkörper-assoziierte Infektionen eine große klinische und ökonomische Relevanz besitzen (Ding *et al.* 2012; Francolini *et al.* 2017).

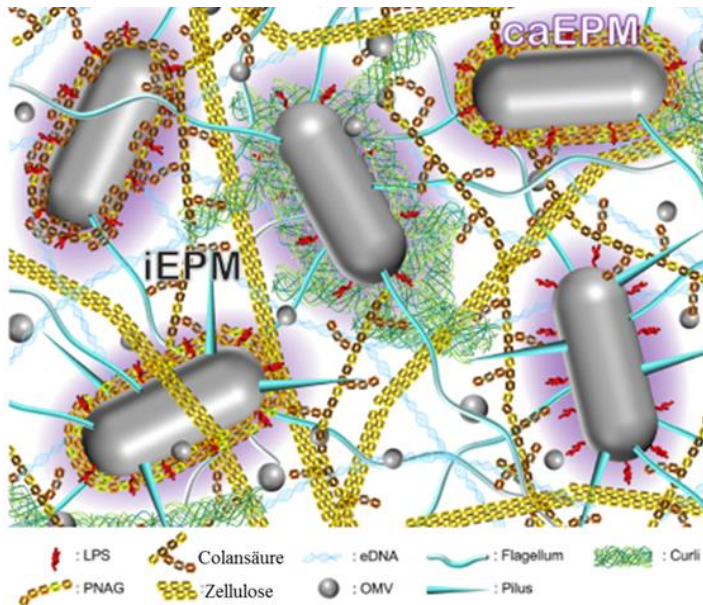


Abbildung 8: Schematische Darstellung der EPS eines Biofilmes von *E. coli* nach Ageorges *et al.* 2020.

Lila schraffiert ist der Bereich der Bakterien assoziierten EPS (caEPM), weiß hinterlegt die der interstitiellen EPS (iEPM). Die Bakterien assoziierte EPS besteht aus direkt mit der Bakterienoberfläche verbundenen Proteinen, wie Flagellen, Pili oder Curli und extrazellulären Polysacchariden wie Lipopolysaccharide (LPS), Poly- β -1,6-N-acetyl-D-Glucosamin (PNAG) und Colansäure, die die Kapsel von *E. coli* bilden. Colansäure bildet außerdem zusammen mit Zellulose, extrazellulärer DNA (eDNA) und Außenmembranvesikel (OMV) die interstitielle EPS.

Die klinische Relevanz Biofilm-assoziiierter Infektionen geht mit mikrobiologischen Besonderheiten bei der Ausbildung des Biofilmes einher, die die Bakterien innerhalb einer Gemeinschaft von planktonischen Einzelerregern unterscheidet (Francolini *et al.* 2017). Je nach Lage innerhalb des Netzwerkes können die Bakterien spezifische metabolische Zustände einnehmen und ihren Phänotypen verändern (siehe Abbildung 9).

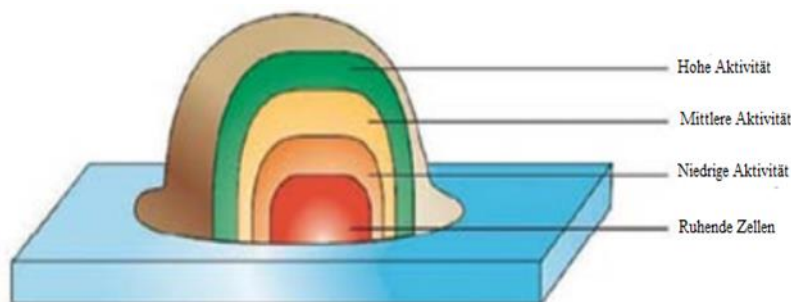


Abbildung 9: Verteilung der metabolischen Aktivität einzelner Bakterien innerhalb der verschiedenen Schichten im Biofilm (Österreichische Gesellschaft für Infektionskrankheiten 2011).

Mikroorganismen im Inneren des Biofilmes können in einen metabolisch ruhenden Zustand übergehen. Diese Bakterien sind gekennzeichnet durch eine geringe Wachstumsrate und minimale Stoffwechselaktivität. Sie können über einen langen Zeitraum persistieren. Solche Bakterien besitzen die Fähigkeit, nach Absiedlung oder Veränderung der Bedingungen, erneut in einen aktiveren Zustand überzugehen und die Verbreitung des Biofilmes zu fördern (Donlan und Costerton 2002).

Die bakterielle Kommunikation untereinander erfolgt durch spezielle Mechanismen: Innerhalb des Biofilmes besitzen Bakterien die Fähigkeit die Zelldichte ihrer Population wahrzunehmen und Stoffwechselaktivitäten, Wachstum und Vermehrung den Bedingungen anzupassen. Dieses Phänomen wird als *Quorum Sensing* bezeichnet (Kim *et al.* 2015; Fritsche 2016). Die Regulation der Kommunikation erfolgt durch Sekretion und Ausschüttung von Signalmolekülen und Botenstoffen (Francolini *et al.* 2017). Da Nährstoffe über Diffusion zugeführt werden müssen, werden Bakterien an der äußeren Schicht eines Biofilmes deutlich besser versorgt als tiefer liegende Erreger (Petroff *et al.* 2011).

Für Mikroorganismen stellt die Fähigkeit der Biofilmbildung eine Überlebensstrategie dar, um sich vor dem wirtseigenen Immunsystem, vorherrschenden Umweltbedingungen, Antibiotikaangriff und Desinfektionen zu schützen (Coughlan *et al.* 2008; Ding *et al.* 2012). Die hohe Toleranz der Bakterien im Biofilm ist unter anderem auf die eingeschränkte Penetration der Antibiotika durch die EPS und außenliegenden Bakterien-schichten, langsame Generationsraten der Bakterien, unterschiedliche metabolische Zustände, die Expression von Biofilm-spezifischen Resistenzgenen und auf die Anwesenheit von Persistenzzellen zurückzuführen (Ciofu *et al.* 2017). Die Geschwindigkeit der Biofilmbildung sowie dessen Struktur und Festigkeit ist einerseits von den Eigenschaften der besiedelten Oberfläche, dem die Oberfläche umgebendem Medium, aber auch von den Eigenschaften der Organismen selbst abhängig (Martenssen *et al.* 2001). Die gezielte Vorbeugung der Ansiedlung von Bakterien mit nachfolgender Biofilmbildung stellt ein großes Forschungsgebiet in der Medizin dar (Wilkins *et al.* 2014). Häufig erfolgt die Diagnostik erst nach der Verbreitung der Biofilm-assoziierten, umweltsensitiven und häufig multiresistenten Erreger im Körper. Verfügbare Antibiotika stellen bisher die einzige Therapieoption dar. Da sie fast ausschließlich nur auf metabolisch aktive Bakterien wirken und sich in den letzten Jahren viele Resistenzen ausgebildet haben, führt die Behandlung oft nicht zur vollständigen Eradikation der Erreger (Österreichische Gesellschaft für Infektionskrankheiten 2011; Kayser 2014). Um die angesprochene Problematik lösen zu können sind Therapieansätze notwendig, die in die initiale Adhäsion, die Synthese der EPS, die Kommunikationswege und die Stoffwechselfvorgänge der Bakterien wirkungsvoll eingreifen (Wilkins *et al.* 2014; Gupta *et al.* 2016).

2 Zielstellung

Ziel dieser Arbeit ist es, die Eignung von PDMS als antimikrobielles Beschichtungssubstrat für medizinisch-technische Materialien zu beurteilen.

Trotz jahrzehntelanger Forschung an Therapieoptionen für nosokomiale Infektionen konnten die Infektionszahlen bisher nicht ausreichend gesenkt werden. Innovative Beschichtungssubstrate sollen zukünftig als vorbeugende Maßnahme im klinischen Alltag eingesetzt werden, um Infektionen, Komplikationen und bakterielle Resistenzentwicklungen zu verhindern.

In Voruntersuchungen konnte PDMS vielversprechende Ergebnisse liefern. Es stellten sich infolgedessen die nachfolgenden Fragen: Wie verhalten sich bakterielle Erreger nach Kontakt mit einer PDMS-beschichteten Stahl-, Kunststoff- oder Glasoberfläche. Werden diese im Wachstumsverhalten beeinträchtigt oder vermehren sich die Bakterien ungehindert? Welche Rolle spielen dabei bakterienspezifische Eigenschaften? Zur Beantwortung dieser Fragen werden die zu untersuchenden Bakterien mit verschiedenen Konzentrationen an PDMS versetzt und über einen Zeitraum von mindestens 300 Minuten beobachtet. Hierbei soll eine geeignete Effektkonzentration ermittelt werden.

In Hinblick auf die Anwendung als Beschichtungssubstrat für in der Klinik verwendete Oberflächen muss anschließend geklärt werden, ob PDMS das bakterielle Überleben auf einer abiotischen Oberfläche beeinflussen kann. Welche Oberflächeneigenschaften können eine potenzielle antibakterielle Wirkung verstärken oder abschwächen und wie lange kann diese anhalten? Gibt es Unterschiede zwischen dem Wachstum von *S. epidermidis* auf den unterschiedlichen Materialien und warum? Die Bearbeitung, Ergebnispräsentation und Diskussion dieser Fragestellungen soll Gegenstand der vorliegenden Arbeit sein.

Da im Zusammenhang mit Fremdkörper-assoziierten Infektionen häufig Bakterien in Form von Biofilmen auftreten, soll zusätzlich überprüft werden ob PDMS die Biofilmbildung auf einer Polypropylenoberfläche vorbeugen kann.

3 Material und Methoden

3.1 Materialien

3.1.1 Verwendete Mikroorganismen

Tabelle 1: Verwendete Mikroorganismen

Mikroorganismen	Beschreibung
<i>E. coli</i> EcM1	aus Maus isoliert; ohne Pathogenitätsfaktoren von EHEC, EIEC, EPEC, EAEC und ETEC (nach RIDA®GENE; r-biopharm)
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>S. epidermidis</i>	ATCC 12228
<i>B. subtilis</i> subsp. <i>spizzenii</i>	ATCC 6630
EAEC-Stämme 9-11-A; 5-4-A; S60-C7-2; S52-A4; P8-F5; 67/2; P32-E-7; 3-6-A; P8-E3; 19-6-E; 7-6-A; S55-B1; P8-G8; S55-C6; pet-11-H; 61-7-F; P8-A12; 19-4-F; P8-B1; S60-A7; 1-2-A; 61-9-F; S60-B11; P2-B8; P8-H3	Stammsammlung des Instituts für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum Halle, Deutschland; Umweltproben Ägypten 2013 und 2014 ¹
O42	Referenzstamm EAEC; Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum Halle, Deutschland

¹ *aatA/aggR* positiv und nach RIDA®GENE EAEC (r-biopharm) klassifiziert

3.1.2 Chemikalien und Nährmedien

Tabelle 2: Verwendete Chemikalien und Nährmedien

Chemikalie / Nährmedium	Hersteller
-------------------------	------------

<i>Aqua destillata</i> (<i>A. dest.</i>), steril	Institut für Medizinische Mikrobiologie, Halle, Deutschland
Agar Nr. 1, neutral (bakteriologischer Agar)	Oxoid Deutschland GmbH, Wesel, Deutschland
Columbia Agarplatten mit Schafsblut Plus (Col + SB)	Oxoid Deutschland GmbH, Wesel, Deutschland
D-MEM <i>high glucose</i>	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Ethanol 96% (DAB reinst)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Glukose-Nährbouillon	SIFIN Institut für Immunpräparate und Nährmedien GmbH, Berlin, Deutschland
Glukose-Nährbouillon-Agar	Institut für Medizinische Mikrobiologie, Halle, Deutschland
Kristallviolett	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Natriumhydroxidlösung (NaOH), 2M	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Permanon Platinum (PDMS)	Permanon GmbH, Leutkirch, Deutschland
Physiologische Kochsalzlösung (0,9 %)	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland

3.1.3 Verbrauchsmaterialien

Tabelle 3: Verwendete Verbrauchsmaterialien

Verbrauchsmaterial	Hersteller
Mikrotiter-Platten, 96-Well, F-Boden, steril	Greiner-Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland
Serologische Pipetten, Cellstar, 10 ml und 50 ml	Greiner-Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland
Cryobank	Mast Diagnostica Laboratoriumspräparate GmbH, Reinfeld, Deutschland
Glasröhrchen, 5 ml	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland
Impfösen, -einmal; steril	Greiner-Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland
Petrischalen 96/16	Greiner-Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland
Pipettenspitzen, 200 - 1000 µl	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland

Safe-Lock Tubes, 1,5 ml	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Stahl-, Polykarbonat- und Glasplatten	Creamedix GmbH, Weingarten, Deutschland
Stechgaskartusche C206	Camping Gaz (Deutschland) GmbH, Hungen-Inheiden, Deutschland
Transferpipetten 3ml	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland
T-Spatel, PE, steril	VWR International GmbH, Dresden, Deutschland
UV-Küvette, halbmikro	BRAND GmbH, Wertheim, Deutschland

3.1.4 Geräte

Tabelle 4: Verwendete Geräte

Gerät	Hersteller
Brutschrank Typ B115	WTB Binder GmbH, Tuttlingen, Deutschland
Eppendorf <i>Easypet</i> -Pipettierhilfe	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Glasflaschen, 100 ml, Duran	VWR International GmbH, Dresden, Deutschland
Kühlschrank medline, 8 °C	Liebherr-International Deutschland GmbH, Biberach an der Riß, Deutschland
<i>Microplate Reader</i> (540 nm)	Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland
Pipette, 100 - 1000 µl	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Pipettierhelfer <i>accu-jet® pro</i>	Brand GmbH & Co. KG, Wertheim, Deutschland
Schüttelinkubator Typ 3031	GFL Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel, Deutschland
Spektralphotometer, DU 730 LifeScience UV/Vis	Beckman Coulter GmbH, Krefeld, Deutschland
Transfer-Multipipette 20-200 µl	BRAND GmbH, Wertheim, Deutschland
Ultraschallgerät BRANSON 1210	Branson Ultrasonics Corp., Danbury, CT, USA
<i>Vitek-2XL</i>	BioMérieux Inc., Durham, NC, Deutschland
Vortexer	Phoenix Instrument GmbH, Garbsen, Deutschland

Werkbank, Herasafe *Lamin-Air-Box*

Kendro Laboratory Products GmbH,
Langenselbold, Deutschland

3.2 Methoden

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine *in-vitro*, labormedizinische Untersuchung mit bakteriellen Erregern. Es wurden ausschließlich monokulturelle Erreger untersucht.

3.2.1 Herstellung der Glukose-Nährbouillon-Agar-Platten

Die für die Versuche notwendigen Glukose-Nährbouillon-Agar-Platten wurden durch die Zugabe von 20 g bakteriologischem Agar und 28,5 g Glukose-Ansatzpulver in einem Liter *A. dest.* hergestellt. Nach Autoklavieren der hergestellten Lösung für 20 Minuten bei 121 °C wurde die Masse in die dafür vorgesehenen Petrischalen gegossen.

3.2.2 Herstellung der physiologischen Kochsalzlösung

Für die Herstellung physiologischer 0,9 % iger Kochsalzlösung wurde 9 g Natriumchlorid in einem Liter *A. dest.* gelöst und anschließend für 20 Minuten bei 121 °C autoklaviert.

3.2.3 Herstellung des 70 %igem Ethanol

Zum Auswaschen der Kristallviolettlösung aus den Zellen wurde 70 % iges Ethanol verwendet. Zu dessen Herstellung wurde 36,46 ml 96 % iges Ethanol mit 13,54 ml *A. dest.* verdünnt.

3.2.4 Langzeitlagerung, Rekultivierung und Überimpfen der Kulturen

Zur langfristigen Lagerung wurden die Reinkulturen in einer Cryobank bei –70 °C aufbewahrt. Eine Cryobank besteht aus Cryoröhrchen, in denen Cryokügelchen in einer hypertonen Cryo-Konservierungslösung aus Saccharose, Glycerin, phosphatgepufferter Kochsalzlösung und Pepton liegen. Frische Kolonien einer Reinkultur auf Columbia Schafsblut - Agar Plus können laut Anleitung in ein Cryoröhrchen eingepft werden. Dabei wurde eine McFarland Dichte von mindestens drei bis vier U/E verwendet. Für die Versuche wurden die Bakterien regelmäßig frisch aus ihren Cryobanks kultiviert. Die Rekultivierung erfolgte laut Anleitung durch sterile Entnahme eines Kügelchens aus der Cryobank und dem Ausplattieren auf Col+SB Agar-Platten. Nach Bebrütung der Bakterien bei 36 °C über 24 Stunden wurden die frischen Kolonien für maximal

eine Woche bei 7 °C im Kühlschrank gelagert. Für jeden neuen Versuchsansatz wurden frische Kolonien der Col+SB Agar-Platten auf Glukose-Nährbouillon-Platten überimpft. Nach Übernachtsinkubation bei 36 °C standen die frischen Kulturen für die Versuche zur Verfügung. Die Lagerung der Erreger auf Glukose-Nährbouillon-Platten erfolgte für jeden Versuch über Nacht.

3.2.5 Untersuchungen zu bakteriellen Wachstumskurven nach der Zugabe von PDMS

In einem Vollmedium kann das Wachstum einer Bakterienkultur in vier Phasen, die lag (Anlauf) - Phase, die log (exponentielle) - Phase, die stationäre Phase und die Absterbephase unterteilt werden (Madigan *et al.* 2003). Abbildung 10 zeigt die schematische Wachstumskurve und damit einhergehende Veränderungen der optischen Dichte (OD). Jedes Bakterium weist, auch abhängig vom jeweiligen Kulturmedium, individuelle Unterschiede in der Ausprägung der einzelnen Phasen auf. Die Zeitspanne für eine Verdopplung der Keimanzahl wird als Generationszeit bezeichnet. Für einen bestimmten Bakterienstamm ist diese Größe unter gleichen Wachstumsbedingungen immer gleich lang (Fritsche 2016).

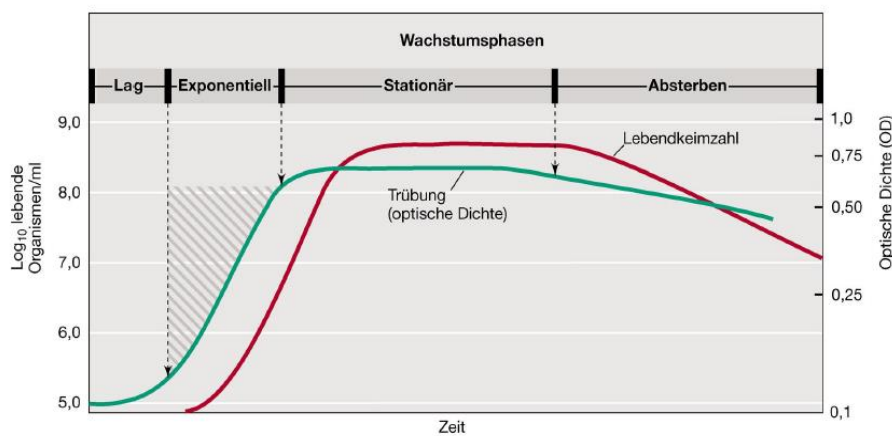


Abbildung 10: Typische Wachstumskurve einer bakteriellen Population.

In einem geschlossenen System ergibt sich der typische Wachstumskreislauf bestehend aus Lag-Phase, der exponentiellen Phase, der stationären Phase und der Absterbephase. Durch Trübungsmessung mittels Photometer wird das Zellzahl-äquivalent im zeitlichen Verlauf bestimmt (nach Madigan *et al.*, 2003).

Ab einer bestimmten Zelldichte erscheinen mikrobielle Lösungen trübe, weil einfallendes Licht durch die unterschiedlich großen Zellen in der Flüssigkeit gestreut wird. Ab einer Zelldichte von etwa 10^7 Zellen/ml ist eine Veränderung der Trübung mit dem menschlichen Auge sichtbar. Mit Zunahme der Lichtstreuung vermindert sich die Intensität des durch die Flüssigkeit eintretenden Lichtes. Hierbei gilt das Lambert-Beer'sche Gesetz der Lichtabsorption:

$$I_{ex} = I_{in} \cdot e^{-s_n \cdot c \cdot d}$$

I_{ex} = Intensität des austretenden Lichtes

I_{in} = Intensität des eintretenden Lichtes

$e = 2,71828$ (Basis der natürlichen Logarithmen)

s_n = natürlicher Streukoeffizient (Proportionalitätsfaktor)

c = Zelldichte

d = Schichtdicke der Küvette

Die Transmission τ bezeichnet in diesem Zusammenhang das Verhältnis der Intensität des austretenden Lichtes zur Intensität des eintretenden Lichtes:

$$\frac{I_{ex}}{I_{in}} = e^{-s_n \cdot c \cdot d} = \tau$$

Zur vereinfachten Auswertung photometrischer Messungen verwendet man allerdings die Extinktion E , bei der eine lineare Proportionalität zu Zelldichte und Schichtdicke angenommen wird.

$$E = \lg \frac{1}{\tau} = \lg \frac{I_{ex}}{I_{in}} = s \cdot c \cdot d$$

s = dekadische Streukoeffizient ($s = \frac{s_n}{2,303}$)

Mit standardmäßigen Photometern ist eine Messung der Extinktion von bis zu 1,0 sinnvoll. Ein Photometer misst das nicht gestreute Licht, das durch die Küvette und Zellsuspension hindurchdringt in der Einheit der OD. Unter bestimmten Voraussetzungen, wie einem bestimmten Bakterienzellvolumen, der fehlenden Aggregation von Zellen und niedrige Zelldichte, besteht eine Proportionalität der Extinktion zur Zelltrockenmasse, aus welcher auf die Zellzahl geschlossen werden kann (Bast 2014). Anwendung findet diese Messmethode bevorzugt zur Kontrolle des Wachstumsverlaufes einer Bakteriensuspension. Die Lichtstreuung ist abhängig von der Zelldichte, der Form, der Größe und der Anordnung der Zellen und der Brechungsindizes von Zellen und Suspensionsmedium. Diese Methode bietet den Vorteil schnell, einfach und ohne Schädigung der zu untersuchenden Zellen durchführbar zu sein (Bast 2014). Die Bestimmung der Zelldichte erfolgte bei einer Wellenlänge von 590 nm. Um präzise und vergleichbare Ergebnisse zu erlangen, war darauf zu achten, die Probeentnahme immer zum selben Zeitpunkt (alle 30 Minuten) mit sich unmittelbar anschließender Messung durchzuführen. Eine Verklumpung und Bildung von Zellverbänden kann die scheinbare Extinktion erhöhen und so die Messwerte verfälschen. Um eine gleichmäßige Verteilung der Bakterien zu gewährleisten, wurden die Untersuchungsgefäße während des gesamten Untersuchungszeitraumes im Inkubationsschüttler mit 100 rpm bei 36 °C inkubiert (Kühnapfel 2013).

Die Messung des Wachstums unter PMDS-Einfluss erfolgte mit *E. coli* EcM1, *P. aeruginosa* und *S. epidermidis*. Die zu untersuchenden Bakterien wurden über Nacht in Glukose-Nährbouillon angezüchtet. Dafür wurde eine Kolonie *E. coli* EcM1, zwei Kolonien *P. aeruginosa* beziehungsweise drei Kolonien *S. epidermidis* von Glukose-Nährbouillon-Platten in jeweils 50 ml Glukose-Nährbouillon angeimpft und für maximal 18 Stunden bei 36 °C und 100 rpm bis zu einer OD₅₉₀ von circa 1,5 inkubiert. Die Mengen der verwendeten Medien wurden in Vorversuchen ermittelt. Des Weiteren wurden die Ansätze für die Endkonzentrationen der PDMS-Lösung vorbereitet. Das Verhalten der Bakterien wurde in 0,0 %, 0,2 %, 2,0 %, 5,0 % und 7,0 % PDMS-Anteil untersucht. Dafür wurden Glukose-Bouillon, *A. dest.* und PDMS in den verschiedenen Verhältnissen zusammengefügt (siehe Anhang I).

Um den Einfluss von PDMS auf die Extinktion des Mediums und den Ansatzgefäßwänden beurteilen zu können, wurde zusätzlich die Veränderung der Extinktion einer PDMS-*A. dest.*-Suspension sowie der Ansatzlösung über die Zeit ohne Bakterienzugabe untersucht. Der Versuchsaufbau erfolgte durch das Hinzufügen der jeweiligen PDMS-Mengen zu 80 ml *A. dest.* und zur Ansatzlösung (siehe Anhang I) und Messung der OD₅₉₀ im Verlauf über einen Zeitraum von 300 Minuten. Aufgrund der Ergebnisse unveröffentlichter Vorversuche wurde die Ansatzlösung über Nacht bei 36 °C und 100 rpm in den Versuchsgefäßen vorinkubiert. Als Referenzwert für die OD-Messung wurde für alle Versuche Glukose-Nährbouillon verwendet. Nach erfolgter Übernachtinkubation wurden 100 µl der Bakterien suspensionen in die vorbereiteten Ansätze hinzugegeben. Gemessen wurden halbstündlich jeweils 3 Messungen im Dreifachansatz (n = 9) über einen Zeitraum von 330 Minuten. Zwischen den Messungen wurden die Versuchsgefäße bei 36 °C und 100 rpm inkubiert. Um vergleichbare Kurvenverläufe zu erhalten, musste die geringfügig unterschiedliche Anfangs-OD₅₉₀ des jeweiligen PDMS-Ansatzes abgezogen werden. Um mögliche Kontaminationen der verwendeten Flüssigkeiten auszuschließen, wurden von allen unbeimpften Lösungen Sterilitätskontrollen angelegt und auf Keimwachstum geprüft.

Die Messung des Bakterienwachstums mittels der OD ist ein gängiges Mittel, um das quantitative Wachstum von Bakterien zu beurteilen. Diese unterliegt einigen Limitationen. Beispielsweise besteht keine Möglichkeit zwischen lebenden und toten Bakterien zu unterscheiden (Bast 2014). Des Weiteren kann es trotz Schütteln der Suspensionen zu kleinen Verklumpungen und Inhomogenität kommen (Chatterjee *et al.* 2015), die die Messwerte ungenau werden lassen. Zur Verbesserung der Güte, wurden die Versuche standardisiert und unter Körpertemperatur bei 36 °C durchgeführt. Das ist besonders wichtig, da bakterielle Eigenschaften und chemische Reaktionen mit der Temperatur stark variieren. So haben die meisten im menschlichen Körper vorkommenden Erreger ein Temperaturoptimum zwischen 36 °C und 37 °C.

3.2.6 Prüfung der bakteriellen Wachstumshemmung von PDMS auf beschichtetem Stahl, Glas und Polykarbonat

Die Wachstumshemmung durch PDMS auf den Materialien Stahl, Polykarbonat und Glas wurde mit Hilfe von *S. epidermidis* ermittelt. Der Versuchsaufbau war für *E. coli* EcM1 und *P. aeruginosa* nicht geeignet, da diese bevorzugt die Schleimhäute des Darms, der Lunge oder der Harnblase besiedeln. Unter trockenen Bedingungen außerhalb des Körpers ohne Nährstoffangebot können sie für den verwendeten Versuchsaufbau in nicht ausreichenden Mengen überleben. *S. epidermidis* dagegen ist gut an die Trockenheit auf der Haut angepasst. Ebenso konnte der Endosporenbildner *B. subtilis* subsp. *spizizenii* den Begebenheiten standhalten. Aufgrund der sehr geringen Vermehrungsrate, ist der verwendete Versuchsaufbau für die Untersuchung von *B. subtilis* subsp. *spizizenii* jedoch ebenfalls nicht geeignet.

Zuerst wurde eine Bakteriensuspension mit einer Keimdichte von 0,5 McFarland-Einheiten in physiologischer Kochsalzlösung erstellt. McFarland dient als Standard zur Trübungsmessung. Eine McFarland-Dichte von 0,5 entspricht einer ungefähren Zelldichte von $1,5 \times 10^8$ Bakterien/ml. Zur exakten Ermittlung der Ausgangs-Lebendkeimzahl pro Ansatz wurden bei jedem Versuchsdurchgang dreifach und unabhängig voneinander jeweils die fünfte und sechste Verdünnungsstufe der Ausgangsbakterienlösung ausplattiert und die KBE nach Übernachtbebrütung ausgezählt.

Von den Stahl-, Glas- und Polykarbonat-Platten, mit einem Durchmesser von je 2,6 cm und einer Dicke von je 0,2 cm, wurden jeweils elf mit 2,0 vol-% PDMS-Beschichtung und als Kontrollansatz elf unbehandelte Testmaterialscheiben, nach Sterilisation mittels Autoklavierung mit 1 bar Überdruckbehandlung bei 121 °C, in Petrischalen aus Polystyrol gelegt. Auf jede Versuchsplatte wurden jeweils 10 µl der voreingestellten Bakteriensuspension pipettiert. Nach 2, 4, 24, 48 und 72 Stunden Inkubation bei 36 °C wurden die Testmaterialscheiben in Glasgefäße mit 10 ml physiologischer Kochsalzlösung überführt. Anschließend erfolgten eine ein-minütige Behandlung im Ultraschallbad bei einer Frequenz von 50 kHz und das Ausplattieren von je 100 µl der Suspension auf Glukose-Nährbouillon-Agar-Platten. Dafür wurde eine serielle 1:10 Verdünnung vorgenommen. Nach Inkubation bei 36 °C über Nacht wurden die gewachsenen Koloniebildende Einheiten (KBE) ausgezählt (siehe Anhang II).

Nach den ersten 24 Stunden wurde das Auftragen von 10 µl frisch vorgefertigter Bakteriensuspension auf gleicher Stelle auf jeweils fünf Testmaterialscheiben wiederholt. Gleichermaßen wie im ersten Versuch wurden die unbeimpften Testmaterialscheiben auf Sterilität überprüft (siehe Anhang III).

3.2.7 Messung der Biofilmbildung auf mit PDMS-beschichteten und unbeschichteten 96-Well-Mikrotiterplatten

Der Versuchsaufbau folgte den Versuchen von Coffey *et al.* (Coffey und Anderson 2014). Für die Anzucht der zu untersuchenden Bakterien wurden das Medium mit je 1 Kolonie der verschiedenen *E. coli*-Stämme bzw. von *B. subtilis* subsp. *spizanii*, 2 Kolonien von *P. aeruginosa* und 3 Kolonien von *S. epidermidis* von Glukose-Nährbouillon-Agar-Platten in separate Glasgefäße mit je 50 ml Glukose-Nährbouillon beimpft und über Nacht bei 36 °C und 100 rpm inkubiert. Am darauffolgenden Tag wurden die Mikrotiterplatten vorbereitet. In je eine mit PDMS-beschichtete und eine unbeschichtete 96-Multiwell-Platte wurden pro Well 200 µl DMEM *high-glucose* und 5 µl Bakteriensuspension pipettiert. Für jeden Stamm erfolgte eine Achtfachbestimmung. Die Platten wurden daraufhin für 18 Stunden bei 36 °C inkubiert. Anschließend wurde das Medium vollständig entfernt und der entstandene Biofilm dreimal mit *A. dest.* gewaschen. Zum Anfärben des adhärenen Biofilmes wurden pro Well 50 µl 0,5 %iges Kristallviolett hinzugegeben und 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Ähnlich wie beim Vorgang der Gramfärbung dringt das Kristallviolett durch die Zellwand und reagiert mit den sauren Gruppen des Zytoplasmas, wie zum Beispiel Carboxylgruppen von Proteinen oder Phosphatgruppen von Nucleinsäuren (Bast 2014). Durch erneutes Waschen mit *A. dest.* wurden nicht-adhärenente Bakterien und überschüssiges Kristallviolett abgespült. Anschließend wurden jeweils 200 µl 70 %iges Ethanol für 30 Minuten hinzugegeben. Dieses löst das in den Zellen und in der EPS gebundene Färbemittel heraus. Die Intensität des gelösten Farbstoffes gilt als Äquivalent für die Biofilmmasse.

Ein Aliquot von 150 µl der Kristallviolett-Ethanol-Lösung wurde daraufhin in eine neue Platte überführt und die OD₅₄₀ im Photometer gemessen. Die ReferenzwertEinstellung erfolgte gegen Ethanol. Die photometrische Messung korreliert nicht direkt mit der Menge an lebenden Zellen im Biofilm, da auch extrazelluläre DNA, Proteine und Polysaccharide angefärbt werden. Sie kann mit der groben Stärke der gebildeten Biofilmmenge vereinbart werden (Coffey und Anderson 2014). Die Untersuchung des Biofilmes mittels Mikrotiter-Platte ist besonders geeignet um die initiale Phase der Biofilmbildung, besonders die Oberflächenanheftung zu beurteilen. Um reife Biofilme zu untersuchen, müsste die Arbeit unter Zuhilfenahme von Flow Systemen erweitert werden (Coffey und Anderson 2014). Zu beachten ist, dass Gram-positive Bakterien mit einer mehrfach aufgebauten Peptidoglykanschicht in der Zellwand intensiver angefärbt werden (Suerbaum *et al.* 2016). Die Auswertung der Messwerte gelingt daher aufgrund der unterschiedlichen Bakterieneigenschaften nicht mittels absoluter Zahlen, sondern vergleichend innerhalb der Bakterienstämme.

3.2.8 Reinigung der Materialien

Die Reinigung der Untersuchungsgefäße und Testmaterialscheiben erfolgte durch Autoklavieren, dreimaliges Spülen mit *A. dest.*, Waschen in der Spülmaschine und erneutes Autoklavieren. Die mit PDMS in Kontakt gekommenen Flaschen und Testmaterialscheiben wurden anschließend mit 0,5 M Natronlauge (NaOH) gefüllt und für 5 Minuten mit Ultraschall behandelt. Nach erneutem dreimaligen Auswaschen und Autoklavieren standen diese wieder für die Versuche zur Verfügung.

3.2.9 Statistik

Für die statistische Auswertung wurden der Mittelwert und die Standardabweichung ermittelt. Der Nachweis einer Normalverteilung der erhobenen Daten erfolgte mittels Kolmogorow-Smirnow-Test. Dieser Test wurde angewendet, da er besonders für kleine Stichprobenumfänge und nicht kategoriale Variablen geeignet ist (Wollschläger 2017). Die Signifikanztestung der Mittelwertunterscheidung erfolgte nach Bestätigung einer Normalverteilung mit Hilfe des t-Testes mit Welch- und Bonferroni-Korrektur (Rasch *et al.* 2014). Zur Ergebnisauswertung und Darstellung wurde das Statistikprogramm OriginPro 2016 Version 93G (OriginLab Corporation, Northhampton, MA, USA) verwendet. Das Signifikanzniveau (p) wurde für alle durchgeführten Tests auf 0,05 festgelegt. Die Unterteilung der Signifikanzlevel wurde wie folgt definiert: * mit $p \leq 0,05$, ** mit $p \leq 0,01$ und *** mit $p \leq 0,001$.

4 Ergebnisse

4.1 Änderung der optischen Dichte nach PDMS-Zugabe

Zu Beginn der Untersuchungen musste zunächst der Einfluss von PDMS auf die Messung der optischen Dichte geklärt werden. Dazu wurde das Verhalten von PDMS in *A. dest* und in Glukose-Nährbouillon untersucht werden. Anschließend wurde das Verhalten der bakteriellen Erreger unter PDMS-Zugabe beobachtet.

4.1.1 PDMS in *A. destillata*

Nach Zugabe von PDMS zu *A. dest.* zeigte sich ein anfänglicher OD₅₉₀-Abfall bei allen Konzentrationen innerhalb der ersten 60 Minuten. Anschließend stellte sich ein Zustand mit konstanter OD₅₉₀ für die nachfolgenden untersuchten 240 Minuten ein (siehe Abbildung 11).

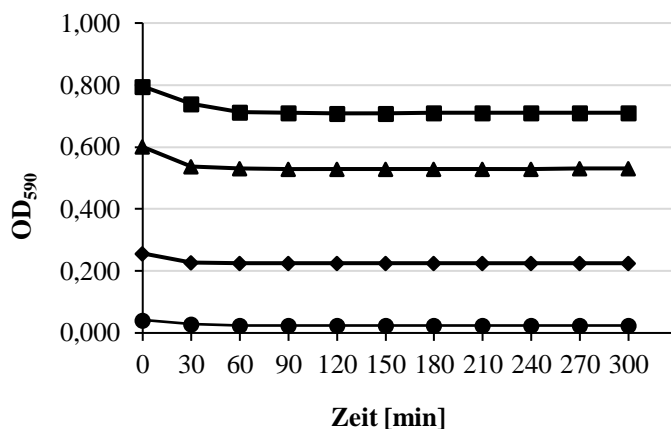


Abbildung 11: Verlauf der OD₅₉₀ unterschiedlicher PDMS-Konzentrationen in *A. dest* über einen Zeitraum von 300 Minuten. (● = 0,02 vol-%, ◆ = 2,0 vol-%, ▲ = 5,0 vol-%; ■ = 7,0 vol-%); n = 9

4.1.2 PDMS in Glukose-Nährbouillon

Die Untersuchung von PDMS in der Ansatzlösung wurde in den PDMS-Konzentrationen 2,0 vol-%, 5,0 vol-% und 7,0 vol-% durchgeführt. Der Kurvenverlauf (siehe Abbildung 12) zeigt ein initiales Ansteigen der OD₅₉₀. Dieses Phänomen ist bei 5,0 vol-% und 7,0 vol-% für ca. 30 Minuten lang sichtbar. Anschließend fällt die Kurve über den Untersuchungszeitraum kontinuierlich ab, um sich einen konstanten Wert anzunähern. Im Gegensatz dazu dauert das initiale Ansteigen der OD₅₉₀ für 2,0 vol-% PDMS ca. 60 Minuten. Über den weiteren Untersuchungszeitraum blieb die OD₅₉₀ für 2,0 vol-% PDMS anschließend konstant. Aus diesen Ergebnissen leitete sich für den Versuchsaufbau ab, dass die Ansatzlösungen zur Einstellung des

in Abbildung 12 dargestellten Gleichgewichtes über Nacht bei 36 °C und 100 rpm vorinkubiert werden müssen.

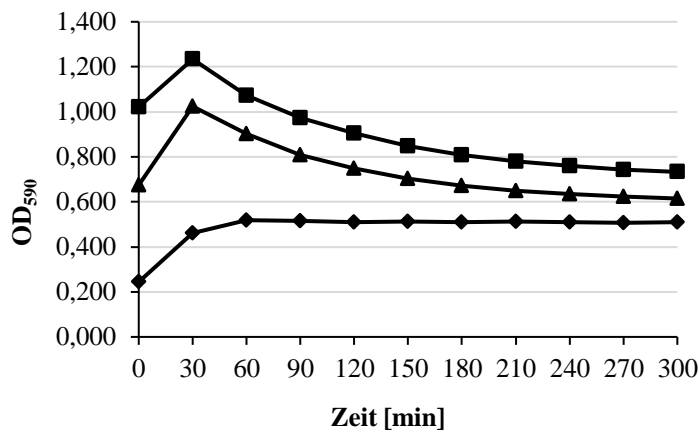


Abbildung 12: Verlauf der OD₅₉₀ unterschiedlicher PDMS-Konzentrationen in Glukose - Nährbouillon - *A. dest* - Lösung über einen Zeitraum von 300 Minuten. (◆ = 2,0 vol-%, ▲ = 5,0 vol-%; ■ = 7,0 vol-%); n = 9

4.2 Einfluss von PDMS auf die Wachstumskurven bakterieller Erreger

4.2.1 Einfluss von PDMS auf das Wachstum von *E. coli* EcM1

Die Wachstumskurven wurden, wie im Kapitel 3.2.5 beschrieben, bestimmt. Es konnte ein konzentrationsabhängiger, wachstumshemmender Effekt von PDMS auf *E. coli* EcM1 beobachtet werden (siehe Abbildung 13).

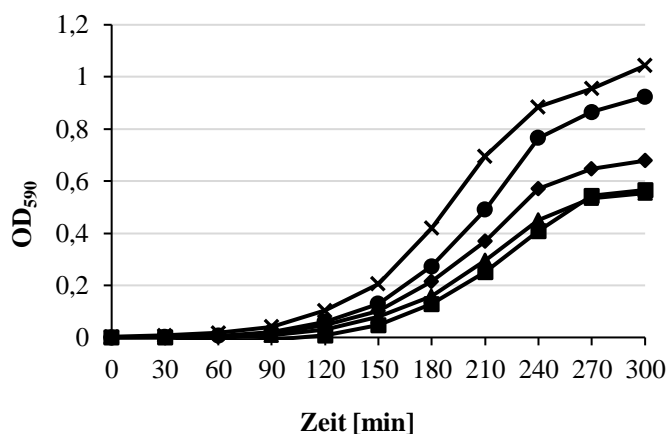


Abbildung 13: Wachstumskurven von *E. coli* unter dem Einfluss verschiedener PDMS-Konzentrationen über einen Zeitraum von 300 Minuten (x = 0,00 vol-%, ● = 0,02 vol-%, ◆ = 2,0 vol-%, ▲ = 5,0 vol-%; ■ = 7,0 vol-%); n = 9.

Der Zusatz von PDMS führte zu einer konzentrationsabhängigen Verringerung der optischen Dichte nach 300 Minuten. Am stärksten ausgeprägt war der Unterschied zwischen dem PDMS-freien Ansatz und dem Ansatz mit 7,0 vol-% PDMS ($p < 0,001$). Eine signifikante Verringerung der OD₅₉₀ konnte ab einer PDMS-Konzentration von 2,0 vol-% ($p < 0,001$) im Vergleich zum PDMS-freien Ansatz beobachtet werden. Nach 300 Minuten Inkubation stellte sich ein um fast 35 % geringeres Wachstum von *E. coli* bei dem 2,0 vol-% Ansatz im Vergleich zum Ansatz ohne PDMS dar. Eine Konzentrationssteigerung des PDMS von 5,0 vol-% auf 7,0 vol-% zeigte keine signifikant stärkere Hemmung des Wachstums ($p = 2,957$).

4.2.2 Einfluss von PDMS auf das Wachstum von *P. aeruginosa*

Das Wachstum von *P. aeruginosa* wird mit zunehmender Konzentration von PDMS im Untersuchungsansatz stärker gehemmt (siehe Abbildung 14). *P. aeruginosa* wächst unter den verwendeten Bedingungen im Untersuchungszeitraum von 330 Minuten ohne PDMS bis zu einer maximalen OD₅₉₀ von 0,292 (MW, n = 9). Von den drei untersuchten Bakterienstämmen hat dieses Bakterium die längste Generationszeit und somit die langsamste Wachstumsrate. Ab einer Konzentration von 2,0 vol-% PDMS zeigen die Ergebnisse einen initialen Abfall der OD₅₉₀. Mit zunehmender Konzentration des PDMS im Untersuchungsansatz wurde ein stärkeres Absinken der gemessenen OD₅₉₀ beobachtet. Am deutlichsten ausgeprägt ist dieser Effekt bei den Ansätzen mit 5,0 vol-% und 7,0 vol-% PDMS.

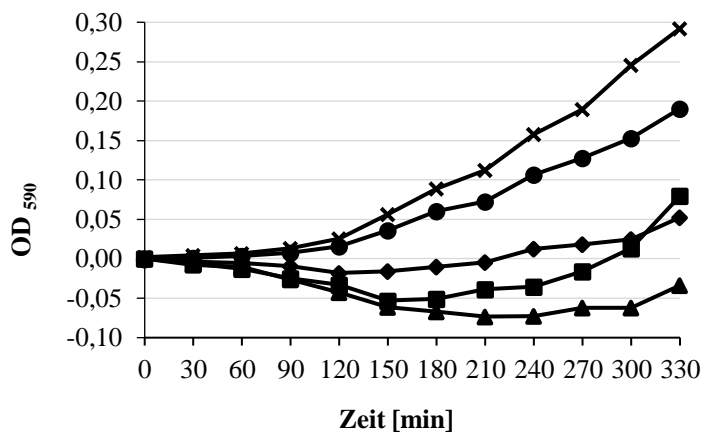


Abbildung 14: Wachstumskurven von *P. aeruginosa* unter dem Einfluss verschiedener PDMS-Konzentrationen über einen Zeitraum von 330 Minuten (x = 0,00 vol-%, ● = 0,02 vol-%, ◆ = 2,0 vol-%, ▲ = 5,0 vol-%; ■ = 7,0 vol-%); n = 9.

Die Zugabe von PDMS zum Ansatz zeigt nach 300 Minuten für alle Konzentrationen eine konzentrationsabhängige Hemmung des Bakterienwachstums. Bereits eine Konzentration von 0,20 vol-% PDMS im Ansatz führt zu einer nachweislichen Verringerung des Wachstums von *P. aeruginosa* ($p < 0,001$). Die Zugabe von 2,0 vol-% PDMS zum Ansatz führt zu einer

Verringerung der OD₅₉₀ nach 330 Minuten um über 80 % im Vergleich zum PDMS-freien Ansatz. In der Abbildung 14 ist ersichtlich, dass die Bakterien unter 7,0 vol-% PDMS besser wachsen als unter dem Einfluss von 5,0 vol-% PDMS. Zwischen 300 und 330 Minuten übersteigt das Wachstum des 7,0 vol-% Ansatzes zusätzlich den 2,0 vol-% Ansatz.

4.2.3 Einfluss von PDMS auf das Wachstum von *S. epidermidis*

Das Wachstum der Kultur von *S. epidermidis* wurde, genauso wie bei *E. coli* und *P. aeruginosa*, durch PDMS gehemmt (siehe Abbildung 15). Es verringerte sich konzentrationsabhängig. Je höher der Anteil von PDMS im Ansatz, desto geringer war die gemessene Extinktion zum Endzeitpunkt. *S. epidermidis* wuchs ohne PDMS innerhalb von 330 Minuten bis zu einer maximalen OD₅₉₀ von 0,595 (MW).

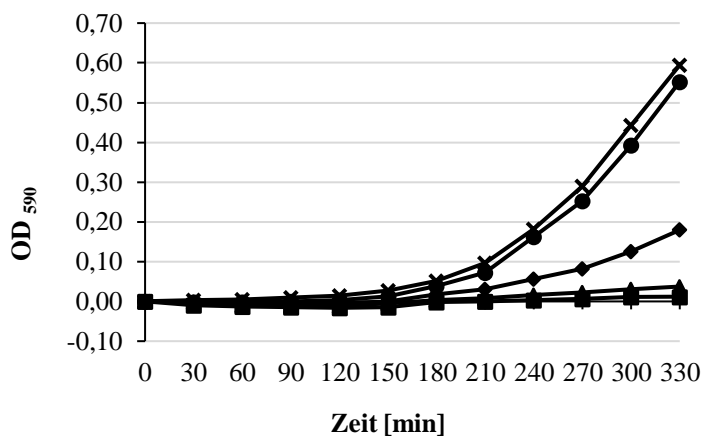


Abbildung 15: Wachstumskurven von *S. epidermidis* unter dem Einfluss verschiedener PDMS-Konzentrationen über einen Zeitraum von 330 Minuten (x = 0,00 vol-%, ● = 0,02 vol-%, ◆ = 2,0 vol-%, ▲ = 5,0 vol-%; ■ = 7,0 vol-%); n = 9.

Der Gehalt von 0,20 vol-% PDMS im Ansatz veränderte das Wachstum kaum. Der Zusatz von 2,0 vol-% PDMS dagegen zeigte eine Verringerung des maximalen Endwertes der OD₅₉₀ um fast 70 % im Vergleich zum PDMS-freien Ansatz ($p < 0,001$). Ab dieser Konzentration ließ sich erstmalig eine statistisch relevante Wachstumshemmung nachweisen. Daher stellt der Einsatz von 2,0 vol-% PDMS die zu verwendende Mindestkonzentration dar. Eine weitere Verminderung des Wachstums um fast 80 % erfolgte durch die Zugabe von 5,0 vol-% und um über 90 % bei 7,0 vol-% PDMS (jeweils $p < 0,001$).

4.2.4 Vergleich des Einflusses von PDMS auf das Wachstumsverhalten der untersuchten Bakterienstämme

Das Hinzufügen von PDMS zu den drei untersuchten Bakterienstämmen führte bei allen zu einer Wachstumshemmung der Kultur. Die Effektstärke trat dabei konzentrationsabhängig auf. Je größer die hinzugefügte Menge an PDMS war, desto stärker der wachstumshemmende Einfluss. Darüber hinaus wurde beobachtet, dass es eine maximale Konzentration an PDMS geben muss, bei deren Überschreiten sich der wachstumshemmende Effekt nicht weiter steigern lässt (siehe Abbildung 13 bis Abbildung 15). Die untersuchten Bakterienstämme wuchsen trotz gleichbleibender Versuchsvoraussetzungen unterschiedlich stark. Dafür verantwortlich sind bakterienspezifische Eigenschaften, wie die Wachstumsrate und Generationszeit. Die kürzeste Generationszeit und somit das stärkste Wachstum im Untersuchungszeitraum wies *E. coli* EcM1 auf, gefolgt von *S. epidermidis*. *P. aeruginosa* erreicht am spätesten die log-Phase und vermehrte sich daher von den untersuchten Bakterien am langsamsten.

Wird die Verminderung des Wachstums der untersuchten Bakterienkulturen verglichen, zeigt *P. aeruginosa* den größten wachstumshemmenden Einfluss durch PDMS auf (siehe Abbildung 14). Die OD_{590} verringerte sich im Gegensatz zur PDMS-freien Kurve um circa 80 % ($p < 0,001$). Das Wachstum von *S. epidermidis* wurde ebenfalls stark gehemmt. Es verringerte sich im Vergleich zum Ansatz ohne PDMS um 70 % ($p < 0,001$). Am geringsten, mit 35 % im Vergleich zum PDMS-freien Ansatz, wurde das Wachstum von *E. coli* EcM1 durch 2,0 vol-% PDMS beeinflusst ($p < 0,001$) (siehe Abbildung 16).

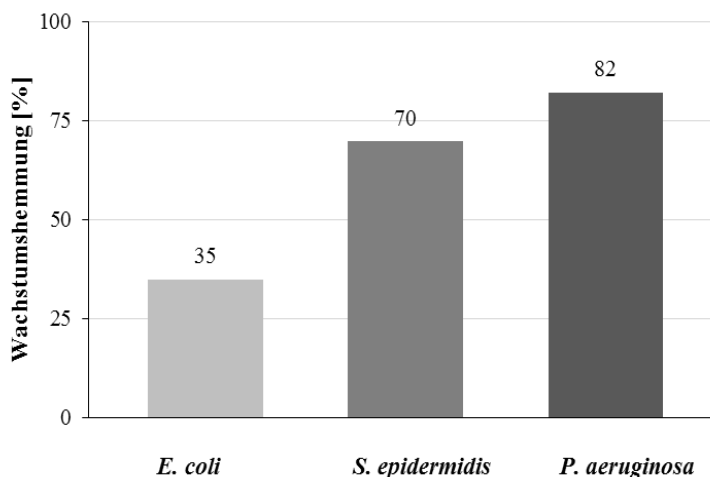


Abbildung 16: Relative Wachstumshemmung durch die Beschichtung mit 2,0 vol-% PDMS nach 300 Minuten bei *E. coli* EcM1 und nach 330 Minuten bei *S. epidermidis* und *P. aeruginosa*. *E. coli* EcM1 wurde im Wachstum um circa 35 %, *S. epidermidis* um circa 70 % und *P. aeruginosa* um circa 82 % gehemmt.

4.3 Einfluss von PDMS-beschichteten Materialien auf das bakterielle Überleben am Beispiel von *S. epidermidis*

S. epidermidis adhärirt von den untersuchten Bakterien besonders gut an Fremdmaterialien und weist eine hohe Trocknungsresistenz auf. Aufgrund dieser Eigenschaften erfolgte die Prüfung des Effektes von PDMS-beschichteten Materialien auf das Überleben von Bakterien anhand diesen Stammes (Pfeiffer *et al.* 2016). Das Überleben von *S. epidermidis* wurde auf drei verschiedenen Materialien (Stahl, Polykarbonat und Glas) untersucht.

4.3.1 Einfluss von PDMS-beschichtetem Stahl auf das Überleben von *S. epidermidis*

Das Überleben von *S. epidermidis* auf beschichtetem Stahl wurde mittels Lebendkeimzahlbestimmung anhand des Auszählens der KBE in verschiedenen Verdünnungsstufen quantifiziert (siehe Abbildung 17). Um die Effekte des Beschichtungssubstrates zu untersuchen, erfolgte die Durchführung der Versuche parallel vergleichend auf einer beschichteten und einer unbeschichteten Materialoberflächenprobe.

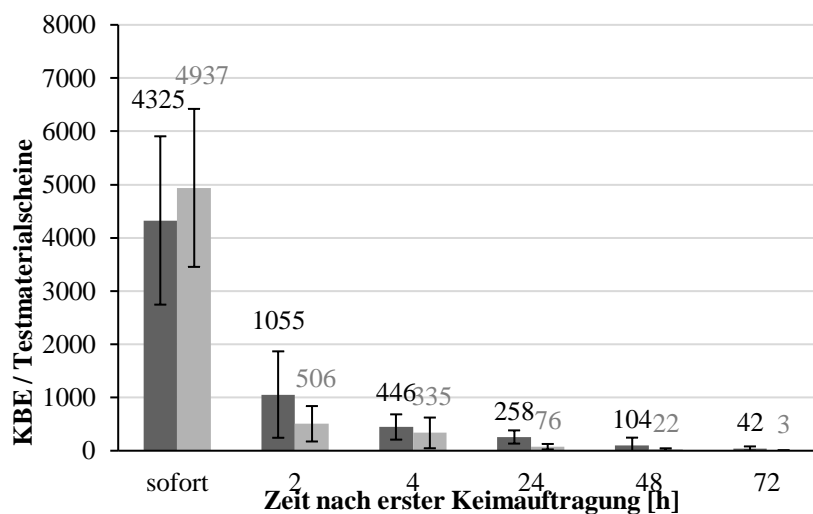


Abbildung 17: Mittelwerte der KBE pro Stahl-Testmaterialscheibe nach einmaliger Auftragung von *S. epidermidis*. Die Auszählung der KBE erfolgte sofort und nach 2, 4, 24, 48 und 72 Stunden. Die Abbildung zeigt vergleichend die Stahl-Testmaterialscheiben beschichtet mit PDMS (■; n = 9) und ohne PDMS (□; n = 9).

Im Untersuchungszeitraum von 72 Stunden nahm die Anzahl der lebenden Bakterien auf den beschichteten Stahlscheiben im Vergleich zu den PDMS-freien stärker ab. Nach 24 Stunden überlebten 70 % weniger Bakterien auf den mit PDMS-beschichteten Stahlscheiben ($p = 0,098$). Diese Tendenz bestätigte sich im weiteren Verlauf nach 48 ($p = 0,225$) und nach 72 Stunden ($p = 0,051$). Die Testergebnisse zeigten allerdings keine statistische Signifikanz. Der größte

Einfluss von PDMS auf das Überleben von *S. epidermidis* wurde nach 72 Stunden nachgewiesen. Die Anzahl an Lebendkeimen auf den Stahlplatten mit PDMS-Beschichtung war zu diesem Zeitpunkt im Vergleich zu denen ohne Beschichtung um über 90 % vermindert.

In einem zweiten Versuchsansatz wurde 24 Stunden nach der ersten Keimaufrtragung auf der exakt gleichen Stelle des Materials erneut Bakteriensuspension aufgebracht. Die anschließend ermittelten Lebendkeimzahlen sind in Abbildung 18 zusammengefasst.

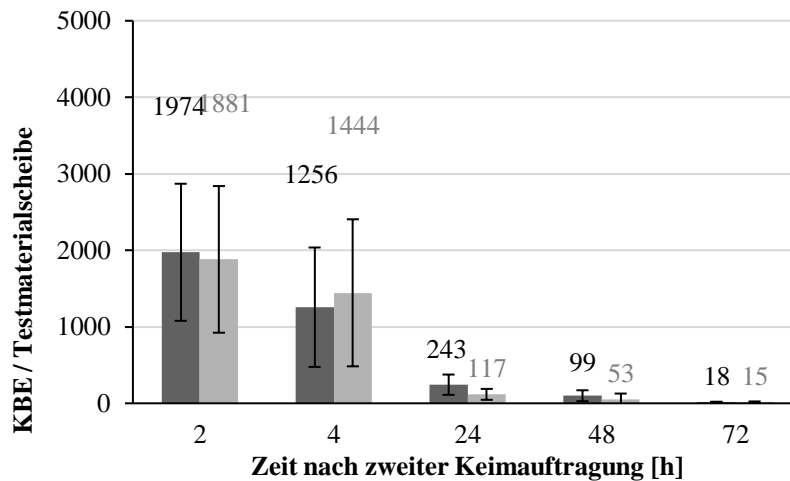


Abbildung 18: Mittelwerte der KBE pro Stahl-Testmaterialscheibe nach zweiter Auftragung von *S. epidermidis*. Auszählung der KBE erfolgte sofort und nach 2, 4, 24, 48 und 72 Stunden. Die Abbildung zeigt vergleichend die Stahl-Testmaterialscheiben beschichtet mit PDMS (■; n = 9) und ohne PDMS (□; n = 9)

Auch in diesem Versuchsansatz sinkt die Lebendkeimzahl bei beschichtetem und unbeschichtetem Stahl. Vergleichend tritt jedoch, ausgenommen nach 4 Stunden, eine stärkere Verringerung der Lebendkeimzahl auf den PDMS-beschichteten Stahl-Testmaterialscheiben auf. Ab einer Inkubationszeit von 24 Stunden überleben deutlich weniger Bakterien auf den beschichteten Testmaterialscheiben, als auf den PDMS-freien. Der Effekt war nach 24 Stunden am größten ($p = 0,971$).

Einen zusammenfassenden Überblick der Verringerung der Lebendkeimzahl gibt Abbildung 19: Bei einmaliger Keimaufrtragung liegt das Verhältnis der KBE auf beschichtetem Material von denen auf unbeschichtetem Material ab 24 Stunden zu jedem Messpunkt unter 50 %, sodass eine konstante Keimreduktion durch PDMS festzustellen ist. Im Gegensatz dazu war die Verminderung der Lebendkeimzahl durch PDMS nach zweiter Kontamination insgesamt geringer ausgeprägt. Die höchste Keimreduktion durch PDMS konnte für den Zeitraum zwischen 24 und 48 Stunden nach erstmaligem Keimaufrtrag festgestellt werden.

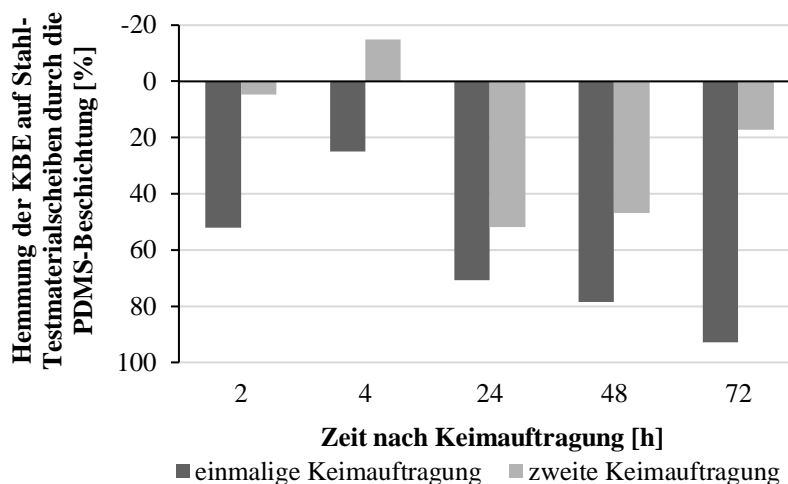


Abbildung 19: Prozentuale Hemmung der KBE auf Stahl-Testmaterialscheiben durch die PDMS-Beschichtung. Die dunkelgrauen Balken zeigen die prozentuale Wachstumshemmung nach einmaliger Keimauftragung (■; n=9) und die hellgrauen Balken zeigen die prozentuale Wachstumshemmung nach zweiter Keimauftragung (▒; n=9).

4.3.2 Einfluss von PDMS-beschichtetem Polykarbonat auf das Überleben von *S. epidermidis*

Die Durchführung des Versuches auf Polykarbonatmaterialscheiben erfolgte analog zu denen auf Stahl (siehe 3.2.6). Die Effekte der PDMS-Beschichtung auf Polykarbonat ähnelten denen auf Stahl (siehe Kapitel 4.3.1). Die Lebendkeimzahlen verminderten sich bei beiden Untersuchungsansätzen im Verlauf der 72 Stunden stetig. Dabei zeigte sich auf den Testmaterialscheiben, die mit PDMS beschichtet waren, ab 24 Stunden nach Keimauftragung eine im Vergleich zum PDMS-freiem Material stärkere Verminderung der Lebendkeime. Der Unterschied beider Untersuchungsgruppen war zu jedem Untersuchungszeitpunkt ab 24 Stunden größer als 50 %. Am deutlichsten zeigte sich die Differenzierung der Anzahl an lebensfähigen Bakterien auf Polykarbonat nach 72 Stunden. Diese war auf PDMS im Mittelwert um 84 % ($p = 0,025$) geringer als auf reinem Polykarbonat.

Analoge Ergebnisse zeigen die Untersuchungen mit erneuter Keimauftragung nach 24 Stunden. Es konnten bereits ab 4 Stunden Unterschiede zwischen den überlebenden Bakterien auf beschichteten und unbeschichteten Polykarbonatplatten beobachtet werden: Durch die PDMS Beschichtung erfolgte eine stärkere Verminderung lebensfähiger Keime (siehe Abbildung 21). Der Unterschied der Lebendkeimzahl zwischen PDMS-beschichteten und PDMS-freien Testmaterialien war nach 24 Stunden mit einer Verringerung um circa 80 % am deutlichsten ($p = 0,073$). Nach 96 Stunden wurde die Keimzahl-reduzierende Wirkung der Beschichtung zunehmend schwächer.

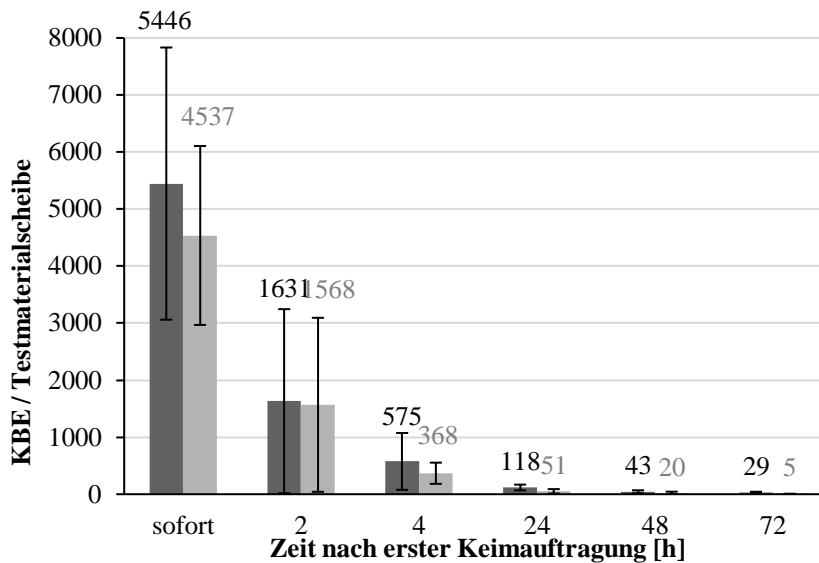


Abbildung 20: Mittelwerte der KBE pro Polycarbonat-Testmaterialscheibe nach einmaliger Auftragung von *S. epidermidis*. Die Auszählung der KBE erfolgte sofort und nach 2, 4, 24, 48 und 72 Stunden. Die Abbildung zeigt vergleichend die Polycarbonat-Testmaterialscheiben beschichtet mit PDMS (■; n = 9) und ohne PDMS (□; n = 9).

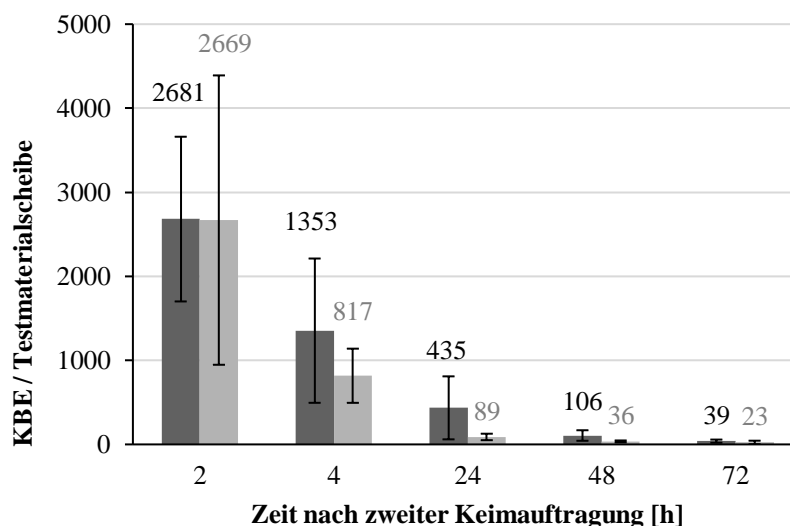


Abbildung 21: Mittelwerte der KBE pro Polycarbonat-Testmaterialscheibe nach zweiter Auftragung von *S. epidermidis*. Auszählung der KBE erfolgte sofort und nach 2, 4, 24, 48 und 72 Stunden. Die Abbildung zeigt vergleichend die Polycarbonat-Testmaterialscheiben beschichtet mit PDMS (■; n = 9) und ohne PDMS (□; n = 9).

Einen vergleichenden Überblick über das Ausmaß der Verringerung der Lebendkeimzahl nach einmaliger und zweifacher Keimaufrtragung auf den Polycarbonat-Testmaterialscheiben gibt Abbildung 22. Nach 24 Stunden konnte eine anhaltende, über 50 % verminderte Keimzahl beobachtet werden. Im Gegensatz dazu liegen die Werte bei erneuter Kontamination mit dem Erreger nur im Zeitraum zwischen 24 und 48 Stunden oberhalb von 50 % der Kontrollgruppe. Der maximale Effekt der PDMS Beschichtung auf das Überleben von *S. epidermidis* besteht in Zusammenschau der Ergebnisse zwischen 48 und 72 Stunden nach erstmaligem Keimkontakt.

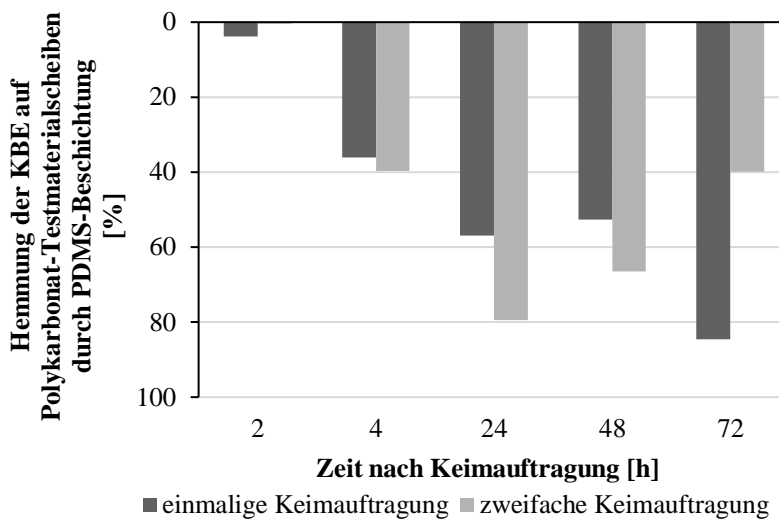


Abbildung 22: Prozentuale Hemmung der KBE auf Polykarbonat-Testmaterialscheiben durch die PDMS-Beschichtung. Die dunkelgrauen Balken zeigen die prozentuale Wachstumshemmung nach einmaliger Keimaufragung (■; n=9) und die hellgrauen Balken zeigen die prozentuale Wachstumshemmung nach zweifacher Keimaufragung (■; n=9).

4.3.3 Einfluss von PDMS-beschichtetem Glas auf das Überleben von *S. epidermidis*

Die Versuche auf Glas erfolgten analog zu den Vorherigen (siehe Kapitel 3.2.6). Die Ergebnisse sind in Abbildung 23 und Abbildung 24 dargestellt. Auf den Glasscheiben zeigte sich eine stärker ausgeprägte Verminderung der Lebendkeimzahl auf den mit PDMS-behafteten Materialscheiben als auf den unbeschichteten Testmaterialscheiben. Über den gesamten Untersuchungszeitraum war die Lebendkeimzahl auf den mit PDMS-beschichteten Platten geringer ausgeprägt als auf den PDMS-freien Platten. Ab zwei Stunden nach Keimaufragung erfolgte über den gesamten Untersuchungszeitraum eine Verringerung der Keimzahl um mehr als die Hälfte. Der maximale Einfluss von PDMS auf das Überleben von *S. epidermidis* konnte nach 72 Stunden beobachtet werden. Die Anzahl an Lebendkeimen auf den Glasplatten war mit Beschichtung nach 72 Stunden um 85 % vermindert ($p = 0,023$).

Nach erneuter Keimaufragung fand sich bei allen Untersuchungszeitpunkten eine stärkere Verringerung der lebendigen Bakterien auf den mit PDMS-beschichteten Glasscheiben als auf den PDMS-freien Glasscheiben (siehe Abbildung 24). Es konnte eine konstante Verminderung der Lebendkeimzahl um circa die Hälfte auf den beschichteten Glasplatten nach zweitem Keimkontakt im Vergleich zur Kontrolle beobachtet werden. Nach 48 ($p = 0,157$) und 72 Stunden ($p = 0,808$) erwies sich diese mit über 70 % als am stärksten ausgeprägt.

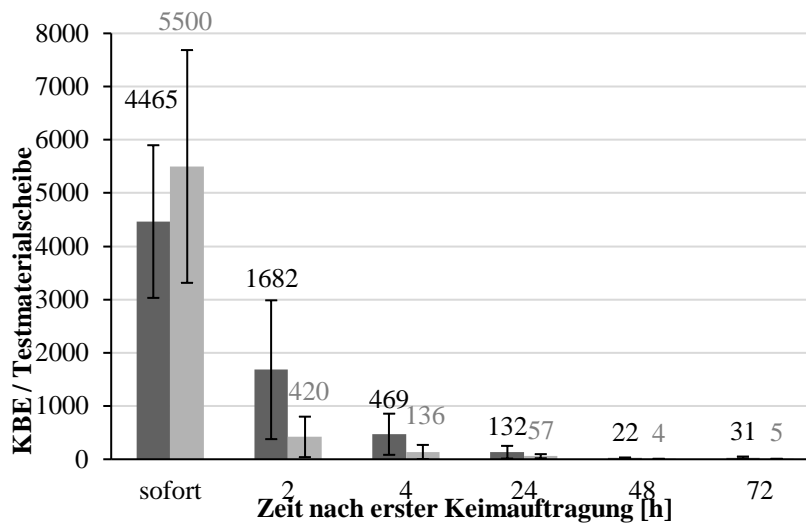


Abbildung 23: Mittelwerte der KBE pro Glas-Testmaterialscheibe nach einmaliger Auftragung von *S. epidermidis*. Die Auszählung der KBE erfolgte sofort und nach 2, 4, 24, 48 und 72 Stunden. Die Abbildung zeigt vergleichend die Glas-Testmaterialscheiben beschichtet mit PDMS (■; n=9) und ohne PDMS (□; n=9).

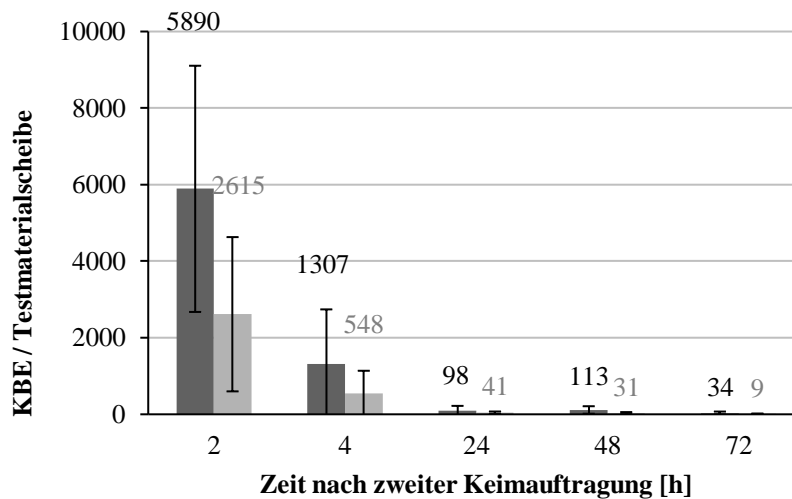


Abbildung 24: Mittelwerte der KBE pro Glas-Testmaterialscheibe nach zweiter Auftragung von *S. epidermidis*. Auszählung der KBE erfolgte sofort und nach 2, 4, 24, 48 und 72 Stunden. Die Abbildung zeigt vergleichend die Glas-Testmaterialscheiben beschichtet mit PDMS (■; n=9) und ohne PDMS (□; n=9).

Zu fast jedem Untersuchungszeitpunkt wurde die Lebendkeimzahl durch die Beschichtung um die Hälfte vermindert (siehe Abbildung 25). Auf Glas zeigte sich ein Einfluss des PDMS auf das Überleben der Bakterien über den gesamten Untersuchungsverlauf von über 96 Stunden ohne Effektivabschwächung.

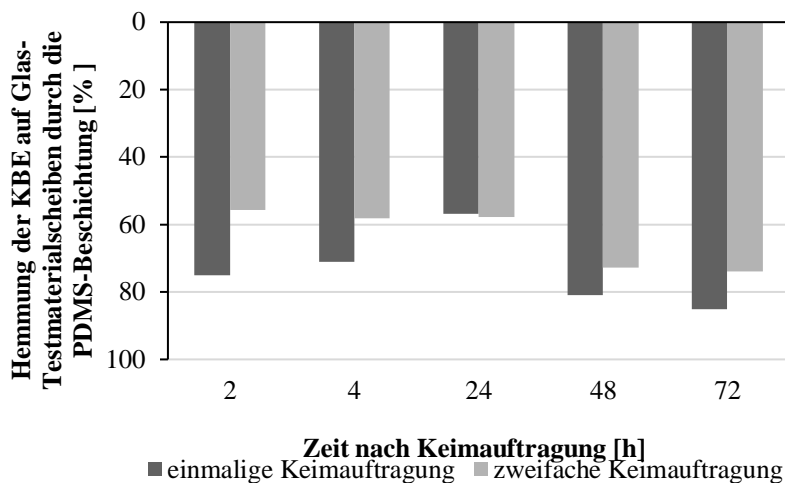


Abbildung 25: **Prozentuale Hemmung der KBE auf Glas-Testmaterialscheiben durch die PDMS-Beschichtung.** Die dunkelgrauen Balken zeigen die prozentuale Wachstumshemmung nach einmaliger Keimaufragung (■; n=9) und die hellgrauen Balken zeigen die prozentuale Wachstumshemmung nach zweiter Keimaufragung (▒; n=9).

4.3.4 Vergleich des Einflusses der PDMS-beschichteten Materialien auf das Überleben von *S. epidermidis*

Auf allen drei Materialien konnte ein wachstumshemmender Effekt der PDMS-Beschichtung beobachtet werden. Dieser war nach 72 Stunden am stärksten ausgeprägt (Stahl: $p = 0,051$; Polykarbonat: $p = 0,025$; Glas: $p = 0,023$). Auf Stahl und Polykarbonat trat die Verminderung der Lebendkeimzahlen ab 24 Stunden, bei Glas im Gegensatz dazu bereits ab zwei Stunden nach erstmaliger Keimaufragung auf (Stahl: $p = 0,098$; Polykarbonat: $p = 0,009$; Glas: $p = 0,023$). Vergleichbare Ergebnisse ergaben die Untersuchungen nach wiederholtem Keimaufrag. Die wachstumshemmenden Effekte konnten für alle Materialien über den gesamten Untersuchungszeitraum von 96 Stunden beobachtet werden.

4.4 Ergebnisse der Biofilmbildung verschiedener bakterieller Erreger unter dem Einfluss von PDMS

Das folgende Kapitel stellt die Ergebnisse des im Kapitel 3.2.7 beschriebenen Versuches dar. Eine Gesamtübersicht der wachstumshemmenden Effekte der untersuchten Bakterien ist im Anhang XI zu finden. Die Biofilmbildung bakterieller Erreger wurde anhand der Menge aufgenommenen Kristallvioletts quantifiziert und auf Unterschiede zwischen dem Wachstum auf PDMS-beschichteter und PDMS-freier Polypropylen-Oberfläche hin untersucht. Die Versuche erfolgten einerseits mit den Gram-positiven Bakterien *S. epidermidis* und *B. subtilis*, andererseits mit *P. aeruginosa*, *E. coli* EcM1 und verschiedenen Stämmen von EAEC als Vertreter

Gram-negativer Bakterien. Die Stärke des vom jeweiligen Bakterium gebildeten Biofilmes korreliert im verwendeten Assay mit der gemessenen Farbintensität, die mittels der optischen Dichte bei 540 nm quantifiziert wurde. Aufgrund der großen Variabilität der Messwerte zwischen den unterschiedlichen Bakterien erfolgte zur besseren Übersicht der Ergebnisse die Darstellung in Box-Plot-Diagrammen (siehe Abbildung 26 bis Abbildung 30). Das Kapitel 4.4.1 befasst sich mit den Bakterienstämmen *B. subtilis*, *E. coli* EcM1, *P. aeruginosa* und *S. epidermidis*. Das nachfolgende Unterkapitel beinhalten die Messergebnisse der EAEC-Stämme. Die im Verlauf der Arbeit erwähnten prozentualen Unterschiede zwischen der OD₅₄₀ auf PDMS-freier und PDMS-beschichteter Oberfläche beziehen sich auf die Mittelwerte der Messergebnisse.

4.4.1 Einfluss von PDMS auf die Biofilmbildung von *B. subtilis*, *E. coli* EcM1, *P. aeruginosa* und *S. epidermidis*

Die Biofilmmasse wurde indirekt durch die aufgenommene Menge Kristallviolett quantifiziert (siehe Kapitel 3.2.7).

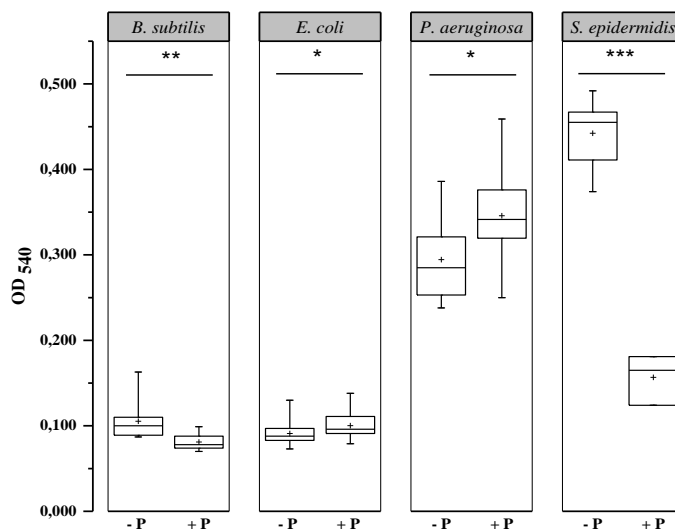


Abbildung 26: Biofilmbildung auf PDMS-freier (-P) und mit PDMS-beschichteter (+P) Polypropylenoberfläche der Stämme *B. subtilis*, *E. coli* EcM1 (in Abbildung *E. coli*), *P. aeruginosa* und *S. epidermidis* (n = 8, Kolmogorov-Smirnov-Test).

Unter den genannten Bakterien bildete *S. epidermidis* ($p < 0,001$), gefolgt von *P. aeruginosa* ($p < 0,05$) auf PDMS-freier Oberfläche die größte Biofilmmasse. Am geringsten war diese im Gegensatz dazu bei *E. coli* EcM1 ausgeprägt ($p < 0,05$). *S. epidermidis* erwies sich mit 60 % verminderter Biofilmmasse als das mit Abstand empfindlichste Bakterium gegenüber der PDMS-Beschichtung in diesem Versuchsaufbau ($p < 0,001$). Bei *B. subtilis* wurde 23 % weniger Biofilmmasse auf der PDMS-Beschichtung im Vergleich zur Kontrolle beobachtet ($p < 0,01$), wobei *B. subtilis* im Vergleich zu *S. epidermidis* eine schwache Biofilmbildung aufweist. Im

Gegensatz zu den Ergebnissen von *S. epidermidis* und *B. subtilis*, zeigten die durchgeführten Versuche bei *P. aeruginosa* und *E. coli* EcM1 eine stärkere Biofilmbildung auf der mit PDMS-beschichteten Oberfläche als auf der unbehandelten Oberfläche ($p < 0,05$) (siehe Abbildung 26).

4.4.2 Einfluss von PDMS auf die Biofilmbildung von EAEC-Stämmen

Es wurden insgesamt 26 EAEC-Bakterienstämmen in Hinblick auf die Effekte von PDMS auf die Biofilmbildung untersucht. Die Ergebnisse sind den Abbildung 27 bis Abbildung 29 zu entnehmen. Die EAEC-Stämme sind in den Abbildungen nach Stärke der optischen Dichte ohne PDMS-Beeinflussung geordnet. Die Biofilmbildung hemmende Effekte konnten für die EAEC-Stämme 19-6-E, 61-7-F, P8-E3, S55-C6, 67/2, P32-E-7, S55-B1, P8-G8, S52-A4, 5-4-A, 3-6-A, P8-F5, O42 und 9-11-A nachgewiesen werden. Der EAEC-Stamm mit der stärksten Biofilmbildung war 7-6-A mit einer durchschnittlichen OD von 0,663 ohne PDMS-Beeinflussung. Im Gegensatz dazu wurde im Mittelwert ohne PDMS der geringste Biofilm von dem EAEC 61-7-F gebildet. Die stärkste, signifikant wachstumshemmende Beeinflussung durch PDMS konnte bei Stamm 9-11-A mit einer Verminderung der Biofilmbildung um circa 47 % nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu zeigte sich die schwächste signifikante Wirkung von PDMS bei EAEC-Stamm 61-7-F mit einer Biofilmreduktion von rund 12 %.

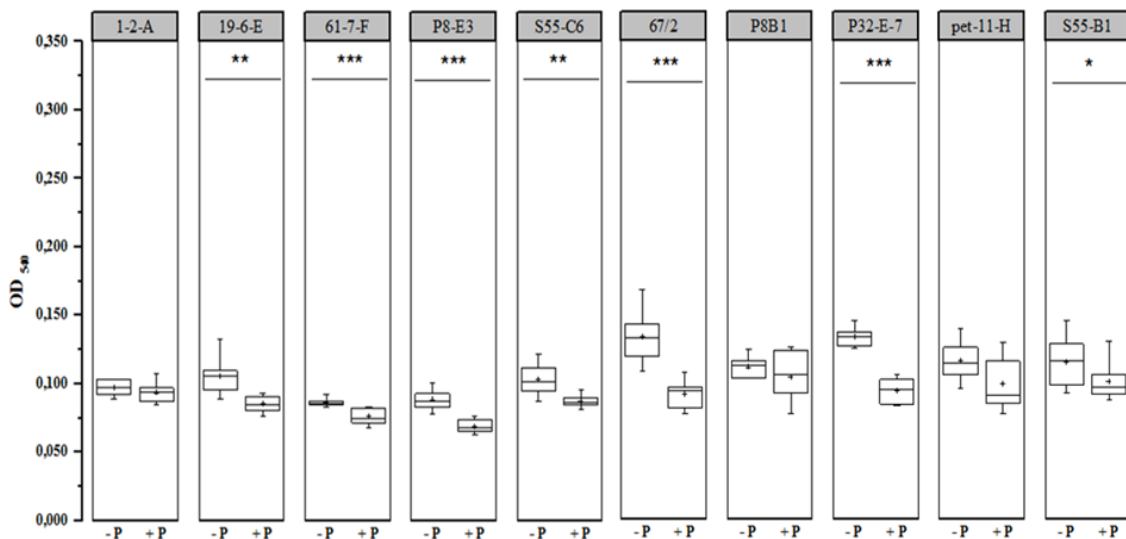


Abbildung 27: Biofilmbildung auf PDMS freier (-P) und mit PDMS beschichteter (+P) Polypropylenoberfläche der EAEC Stämme 1-2-A, 19-6-E, 61 7 F, P8 E3, S55 C6, 67/2, P8-B1, P32-E-7, pet-11-H, und S55-B1 (n = 8, Kolmogorov-Smirnov Test).

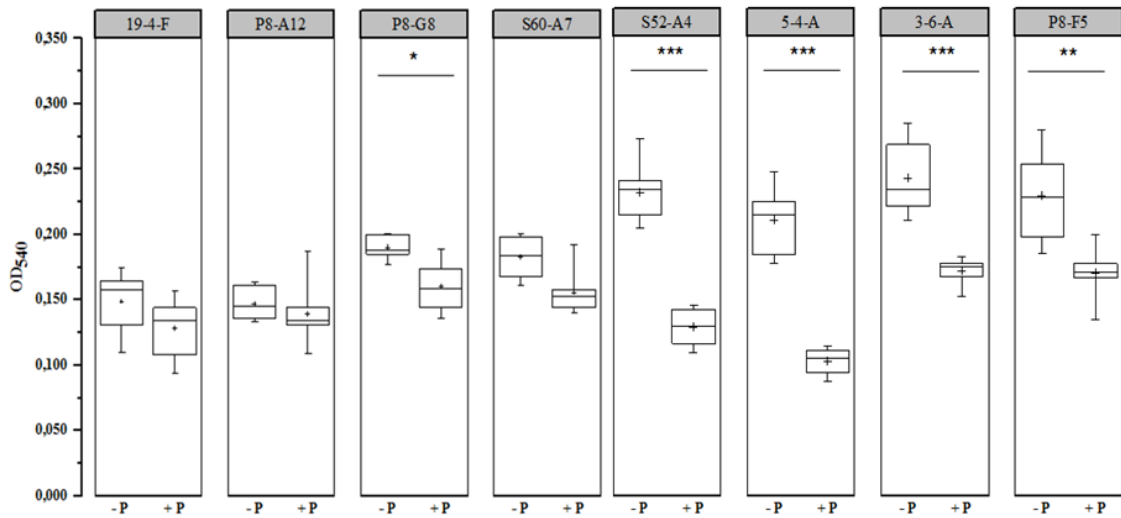


Abbildung 28: Biofilmbildung auf PDMS freier (- P) und mit PDMS beschichteter (+ P) Polypropylenoberfläche der EAEC Stämme 19 4 F, P8 A12, P8 G8, S60 A7, S52-A4, 5-4-A, 3-6-A und P8-F5 (n = 8, Kolmogorov-Smirnov Test).

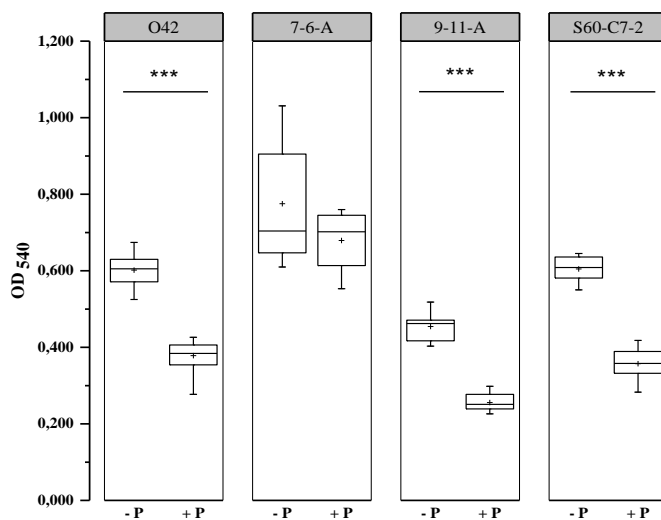


Abbildung 29: Biofilmbildung auf PDMS-freier (- P) und mit PDMS-beschichteter (+ P) Polypropylenoberfläche der EAEC-Stämme O42, 7-6-A, 9-11-A, S60-C7-2. (n = 8, Kolmogorov-Smirnov Test)

Vier der untersuchten EAEC-Stämmen zeigten eine stärkere Biofilmbildung durch PDMS. Dazu gehören die EAEC-Stämme 61-9-F, P2-B8, P8-H3 und S60-B11. Die Ergebnisse sind in Abbildung 30 dargestellt. Am stärksten war der wachstumsfördernde Effekt bei Stamm P8-H3 ausgeprägt. Die Biofilmbildung wurde bei diesem Erreger durch die Beschichtung mit PDMS um 37 % gesteigert ($p < 0,01$). Die Stämme 61-9-F, P2-B8 und S60-B11 zeigten eine nicht signifikante und nur sehr geringe Verstärkung der Biofilmbildung unter PDMS (siehe Abbildung 30).

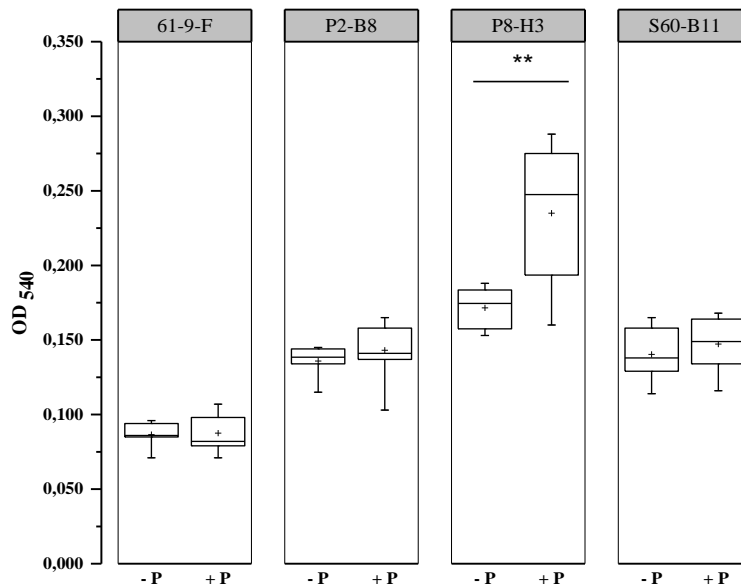


Abbildung 30: Biofilmbildung auf PDMS-freier (- P) und mit PDMS-beschichteter (+ P) Polypropylenoberfläche der EAEC-Stämme 61-9-F, P2-B8, P8-H3 und S60-B11. (n = 8, Kolmogorov-Smirnov Test).

4.4.3 Zusammenfassung des Verhaltens der Biofilmbildung bakterieller Erreger auf PDMS-beschichteter Oberfläche

In den Versuchen konnte bei 80 % der untersuchten bakteriellen Erreger ein wachstumshemmender Effekt durch die PDMS-Beschichtung nachgewiesen werden. Unter den Stämmen *B. subtilis*, *E. coli* EcM1, *P. aeruginosa* und *S. epidermidis* erwies sich *S. epidermidis* als stärkster Biofilmbildner. Bei diesem Erreger konnte durch die PDMS-Beschichtung die Biofilmbildung um mehr als 60 % gesenkt werden. Am geringsten war die Biofilmbildung von diesen vier Bakterienstämmen bei *E. coli* EcM1 ausgeprägt. Im Gegensatz zu *S. epidermidis* und *B. subtilis*, bei denen ein Biofilm-hemmender Effekt durch PDMS Zugabe nachgewiesen werden konnte, zeigten *E. coli* EcM1 und *P. aeruginosa* eine stärkere Biofilmbildung auf der mit PDMS-beschichteten Polypropylenoberfläche. 84 % der EAEC-Stämme zeigten eine verminderte Biofilmbildung auf PDMS-beschichtetem Polypropylen. Für 67 % dieser Stämme konnte der hemmende Einfluss auf die Biofilmbildung als statistisch signifikant nachgewiesen werden. Am geringsten war die Biofilmhemmung bei dem schwächsten Biofilmbildner, Stamm 61-7-F, ausgeprägt, am stärksten bei 9-11-A, dessen Biofilmbildung im Vergleich zu den anderen EAEC-Stämmen überdurchschnittlich stark war ($p < 0,001$).

Zusammenfassend ließ sich eine positive Abhängigkeit zwischen starker Biofilmbildung der unbehandelten Bakterien und Biofilm-hemmender Effekt durch eine PDMS-Beschichtung ableiten.

5 Diskussion

Durch den vielseitigen Einsatz von Fremdmaterialien im klinischen Alltag haben die damit in Verbindung stehenden Infektionen in den letzten Jahren trotz der Vielzahl therapeutischer Möglichkeiten zugenommen. Steigende Infektionsraten sind unter anderem mit erhöhten Liegezeiten, personellem sowie therapeutisch-wirtschaftlichem Mehraufwand verbunden. Ebenso wird die Entstehung von multiresistenten bakteriellen Erregern gefördert, was wiederum zu den bereits oben genannten damit einhergehenden Komplikationen führen kann. Präventive Maßnahmen stellen die einzige Möglichkeit dar, die Kausalkette von Beginn an zu unterbrechen. PDMS könnte den Ergebnissen entsprechend als potentiell Beschichtungssubstrat diesem Zweck dienen. Im Folgenden sollen die in der Arbeit erhaltenen Ergebnisse zum Einsatz von PDMS diskutiert werden.

5.1 Eignung von PDMS in der Humanmedizin

PDMS als Anwendungslösung ist ein innovatives Produkt, das sich basierend auf Siliziummolekülen auf diversen Oberflächen hydrostatisch auflagert und so als Oberflächenschutz dient. Die in Kapitel 1.2 beschriebenen Eigenschaften sollen in Bezug auf eine potentielle Anwendung von PDMS im medizinischen Bereich geprüft werden.

Grundvoraussetzung für den Einsatz am Menschen ist, dass PDMS keine toxischen Veränderungen am humanen Gewebe hervorruft. Hiebl *et al.* untersuchten dafür die Verträglichkeit von PDMS anhand der LDH (Laktatdehydrogenase)-Ausschüttung, der Zellproliferation, des Zellphänotyps und der Komplementaktivierung humaner Epithelzellen unter PDMS-Einfluss (Hiebl *et al.* 2013). Es gab weder Hinweise auf thrombogene, immunologische oder allergene Reaktionen, noch auf eine Zytotoxizität, sodass die Nutzung im klinischen Alltag durchaus denkbar wäre. Die fehlende Zytotoxizität gegenüber humaner Zellen und Zellverbände wurde auch bei Untersuchungen mit Siliziumdioxid-NP von anderen Autoren postuliert (Capeletti *et al.* 2014). Hiebl *et al.* stellten darüber hinaus fest, dass PDMS bei humanen Epithelzellen zu Veränderungen von Stoffwechselprozessen führt. LDH ist ein Enzym, das die physiologische Reduktion von Pyruvat zu Laktat katalysiert, wenn der Zelle nicht genügend Sauerstoff zur Verfügung steht. Es kommt in fast allen Zellen des menschlichen Organismus vor, besonders in Herz- und Muskelzellen oder Erythrozyten. Die Konzentration von LDH im Blut steigt bei Stresssituationen oder Zelluntergang, beispielsweise bei Hämolyse oder Muskelerkrankungen, an (Magdalena Agnes Sluszniaik 2013). Hiebl *et al.* entdeckten eine verminderte Ausschüttung von LDH nach Kontakt mit PDMS. Zusätzlich konnte eine Stimulation der Kollagensynthese durch PDMS beobachtet werden. Vermutet wird daher ein positiver Effekt

auf die Zellmembranstabilität und -regeneration humaner Fibroblasten (Hiebl *et al.* 2013; Capeletti *et al.* 2014; Leigh *et al.* 2018). Aufgrund dieser Ergebnisse stellt PDMS ein für die humanmedizinische Forschung interessantes Agens dar.

Die prinzipielle Eignung von PDMS für den Einsatz in der Humanmedizin kann durch weitere Eigenschaften untermauert werden. Die Anwendung als Beschichtungssubstrat auf verschiedenen Materialien setzt voraus, dass es weder die Form, den Aufbau, noch die elastischen, chemischen und physikalischen Eigenschaften des Ausgangsmaterials negativ verändert (Deardorff 2011; Permanon GmbH Deutschland 2015). Dies belegen jahrelange Erfahrungen in der Anwendung von PDMS als Oberflächenschutz mit Anti-Foulingeffekten auf Schiffen, Autos und Flugzeugen. Weiterhin bietet die hohe Thermo- und Reaktionsstabilität eine ideale Grundlage für breitgefächerte Einsatzmöglichkeiten in verschiedenen Fachbereichen und ermöglicht notwendige Sterilisationsprozesse, wie das Autoklavieren (Hiebl *et al.* 2013). Vorteilhaft gegenüber Einmalprodukten, wie Kathetern oder Schlauchsystemen im klinischen Alltag sind daher die einfache Herstellung und Handhabung sowie die kostengünstige Reinigung und Sterilisierung zur Wiederverwendung.

Der Bereich der Nanotechnologie ist ein hoch aktuelles Forschungsgebiet. Wissenschaftler sehen Vorteile bei der Anwendung von Nanotechnologien in der Membran- und Gewebegängigkeit (Kopeckova *et al.* 2019). Arzneimittel können von ihnen eingekapselt werden und sich so vor dem vorzeitigen Abbau durch den menschlichen Metabolismus schützen. Die Wirkung von Arzneimitteln kann so verlängert werden (Kopeckova *et al.* 2019). Metallionische NP finden bereits Anwendung bei der rheumatoiden Arthritis und als Wundauflagen (Kopeckova *et al.* 2019). Darüber hinaus bieten sie in der Tumorbehandlung innovative Therapieansätze, die als *targeted therapy* bezeichnet wird. Dabei wird gezielt der Tumor angegriffen und das gesunde Gewebe weitgehend verschont. Bestimmte Eigenschaften, sogenannte Biomarker, von Tumorzellen werden dafür ermittelt, um dann spezifische Wirkstoffe oder Antikörper, mit beispielsweise anti-hormoneller, Wachstumsrezeptor- oder Protein-hemmender Wirkung einsetzen zu können (Koo *et al.* 2017). Geringere Entzündungsreaktionen und systemische Nebenwirkungen der Chemotherapie sind für die Lebensqualität der Patienten ein wesentlicher Vorteil. Die geringe Molekülgröße und -masse von NP bietet zum einen eine herausragende Gewebedurchlässigkeit, könnte aber auch zu einem verfrühten Abbau des Substrates durch das menschliche Immunsystem mit unzureichender Dosierung und Wirkung führen (Kopeckova *et al.* 2019). Um dieses Phänomen zu verhindern, wären *Coating*-Maßnahmen zur langsameren Freisetzung und zum Schutz des Medikamentes notwendig. Neuerdings üben einige Wissenschaftler Kritik an der Anwendung von NP, da sie einen Zusammenhang mit erhöhter Toxizität gegenüber humanen Zellen feststellten (Banerjee *et al.* 2011; Biswaro *et al.* 2018).

Intensivere Studien belegen eine starke Abhängigkeit der Toxizität von der Größe, Morphologie und den physiko-chemischen Eigenschaften der Moleküle. Bei richtiger Anwendung wurde dabei keine Toxizität festgestellt (Lieberman *et al.* 2014; Murugadoss *et al.* 2017). Diese Problematik zeigte sich *in vitro* für das in dieser Arbeit angewendete Agens PDMS nicht, sodass es hier einen großen Vorteil gegenüber den NP aufzeigt (Hiebl *et al.* 2013). Die klinische Anwendung muss in weiteren *in vivo*-Studien verifiziert werden.

Bei Beachtung der dargelegten Parameter und Voraussetzungen erweist sich die Untersuchung von Silizium-NP in Form von PDMS als wissenschaftlich-medizinisch vielversprechender und anwendungsorientierter Forschungsaspekt.

5.2 Anwendbarkeit von PDMS als Beschichtungssubstrat

Die elektrostatisch gebundenen Silikonmoleküle erzeugen eine hydrophobe und positiv geladene Oberfläche. Diese zwei Eigenschaften sind grundlegend für die gewünschte Wirkung des PDMS. Hydrophobe Oberflächen werden in der Medizin als schmutz- und bakterienabweisend beschrieben (Kinnari *et al.* 2008). Im Gegensatz dazu ist die Adhäsion von Bakterien an hydrophoben Oberflächen größer als an hydrophilen Oberflächen (Abdallah *et al.* 2014; Banerjee *et al.* 2011). Die initiale Adhäsion der Bakterien an der Oberfläche ist notwendig, damit PDMS mit diesen in eine Interaktion tritt. Zusätzlich sind für das Adhäsionspotential bakterieller Erreger der Rauheitswert, die Benetzbarkeit, die Festigkeit und der pH-Wert des Materials von Bedeutung (Shida *et al.* 2013; Abdallah *et al.* 2014; Francolini *et al.* 2017). Raue Oberflächen vergrößern die Gesamtoberfläche eines Materials und bieten Bakterien damit eine größere Adhäsionsfläche. PDMS füllt materialbedingte Unregelmäßigkeiten und Korrosionen mittels Silizium-NP auf und schafft eine ebene Oberfläche, sodass die Adhäsion von Bakterien erschwert wird. Das alleine eine Beschichtung mit PDMS von Stahl, Polykarbonat und Glas die Bakterienadhäsion vermindern kann, wurde in einem Adhäsionsassay von Pfeiffer *et al.* am Institut für Medizinische Mikrobiologie in Halle nachgewiesen (Pfeiffer *et al.* 2016). PDMS-Beschichtungen vermindern somit die Adhäsion von Bakterien auf den getesteten Materialien.

Auf der Basis dieser Ergebnisse erfolgten weitere Untersuchungen des Beschichtungssubstrates. Während der Untersuchung von PDMS in der Ansatzlösung sowie in reinem *A. dest.* und Glukose-Nährbouillon fiel bei einer Konzentration ab 2,0 vol-% makroskopisch ein Absetzen fester, weißlicher Konkreme am Untersuchungsgefäß auf. Ursächlich dafür könnte die schlechte Löslichkeit des Silikonöls sein, die zur Schichtbildung an der Oberflächenaußenseite führt. Dieses Phänomen könnte die Konzentration dispergierender Teilchen vermindern. Quantitative Aussagen zu genauen Mechanismen sind mit dem in der Arbeit angewendeten Assay

nicht möglich. Die Ausbildung unlöslicher Aggregate würde in der Klinik zu Problemen, wie Embolien, Stenosen, Wandverletzungen, Entzündungsvorgänge oder Katheterverstopfungen, führen. Das Ablösen von Molekülen beschichteter Fremdmaterialien könnte zur Ausschwemmung dieser in die Blutbahn führen. Schon geringe akkumulierende Konzentrationen würden ausreichen, um die oben beschriebenen Komplikationen hervorzurufen. Nachfolgende Untersuchungen über die Menge an eventuell herausgelösten Teilchen über die Zeit wären notwendig, um quantitative Aussagen machen zu können.

Auf der Grundlage der erörterten Feststellungen erfolgten weitere Untersuchungen des Substrates hinsichtlich einer antibakteriellen Wirkung, einer wirksamen Effektkonzentration und möglicher Einsatzgebiete.

5.3 Festlegung der effektiven PDMS-Konzentration

Zur medizinischen Anwendung ist es notwendig eine effektive und wirtschaftlich effiziente Nutzen-Nebenwirkungskonzentration zu ermitteln. Zu diesem Zweck erfolgte die Untersuchung der im Abschnitt 3.2.4 genannten Konzentrationen von PDMS in Flüssigkultur. Die Ergebnisse belegen, dass bereits durch sehr kleine Mengen des Substrates eine signifikante Wachstumshemmung von *E. coli* EcM1 und *P. aeruginosa* stattfindet. Die positive Korrelation zwischen Konzentration und Hemmungsstärke konnte bis zu einer Maximalkonzentration von 5,0 vol-% nachgewiesen werden und spricht für eine hohe Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber PDMS. Eine weitere Erhöhung der Konzentration auf 7,0 vol-% führte zu keiner weiteren signifikant gesteigerten Wachstumshemmung. Die maximale Wirkkonzentration liegt daher wahrscheinlich zwischen 2,0 vol-% und 5,0 vol-%.

Bei *S. epidermidis* wurde eine signifikante Hemmung des Wachstums erst ab einer Konzentration von 2,0 vol-% nachgewiesen. Da höhere Konzentrationen für den gleichen Effekt notwendig waren, scheint *S. epidermidis* im Gegensatz zu den anderen untersuchten Erregern weniger empfindlich gegenüber PDMS zu sein. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre der unterschiedliche Wandaufbau zwischen den Gram-negativen Bakterien *E. coli* EcM1 und *P. aeruginosa* und dem Gram-positivem *S. epidermidis*. Es ist möglich, dass geringe Mengen an PDMS nicht ausreichend durch die dicke Peptidoglykanschicht hindurch gelangen und daher unwirksam bleiben. Ähnliche Ergebnisse wurden durch andere Autoren bei Ag-NP beschrieben (Coughlan *et al.* 2008; Chatterjee *et al.* 2015).

Gleichzeitig belegen die Ergebnisse, dass eine höhere Konzentration als 5,0 vol-% zu keinen weiteren wachstumshemmenden Effekten bei *E. coli* EcM1 und *S. epidermidis*, wohl aber bei

P. aeruginosa, führt. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die Wirkung konzentrationsabhängig und bakterienabhängig limitiert zu sein scheint.

Die Untersuchungen ergaben eine bei allen Bakterien effektive Beschichtungskonzentration von 2,0 vol-% PDMS. Wie bereits erwähnt, ist bei dieser Konzentration auch die Verträglichkeit des PDMS durch humane Epithelzellen und fehlende gewebeschädigende Eigenschaften nachgewiesen (Hiebl *et al.* 2013). Ausgehend davon könnte der Einsatz des Beschichtungssubstrates auf einer effektiven Kosten-Nutzen-Basis erfolgen.

5.4 Bakterienverhalten unter PDMS-Einfluss

5.4.1 Einfluss von Material und Oberfläche mit PDMS-Beschichtung auf das Bakterienwachstum

Bakterielle Erreger können sich an Fremdoberflächen anlagern, Biofilme ausbilden und so zu hartnäckigen Infektionen führen. Die Untersuchung ergab auf allen mit PDMS-beschichteten Materialien eine Verminderung der Anzahl von Lebendkeimen der vier untersuchten Bakterienstämme verglichen zum unbehandelten Material. Nichtsdestotrotz verringerte sich auch die Lebendkeimzahl auf den unbehandelten Materialien, da den Bakterien während des Untersuchungszeitraumes von 72 Stunden weder Nährstoffe zugeführt wurden, noch ein zusätzlicher Schutz vor Austrocknung bestand. Dennoch zeigte sich bezüglich des Überlebens der aufgebrachten Keime ein deutlicher Unterschied zwischen beschichtetem und unbeschichtetem Material. Als Ursache dafür könnten zwei grundlegende Mechanismen in Frage kommen: Zum einem die Hemmung der Anlagerung der Bakterien am Fremdmaterial, zum anderen eine zytotoxische Wirkung auf Bakterienzellen (Capeletti *et al.* 2014; D'Almeida *et al.* 2017).

Antiadhäsive Effekte eines Beschichtungssubstrates sind für die Prophylaxe von Bakterieninfektionen und Biofilmbildung wichtige Wirkmechanismen (Cozens und Read 2012). Die Adhäsionsstärke der Bakterien ist neben Material-assoziierten Faktoren auch von bakteriellen Eigenschaften wie Adhäsinen, Flagellen oder der Zellwandbeschaffenheit abhängig (Banerjee *et al.* 2011; Yin *et al.* 2012; Romanò *et al.* 2015). Pfeiffer *et al.* untersuchten bereits 2016 das Adhäsionsvermögen bakterieller Erreger auf PDMS-beschichteten Oberflächen. In diesen Voruntersuchungen konnte ein antiadhärenter Effekt von PDMS nachgewiesen werden. Am stärksten war dieser auf Stahl ausgeprägt, gefolgt von Glas und Polykarbonat (Pfeiffer *et al.* 2016).

Die vorliegende Arbeit hatte daher mit dem angewendeten Assay die Untersuchung der putativen Zytotoxizität zum Ziel. Es konnten verschiedene Einflussfaktoren auf die Effektstärke von PDMS beobachtet werden: Obwohl PDMS laut Hersteller auf allen Fremdmaterialien eine ebenmäßige, positiv geladene Oberfläche erzeugt, lässt sich anhand des Vergleiches der Materialien eine Abhängigkeit zwischen Materialoberflächeneigenschaften und dem wachstumshemmenden Effektes ableiten (Majumdar *et al.* 2009; Permanon GmbH Deutschland 2015). In den vorliegenden Untersuchungen setzte der wachstumshemmende Effekt auf rostfreiem Stahl und Polykarbonat erst wesentlich später ein, als auf Glas. Es ist daher anzunehmen, dass Eigenschaften des Materials, wie Porösität, Rauheit, freie Oberflächenenergie und elektrische Leitfähigkeit, bei der Interaktion mit PDMS eine große Rolle spielen (Kreis 2015; Romanò *et al.* 2015).

Rostfreier Stahl besitzt von den untersuchten Materialien die stärkste Rauheit und Unregelmäßigkeit, welches den Bakterien dadurch eine größere Angriffsfläche bietet (Mafu *et al.* 2011; Anton Schweizer 2017; Wu *et al.* 2018). Analog dazu wird in den Untersuchungen an Stahl die größte Anzahl vitaler Bakterien nach 72 Stunden beobachtet, gefolgt von Polykarbonat, dessen Rauheitswerte zwischen rostfreiem Stahl und Glas liegen (Mafu *et al.* 2011). Glas hingegen weist materialbedingt eine sehr ebenmäßige, hydrophobe Oberfläche mit geringer Rauheit auf. Trotz dieser Unterschiede ergaben sich auf den drei unbehandelten Materialien keine statistisch relevanten Unterschiede im Bakterienwachstum.

Die PDMS-Beschichtung auf Glas erzeugte einen antibakteriellen Effekt innerhalb von zwei Stunden. Es zeigte sich eine eindeutige Verminderung der Lebendkeime im Vergleich zum unbehandelten Material. Auf Polykarbonat und rostfreiem Stahl wurde dieser Effekt erst nach 24 Stunden nachgewiesen. Die antiadhäsiven Eigenschaften von Glas können demnach durch PDMS, noch besser als auf den anderen Materialien, verstärkt werden.

Idealerweise wird ein Beschichtungssubstrat benötigt, das die initiale Proteinadsorption und die Bakterien-Oberflächen-Interaktion minimiert (Romanò *et al.* 2015; Keum *et al.* 2017). Eine besondere Rolle bei der Anheftung von Bakterien an Fremdmaterialien spielen die Adhäsion-vermittelnden Proteine, sogenannte Adhäsine, die mittels Analoga und Rezeptor-Blocker gehemmt werden können (Ofek *et al.* 2003). In Bezug auf Silizium-basierte Substanzen beobachteten Banerjee *et al.* die Fähigkeit von PDMS Protein-*Fouling* zu unterdrücken (Banerjee *et al.* 2011). Ein daraus resultierendes verringertes Nährstoffangebot für Bakterien könnte die Anlagerung und Biofilmbildung erschweren. Antibakterielle Effekte von PDMS wurden bereits in früheren Studien beschrieben und sind auf die erzeugte hydrophobe und

positiv-geladene Oberfläche zurückzuführen (Romanò *et al.* 2015; Pfeiffer *et al.* 2016). Analoge Ergebnisse beobachteten Gupta *et al.* bei einer Silan-Xerogel Beschichtung (Gupta *et al.* 2016). In einer weiteren Studie konnte durch Polymerbeschichtung eine 80-90 %-ige Reduktion adhärerter *E. coli* an rostfreiem Stahl nachgewiesen werden (Cozens und Read 2012). Auch für die bereits angesprochenen Silberionen, für Hydroxyapatit, Chitosan, Albumin und Heparin wurden antiadhärente Eigenschaften beobachtet (Banerjee *et al.* 2011; Mhaske *et al.* 2015).

Die untersuchten Materialien rostfreier Stahl, Kunststoff und Glas (siehe Kapitel 1.1) besitzen ein breites Anwendungsspektrum im medizinischen Sektor. Mit dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine Beschichtung dieser Materialien mit PDMS medizinisch, technisch und wirtschaftlich denkbar wäre. Zusammenfassend lässt sich aus den Ergebnissen ableiten, dass ein Zusammenspiel von verminderter Adhäsion und bakteriostatischen Effekten zu einer signifikanten Reduktion von Bakterien an und auf Oberflächen führt. So könnte zukünftig mit PDMS-Beschichtungen die Adhäsion von Bakterien, Biofilmbildung und die Infektionsrate gesenkt werden.

5.4.2 Abhängigkeit der PDMS-Effekte von bakteriellen Eigenschaften

Die Anzahl Fremdkörper-assoziierte Infektionen nehmen aufgrund der steigenden Rate implantierter Fremdkörper stetig zu und stellen daher ein hochaktuelles medizinisches und ökonomisches Problem dar. Einhergehend damit stehen notwendige chirurgische Implantatentfernungen und der Langzeiteinsatz von Antibiotika, welcher wiederum die Entwicklung bakterieller Multiresistenzen fördert (Österreichische Gesellschaft für Infektionskrankheiten 2011; Oliveira *et al.* 2018). Bakterienarten unterscheiden sich im zellulären Aufbau, Stoffwechsel und den Virulenzfaktoren voneinander. Dies hat Einfluss auf die Wirksamkeit antibakterieller Substanzen. Aus den Ergebnissen dieser Arbeit lässt sich eine Abhängigkeit der PDMS-Effekte von bakterienspezifischen Eigenschaften ableiten, welche im Folgenden diskutiert werden soll.

Für *P. aeruginosa* und *S. epidermidis* erwies sich eine PDMS-Konzentration von 0,2 vol-% statistisch nachweislich als ausreichend zur Hemmung des Wachstums. Für die Hemmung von *E. coli* war eine deutlich höhere Konzentration von 2,0 vol-% notwendig. Die Ergebnisse zeigen einen konzentrationsabhängigen Effekt, der vermutlich auf die unterschiedliche Sensibilität der Bakterien gegenüber PDMS zurückzuführen ist.

Als weltweit häufigster Erreger von Infektionen des Urogenital- und Gastrointestinaltraktes weist *E. coli* zum Schutz vor externen Einflüssen häufig eine Kapsel, Haftpili, Fimbrien und plasmidkodierte Resistenzgene auf (Kaper *et al.* 2004; Fritsche 2016). Einige Stämme bilden darüber hinaus spezifische Toxine, Sporen und Transmembranpumpen (Kaper *et al.* 2004; Huang und Hull 2017; Hemeg 2017). Zusätzlich spielt der horizontale Gentransfer von Plasmiden und Phagen eine entscheidende Rolle. Dies kann zur Ausbildung multiresistenter Stämme führen und die Therapie erschweren (Kaye und Pogue 2015; Gupta *et al.* 2016; Robert Koch-Institut 2017). Diese Problematik tritt auch bei *P. aeruginosa* auf, der als einer der häufigsten Verursacher von Ventilator-assoziierten Infektionen, Katheter-assoziierten Harnwegsinfektionen und Wundinfektionen beschrieben wird (El-Fouly *et al.* 2015). Die Resistenzmechanismen sind oft von Bakterium zu Bakterium unterschiedlich, sodass eine Vielzahl unterschiedlich wirkender antibakterieller Substanzen untersucht werden muss (Li *et al.* 2017).

Jahrzehntelange Forschung an antibakteriellen Substanzen wiesen Zusammenhänge zwischen Zellwandaufbau, zellulären Anhängseln und der Stoffwechselaktivität von Bakterien mit den wachstumshemmenden Effekten nach (Capeletti *et al.* 2014; Chatterjee *et al.* 2015; Dakal *et al.* 2016). Während die Zellwanddicke und Anhängsel wie Pili permanente Virulenzfaktoren darstellen, besitzen Bakterien unter anderem auch die Fähigkeit auf externe Reize mit horizontalem Gentransfer, Mutationen oder Sporulation zu reagieren (Huang und Hull 2017; Francolini *et al.* 2017; Hemeg 2017). Die höhere Sensibilität Gram-negativer Bakterien auf Antibiotika und anderen antimikrobiellen Substanz im Gegensatz zu Gram-positiven ist allgemein bekannt (Hemeg 2017). Gram-abhängige Effekte für Ag-NP wurden in verschiedenen Studien nachgewiesen (Coughlan *et al.* 2008; Capeletti *et al.* 2014; Chatterjee *et al.* 2015). Die antibakterielle Aktivität von Ag-NP gegenüber *E. coli* war verglichen mit der antibakteriellen Wirkung gegenüber *S. aureus* hier deutlich stärker ausgeprägt (Dakal *et al.* 2016). Verantwortlich dafür wurde die bei Gram-negativen Erregern viel dünnere Peptidoglykanschicht angesehen. Diese besitzt viele negativ geladenen Lipopolysaccharide, an die Silberionen binden können. Bereits wenige Minuten nach Oberflächenkontakt von *E. coli* mit Ag-NP kommt es zu Membranschäden und die Ag-NP penetrieren die Zelle (Dakal *et al.* 2016). Es liegt die Vermutung nahe, dass ähnliche Mechanismen auch für Silizium-Moleküle zutreffen könnten. Allerdings können die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit diese Theorie nicht bestärken, da *E. coli* als Gram-negatives Bakterium von den untersuchten Bakterien am schwächsten im Wachstum durch PDMS beeinträchtigt wurde. Aus diesem Grund müssen zusätzliche bakterienspezifische Eigenschaften für die Wirkung in Betracht gezogen werden.

Die Bakterien unterscheiden sich des Weiteren in den Stoffwechselraten und Generationszeiten. Verglichen zu *P. aeruginosa* und *S. epidermidis* wies die Kultur von *E. coli* EcM1 ein viel

schnelleres Wachstum auf. Auf Grundlage der gewonnenen Ergebnisse, kann ein Zusammenhang zwischen bakterieller Teilungsrate und Stärke des antibakteriellen Effektes vermutet werden. *P. aeruginosa* hingegen wuchs von den untersuchten Bakterien am langsamsten und wies eine hohe Empfindlichkeit gegenüber PDMS auf. Somit ergibt sich die Annahme, dass eine Kultur mit kurzer Generationszeit den wachstumshemmenden Einfluss von PDMS überwinden kann. Die Beeinflussung der bakteriellen Proteinsynthese und DNA-Struktur ist sowohl für Antibiotika als auch für metallionische NP nachgewiesen (Hof *et al.* 2009; Lemire *et al.* 2013). Bei langsam ablaufender Proteinbiosyntheserate wäre demnach eine Interaktion der Siliziummoleküle mit bakteriellen Proteinen überhaupt erst oder effektiver möglich. Ag-NP haben, ebenso wie es für PDMS beschrieben wurde, eine positiv geladene Oberfläche. Diese ist für die elektrostatische Anziehung von negativ geladenen bakteriellen Zellkomponenten, wie die Glykokalix entscheidend (Sondi und Salopek-Sondi 2004; Dakal *et al.* 2016). Es wäre durchaus vorstellbar, dass die auf Ag-NP zutreffenden Mechanismen, den Ergebnissen entsprechend auch bei Silizium-NP eine Rolle spielen. Für die Virulenz von *S. epidermidis* ist die Veränderung der Stoffwechselaktivität von großer Bedeutung und trägt entscheidend zur Biofilmbildung bei (Gomes *et al.* 2014; Le *et al.* 2018; Oliveira *et al.* 2018). Der Einfluss von PDMS auf diese wird im Kapitel 5.4.4 ausführlich diskutiert.

5.4.3 Zytotoxische Effekte von PDMS auf bakterielle Erreger

Die vorliegende Arbeit hatte die Untersuchung toxischer Einflüsse von PDMS auf bakterielle Erreger zum Ziel. Es konnte sowohl eine Wachstumsbeeinträchtigung der untersuchten Bakterien in flüssiger Nährlösung, als auch eine Verminderung der Überlebensrate auf Fremdoberflächen nachgewiesen werden. Antibakterielle Eigenschaften sind schon seit langem für diverse Beschichtungssubstrate bekannt. Dazu gehören unter anderem Antibiotika, metallionische NP, Polymere, Hydroxyapatit, Stickstoffmonoxid, Chitosan und AMP.

Für die zugrundeliegenden biochemischen Mechanismen des wachstumshemmenden Einflusses von PDMS auf bakterielle Erreger können bislang nur Vermutungen herangezogen werden, die auf Basis des Wissens über Wirkmechanismen anderer Substanzen fungieren.

In flüssiger Nährlösung wurde die Wachstumsrate der Bakterienkulturen anhand der OD ermittelt. Die Interaktion zwischen Bakterium und Silikonöl ist auf elektrostatische Anziehungskräfte zurückzuführen, die für die bakteriziden Effekte essentiell sind (Sondi und Salopek-Sondi 2004). Zellzahl-, Lage- oder Dichteveränderung können eine Verminderung der elektrostatischen Anziehungskräfte verursachen. Die Veränderung der Dichte einer Kultur kann beispielsweise durch Apoptose ausgelöst werden. Durch die dabei auftretende Schädigung der Zellmembran

mitsamt der für die Anziehungskräfte wichtigen Anhängsel und Ladungsträger treten Zellinhalte aus. Dadurch wird die gemessene optische Dichte vermindert (Chatterjee *et al.* 2015). Übereinstimmende Ergebnisse wurden für Silber-, Zink und Magnesiumionen beobachtet (Coughlan *et al.* 2008; Applerot *et al.* 2010; Malini *et al.* 2015). Weiterführende Untersuchungen anderer Autoren zeigten die grundlegenden biochemischen Mechanismen, die bei der Interaktion von Silberionen und Bakterienzellen auftreten: Silberionen lagern sich an die negativ geladene Bakterienoberfläche an und führen zu sogenannten *pits* („Gruben“) in der Zellwand (Chatterjee *et al.* 2015). Durch diese erhöht sich die Permeabilität der Zellwand und die Silberionen gelangen in die Zelle. Intrazellulär führen sie beispielsweise zur Induktion des Retikuloendothelialen (ROS)-Systems und zur Freisetzung freier Sauerstoffradikale, die die Zellmembran zerstören, Enzyme der Atmung supprimieren und so den programmierten Zelltod einleiten können (Malini *et al.* 2015). Zusätzlich interkalieren Silberionen mit Nukleinsäuren und hemmen die Replikation und Transkription (Chatterjee *et al.* 2015). Durch die strukturelle Ähnlichkeit zwischen Ag-NP und Silizium-NP könnten die Kenntnisse auf PDMS anzuwenden sein.

Die positive Korrelation zwischen stärkerer Wachstumshemmung bei steigender Konzentration von PDMS deutet auf einen Konzentrations-abhängigen Effekt hin. Dieser lässt sich auch bei vielen antibakteriellen Substanzen, wie Antibiotika, Antiseptika oder auch Ag-NP nachweisen (Faria *et al.* 2014; Dakal *et al.* 2016; Ciofu *et al.* 2017; Francolini *et al.* 2017). Bei diesen Substanzen wurden ab bestimmten Grenzwerten auch zytotoxische Wirkungen gegenüber humanen Zellen beobachtet (Dakal *et al.* 2016). Die Auswahl der geeigneten Konzentration spielt daher in Hinsicht auf potentielle Nebenwirkungen eine entscheidende Rolle. In den Untersuchungen lag die maximale Wirkkonzentration bei 5,0 vol-% bis 7,0 vol-%, über der es zu keiner Steigerung der Effekte kam. Nichtsdestotrotz starben bei maximaler Konzentration nicht 100 % der bakteriellen Erreger ab. Der verzögerte Effekteintritt von PDMS könnte einerseits durch die Beeinträchtigung des Stoffwechsels der Bakterien und andererseits durch Resistenzmechanismen, Rezeptorblockade oder Verminderung von Nährstoffen erklärt werden.

In der Literatur wurden schon für Silizium-basierte Substanzen antibakterielle, -mykotische und -virale Effekte beschrieben (Yan und Li 2008a, 2008b; Besinis *et al.* 2014; Pfeiffer *et al.* 2016). Übereinstimmend mit den präsentierten Ergebnissen verringerte sich die Lebendkeimzahl von *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* und *C. albicans* nach Zugabe von Silikonöl in einem Flüssignährmedium signifikant (Yan und Li 2008a). In einer anderen Studie konnte gezeigt werden, dass die Umhüllung von Antibiotika mit Siliziumdioxidpartikeln die Multiresistenz eines Testkeimes überwinden kann (Capeletti *et al.* 2014). Ursächlich dafür wird die Interaktion zwischen der Peptidoglykanschicht der Zellmembran von Bakterien und den Sacchariden und Hydroxylgruppen des Siliziumdioxids über Wasserstoffbrückenbindungen postuliert, die zur

Destabilisierung der Bakterienmembran führt (Capeletti *et al.* 2014). Auf der Grundlage dieser Ergebnisse zu den antibakteriellen Eigenschaften Silizium-basierter Substanzen lässt sich die Ableitung biochemischer Mechanismen von anderen antimikrobiellen Substraten auf PDMS vermuten. Die durchgeführten Assays lassen keine qualitativen Aussagen zu den wachstumshemmenden Effekten von PDMS zu. Weiterführende Untersuchungen wären hierfür notwendig.

5.4.4 Biofilmbildung unter dem Einfluss von PDMS

Um sich vor äußeren Einflüssen zu schützen, haben Bakterien im Laufe der Zeit eine Vielzahl von Resistenzmechanismen entwickelt. Durch horizontalen Gentransfer von Plasmiden oder Transposons, Spontanmutationen oder die Expression von Resistenzgenen können bakterielle Erreger Stoffwechselfvorgänge erwerben, verändern und anpassen oder z. B. aktive Pumpen zum Transport von Antibiotika aus der Zelle bilden. Dadurch können sie sich der Wirkung antibakterieller Substanzen entziehen (Hemeg 2017).

Eine weitere Besonderheit stellt die Fähigkeit zur Bildung von Biofilmen dar. Bakterielle Erreger verbinden sich Oberflächen-assoziiert und passen ihre physiko-chemischen Eigenschaften so an, dass sie größtenteils vor herkömmlichen antimikrobiellen Substanzen geschützt sind. Der Stoffwechsel von Bakterien im Biofilm ist im Vergleich zu planktonischen Bakterien deutlich reduziert, sodass sie weniger empfänglich für Bakterizide sind (Singh *et al.* 2017; Koo *et al.* 2017). Aus diesem Grund ist die Forschung an innovativen, antimikrobiellen Substanzen essentiell (Mielich-Süss und Lopez 2015; Oliveira *et al.* 2018). Die Prävention der Entstehung von Biofilmen stellt bei der Bekämpfung Biofilm-assoziiertes nosokomialer Infektionen die wichtigste Aufgabe dar (Romling und Balsalobre 2012; Gupta *et al.* 2016; Francolini *et al.* 2017). Dazu gehört die Unterbindung der initialen Adhäsion und Vernetzung der Bakterien untereinander sowie der Störung der Kommunikation mittels *Quorum sensing* (Romling und Balsalobre 2012; Gupta *et al.* 2016). Durch eine Beschichtung mit PDMS erhofft man sich in diese Mechanismen eingreifen zu können, so wie es für andere metallionische NP bereits gezeigt werden konnte (Sondi und Salopek-Sondi 2004; Banerjee *et al.* 2011; Francolini *et al.* 2017).

Die Untersuchung der Biofilmbildung aus Polypropylen mit einer 2 vol-%igen PDMS-Beschichtung konnte eine Verminderung der entstandenen Biofilmmenge bei 76 % der untersuchten monokulturellen Bakterien bestätigen (siehe Abbildung 26 bis Abbildung 30). Dieses Ergebnis spiegelt die wachstumshemmende Wirkung von PDMS wider. Dementsprechend hätte PDMS einen Vorteil gegenüber den meisten herkömmlichen Antibiotika, die keine oder nur geringere Wirkung auf die Entstehung von Biofilmen zeigen (Donlan 2002). Durch die

Verhinderung der Biofilmentstehung könnte die Zahl an Infektionen und den damit einhergehenden Komplikationen drastisch gesenkt werden. Dies würde eine Abnahme der Liegezeiten im Krankenhaus, des Antibiotikaeinsatzes sowie der Infekt-assoziierten Mortalität und eine wirtschaftlich verbesserte Effizienz mit sich bringen.

Die Anti-Biofilm-Aktivität erwies sich von Bakterium zu Bakterium als unterschiedlich stark, sodass spezifische bakterielle Eigenschaften den Effekt von PDMS beeinflussen zu scheinen. Die unterschiedlichen Empfindlichkeiten verschiedener Bakterien gegenüber einer antibakteriellen Substanz sind bereits bei anderen Substraten aufgefallen. Ursächlich dafür sind Unterschiede im phenotypischen und genotypischem Aufbau jedes Bakteriums. Im Gegensatz zu den Untersuchungen in flüssiger PDMS-Lösung konnte im Biofilm Assay an beschichteten Oberflächen eine stärkere Wachstumshemmung der Gram-positiven Bakterien im Vergleich zu den Gram-negativen Bakterien beobachtet werden. Analog zu den Ergebnissen zeigten vergleichende Studien eine stärkere Inhibierung des Wachstums von *S. epidermidis* durch eine Ag-NP-Beschichtung im Gegensatz zu *P. aeruginosa* (Yan und Li 2008a; Kalishwaralal *et al.* 2010). Auch in der Literatur wird *S. epidermidis*, übereinstimmend mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit als starker Biofilmbildner beschrieben (Buttner *et al.* 2015). Dies scheint einerseits am Wandaufbau und andererseits durch spezifische Virulenzfaktoren begründet. Der verwendete Stamm besitzt beispielsweise interzelluläre Adhäsine, wie PIA, mit denen die Bakterien sich untereinander vernetzen und aneinander haften können. Zusätzlich sezernieren viele Stämme von *S. epidermidis* das Autolysin AtIE, eine bakterielle Peptidoglykanhydrolase, die eine wichtige Rolle bei der Adhäsion an nativen Oberflächen spielt (Shida *et al.* 2013; Buttner *et al.* 2015). Die Ergebnisse lassen eine Abhängigkeit zwischen Dicke des gebildeten Biofilmes und Stärke der Wachstumshemmung schlussfolgern. Dies wird besonders deutlich, wenn man die Effekte auf *S. epidermidis* und *B. subtilis* vergleicht. Die entstandene Biofilmmenge verminderte sich bei *S. epidermidis* um 60 %, während bei *B. subtilis* eine Verminderung von nur 23 % nachgewiesen werden konnte. Die Biofilmbildung ohne Beschichtung war bei *S. epidermidis* um circa 77 % stärker ausgeprägt als bei *B. subtilis*. Nachweislich konnte daher die Biofilmentstehung eines stark Biofilm-bildenden Bakteriums vermindert werden.

Zusätzlich zu den bereits angesprochenen Silbermolekülen ist eine inhibierende Wirkung auf die Anheftung und Proliferation von Biofilmen auch für Zink- und Magnesium-Ionen belegt (Coughlan *et al.* 2008; Ding *et al.* 2012; Faria *et al.* 2014). Ein relativ neuartiges Produkt, das die Biofilmentstehung von *S. aureus* um 95 % senken konnte, ist das sogenannte Nisin, ein von Milchsäurebakterien produziertes Peptid mit antibakterieller Aktivität gegenüber Gram-positiven Erregern (Shin *et al.* 2016; Oliveira *et al.* 2018).

Trotz der hoffnungsvollen Ergebnisse von Substanzen auf metallionischer Basis wurden auch hier Resistenzen beobachtet (Banerjee *et al.* 2011; Faria *et al.* 2014). Zusätzlich zeigten sich bei der Akkumulation und Ablagerung von Ag-, Zink- und Kuper-NP Schäden an Leber, Milz und Lunge, die mit einer Funktionsstörung einhergingen (Hemeg 2017).

Neben den bakterienspezifischen Eigenschaften spielen selbstverständlich auch die physiko-chemischen Eigenschaften der PDMS-Beschichtung eine entscheidende Rolle. Hervorzuheben ist hierbei die Erzeugung der hydrophoben Oberfläche, die eine Hemmung der initialen Anlagerung der Bakterien bewirkt und somit der Biofilmbildung entgegenwirkt. Eine solche hydrophobe Oberfläche wird z. B. auch durch Beschichtung mit Silan-Xerogel erzeugt und führte nachweislich zu antiadhäsiven Eigenschaften (Ding *et al.* 2012; Gupta *et al.* 2016; Francolini *et al.* 2017; Thampi *et al.* 2017).

Im Gegensatz zu den bisher dargestellten Ergebnissen wurden jedoch auch abweichende Ergebnisse beobachtet. 20 % der Bakterien, unter anderem *P. aeruginosa* und *E. coli* EcM1 wiesen eine Steigerung der Biofilmmenge auf. Die Ergebnisse sind kongruent zu denen von Ozdamar *et al.*, die den Effekt von 10 %-igem Silikonöl in Lösung auf verschiedene bakterielle Stämme untersucht haben und eine signifikant höhere und längere Überlebensrate von *P. aeruginosa* im Vergleich zu *S. epidermidis* nachwiesen (Ozdamar *et al.* 1999).

Im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen wachstumshemmenden Effekten von PDMS auf *P. aeruginosa* in planktonischer Kultur (siehe Kapitel 4.2.2), zeigte sich eine gegensätzliche Wirkung bei der Untersuchung der Biofilmbildung desselben Stamms. Möglicherweise könnten *P. aeruginosa* im Biofilm durch veränderte Oberflächenstrukturen oder Stoffwechselvariabilität einen Wachstumsvorteil entwickeln.

Auch bei *E. coli* EcM1 wurde eine vermehrte Biofilmproduktion auf der PDMS-Oberfläche beobachtet. Vorversuche zeigten eine veränderte Anlagerung auf PDMS im Vergleich zu einer reinen Materialoberfläche ohne Beschichtung (Pfeiffer *et al.* 2016). Im elektronenmikroskopischen Bild wurde beobachtet, dass sich die Bakterien näher beieinander anlagern als auf unbehandelter Polykarbonatoberfläche und so eine einfachere Interaktion untereinander gelingt. Zusätzlich führen umweltbedingte Stresssituationen und Nährstoffmangel bei *E. coli* zu Veränderungen der Genexpression, was in verminderten Wachstumsraten resultiert (Donlan 2002; Jang *et al.* 2017). Wie in Kapitel 5.4.2 diskutiert, ist die Wirkung von PDMS bei Bakterien mit geringerer Wachstumsrate kleiner, als bei stark wachsenden Vertretern. Es ist zu vermuten, dass die Interaktion von *E. coli* EcM1 durch engeres Zusammenlagern auf der

Oberfläche durch PDMS verbessert wird und eine wachstumshemmende Wirkung auf einer PDMS-Beschichtung im Gegensatz zu in flüssiger Lösung nicht stattfindet.

Zusammenfassend ließ sich feststellen, dass in Hinblick auf die Adhäsion und auf die Wachstumshemmung PDMS zur Prävention von Biofilmen für eine Vielzahl von Bakterienstämmen gute Ansätze und Vorteile gegenüber anderen Substanzen aufzeigt. Aufgrund der starken Abhängigkeit der Effekte von der Bakterienart und auch des jeweiligen Stamms sind die Ergebnisse schwer zu verallgemeinern. Anschließende Untersuchungen mit höheren Beschichtungskonzentrationen von bis zu 5,0 % PDMS wären in Erwägung zu ziehen, um die bisher unbeeinflussten Biofilme zu erreichen.

Ein besonderes Augenmerk ist hierbei auf die Biofilm-assoziierten Infektionen zu werfen. Die Grundlage des Biofilmes von *S. epidermidis* zum Beispiel wird innerhalb der ersten 24 Stunden nach Kontakt zwischen Bakterium und Oberfläche ausgebildet (Su *et al.* 2016). Innerhalb dieses Zeitraumes würde PDMS seine Wirkung entfalten können und der Biofilmbildung vorbeugen. Um Entzündungsreaktionen und Infektionsvorgänge, die sich in den ersten 24 Stunden nach Fremdkörperanlage etablieren zu bekämpfen, wäre eine Kombination mit anderen antibakteriellen Stoffen kürzerer Wirkdauer denkbar.

5.5 Beurteilung der Anwendbarkeit in der Klinik

Aufgrund des zunehmenden Einsatzes von Fremdmaterialien nehmen Fremdkörper-assoziierte Infektionen in der Klinik weiterhin einen großen Stellenwert ein. Daraus ergibt sich eine Vielzahl von Problemen im Gesundheitssystem: Infektionen mit Neigung zur Sepsis, Implantatkomplikationen, verlängerte Liegeaufenthalte, vermehrte Operationen und Medikamentengabe, die wiederum zu dem Einsatz von Fremdkörpern führen. Es entsteht ein Teufelskreis (Trentinaglia *et al.* 2018). Diese Kausalkette führt zu höheren wirtschaftlichen Ausgaben. Laut WHO betragen im Jahr 2011 die Kosten für Krankenhaus-assoziierte Infektionen in Europa sieben Billionen Euro. Der Großteil davon ist auf die Anwendung invasiver medizinischer Geräte zurückzuführen.

PDMS verkörpert aufgrund seiner antiadhäsiven und antibakteriellen Eigenschaften, als auch wegen der einfachen Handhabbarkeit, ein leicht anzuwendendes Beschichtungssubstrat.

Im klinischen Alltag sind bereits diverse Beschichtungssubstrate etabliert, von denen einige näher betrachtet werden können. Die Anwendung von Silber-basierten Beschichtungen beispielsweise erfolgt auf peripheren und zentralen Venenkathetern (ZVK), Blasenkathe tern, Prothesen und Wundauflagen (Ahearn *et al.* 1995; Taglietti *et al.* 2014; Dhas *et al.* 2015). In der Orthopädie,

Unfallchirurgie und Zahnchirurgie werden Beschichtungssubstrate verwendet um die mechanischen Eigenschaften von Implantaten der gewünschten Belastbarkeit und Haltbarkeit anzupassen. So werden Titan- und Stahlimplantate zusätzlich mit Hydroxyapatit oder Antibiotika-behaftetem Knochenzement beladen (Trentinaglia *et al.* 2018).

Die Untersuchungen von PDMS in dieser Arbeit zeigten einen wachstumshemmenden Effekt ohne Veränderung von Form und Beschaffenheit der Oberfläche. Darüber hinaus konnte nachgewiesen werden, dass der wachstumshemmende Effekt auch nach erneutem Erregerkontakt innerhalb von 24 Stunden noch für mindestens 72 Stunden anhält, wenn auch in abgeschwächter Ausprägung. Diese Zeiträume stimmen mit der benötigten Zeit für die Biofilmbildung der Bakterien überein (Su *et al.* 2016). Im klinischen Alltag sind solche Eigenschaften essentiell, um wirtschaftlich und medizinisch bestmögliche Ergebnisse zu erhalten.

Der antibakterielle Wirkeffekt trat bei Anwendung auf unterschiedlichen Materialien unterschiedlich schnell ein. Auf Stahl und Polykarbonat konnte ein Wirkungszeitraum zwischen 24 und 96 Stunden nach Erregerkontakt beobachtet werden. Bei einer Glasoberfläche hingegen konnte bereits nach 2 Stunden ein antibakterieller Effekt nachgewiesen werden. Dieser war nach 72 Stunden im untersuchten Zeitraum am größten. Aufgrund des verzögerten Eintrittes des gewünschten Effektes wäre der Einsatz auf kurzzeitig inserierten Fremdkörpern, wie OP-Materialien oder Einmalkatheter, weniger sinnvoll.

Ausgehend von den gewonnenen Ergebnissen wäre eine Reihe von Anwendungsbereichen denkbar. Es gibt zahlreiche Fremdkörper, die für den untersuchten Zeitraum im menschlichen Körper verweilen und für eine PDMS-Beschichtung geeignet wären: Venenverweilkanülen bestehen beispielsweise aus Polykarbonat und dienen der intravenösen Gabe von Medikamenten und Flüssigkeit. Die Rate an assoziierten Hautinfektionen steigt mit längerer Liegedauer. Eine Beschichtung dieser Katheter könnte die Anzahl an Infektionen minimieren. Weitere geeignete Fremdkörper wären Harnblasenkatheter, Portnadeln, Periduralkatheter, ZVK, *Fixateur externe*, Klammer- und Nahtmaterial, Schlauch- und Beatmungssysteme oder Wundeinlagen von VAC-Systemen (Capeletti *et al.* 2014; Trentinaglia *et al.* 2018). Einen weiteren Vorteil stellt die im Gegensatz zur systemischen Antibiotikatherapie lokale Anwendung des Beschichtungssubstrates dar, die mit höheren Dosen und geringeren systemischen Nebenwirkungen einhergeht. Besonders immunsupprimierte und vorbehandelte Patienten könnten daher durch den Einsatz von PDMS profitieren. Ähnliche Ergebnisse konnten Keum *et al.* zeigen, die für eine Polymer-beschichtete PDMS-Oberfläche und Francolini *et al.*, die für Chitosan-basierte Beschichtungen eine antiadhärente und antibakterielle Wirkdauer von sieben Tagen beobachteten (Keum *et al.* 2017; Francolini *et al.* 2017). Zusätzlich wäre die Anwendung

von PDMS auf Oberflächen in Patienten- und Arbeitszimmern, wie Badarmaturen, Stahlrohren, Türklinken, Tischen oder Betten und in Operationssälen denkbar. Diese könnten regelmäßig nach der üblichen Reinigung mit PDMS beschichtet werden. Laut Hersteller hält die Oberflächenversiegelung gegen Schmutz zwischen 3 und 12 Monate je nach Beanspruchung an, sodass eine Erneuerung nicht täglich notwendig wäre. Das Konzentrat wird lediglich verdünnt, aufgesprüht, trocken gerieben und mit Wasser abgespült. Diese Angaben beruhen auf Erfahrungsberichten in der Automobil- und Schiffsbranche (Deardorff 2011). Da herkömmliche Oberflächendesinfektionsmittel nur für kurze Zeit anhalten, sind Oberflächen im Patientenzimmer stark kontaminiert. Besonders für den in dieser Arbeit untersuchten Testkeim *S. epidermidis* der als physiologischer Hautkeim auch Fremdoberflächen besiedelt könnte die oben beschriebene Anwendung von PDMS sinnvoll sein. Der Erfolg einer länger anhaltenden Beschichtung wurde bereits mit quaternären Ammoniumsalzen beobachtet, die das mikrobielle Wachstum auf biomedizinischen Materialien, Implantaten und Wassertransportsystemen eindämmen können (Majumdar *et al.* 2009). Untersuchungen zu Antibiotika-, Zink- und Silberbeschichtungen ließen bisher keine Langzeitanwendung zu, da diese sich nach einiger Zeit vom Material ablösten, zu Schäden am umliegenden Gewebe und allergischen Reaktionen führten (Valerio *et al.* 2004; Taglietti *et al.* 2014).

Eine weitere grundlegende Limitation der Anwendung von Antibiotika ist die Resistenzentwicklung. Gezielte Erreger- und Resistenzdiagnostik ist notwendig, da die inadäquate Anwendung von Breitbandantibiotika Resistenzbildung nur noch weiter fördern (Keum *et al.* 2017). Capeletti *et al.* fanden heraus, dass durch Umhüllung herkömmlicher Antibiotika mit Silizium-NP multiresistente Bakterien wieder Sensibilität aufweisen konnten (Capeletti *et al.* 2014). Somit gäbe es eine hoffnungsvolle Therapie für nicht-Antibiotika-sensible Erreger, mit besseren Heilungsraten und kürzeren Krankenhausaufenthaltszeiten. Ob eine Erhöhung der Konzentration von PDMS den wirkungshemmenden Prozess verlängern könnte und damit ein langfristiger Einsatz möglich wäre ohne zu vermehrten Nebenwirkungen zu führen, sollte Thema weiterer Untersuchungen sein.

5.6 Ausblick

In der vorliegenden Arbeit konnte ein das Bakterienwachstum-hemmender Effekt des vorgestellten Beschichtungssubstrates PDMS nachgewiesen werden. Die Ergebnisse zeigten antibakterielle Einflüsse von PDMS sowohl bei planktonischen bakteriellen Erregern in flüssiger Lösung und auf Fremdmaterialien sowie bei Biofilmen. Anhand des angewendeten Assays wurde eine Endpunktanalyse zu den überlebenden KBE nach dem untersuchten Zeitraum ermittelt. Die zugrundeliegenden molekularen und biochemischen Prozesse zur Aufklärung des

Wirkmechanismus können nur vermutet werden und müssen Bestandteil weiterführender Forschung sein. Die genaue Kenntnis des Wirkungsmechanismus könnte dabei helfen, Beschichtungssubstrate in der Klinik bei bekanntem Erregerspektrum gezielt einzusetzen.

Ein weiterer in der Klinik wichtiger Aspekt blieb in der vorliegenden Arbeit jedoch unberücksichtigt: Es handelte sich um eine *in vitro*, labormedizinische Untersuchung mit Reinkulturen. In der Umwelt kommen Bakterien aber häufig in Mischkulturen vor. Es müsste demzufolge überprüft werden, ob die Effekte von PDMS auch bei Mischkulturen nachgewiesen werden können, bevor sich *in vivo* Studien anschließen könnten. Zur genauen Festlegung der effektivsten und maximalen Konzentration müssten auch hier detailliertere Untersuchungen folgen.

Des Weiteren wäre es interessant das Verhalten von PDMS auch auf Viren und Pilze zu erörtern. Aufgrund der hochaktuellen Situation wäre eine Untersuchung des COVID-19-Virus anzustreben, um die Verbreitung über Oberflächen besonders im Krankenhaus, Gastronomie- und Kulturgewerbe einzudämmen. Zur genauen Festlegung der effektivsten und maximalen Konzentration muss zusätzlich die Testung weiterer Konzentrationen erfolgen.

Das Ziel der nächsten Jahre muss sein, die Ausbreitung von Infektionskrankheiten, vor allem in Krankenhäusern und anderen Gemeinschaftseinrichtungen, wie Pflegeheimen, Schulen, Kindergärten, Flughäfen, öffentlichen Verkehrsmitteln und Gebäuden vorzubeugen und einzuschränken. Beschichtungssubstrate, wie das vorgestellte PDMS, stellen dabei einen innovativen Ansatz zur Lösung der Problematik dar.

6 Zusammenfassung

Der Einsatz von implantierbaren Fremdkörpern ist in der heutigen Zeit ein unverzichtbares Element bei der Diagnostik und Therapie von Krankheiten (Francolini *et al.* 2017). Im Zusammenhang mit Fremdmaterialien steht die Risikoerhöhung von assoziierten Infektionen durch bakterielle Erreger (Cueto-Lopez *et al.* 2016; Francolini *et al.* 2017). Zur Lösung dieser Problematik werden antibakterielle Substrate benötigt, die im Optimalfall eine bakterizide Wirkung mit antiadhäsiven Eigenschaften vereinen (Francolini *et al.* 2017). In klinischer Anwendung befinden sich hierfür bereits Antibiotika, Desinfektionsmittel und metallionische Lösungen. Hervorzuheben sind dabei Ag-NP, deren antibakteriellen Eigenschaften schon lange nachgewiesen sind. In Form von Beschichtungssubstraten können sie lokal angewendet werden und der Bakterienansiedlung und -vermehrung entgegenwirken. Trotz jahrelanger intensiver Forschung auf dem Gebiet konnte die Rate an Material-assoziierten Infektionen in den letzten Jahren bislang nicht ausreichend gesenkt werden. Aus diesem Grund richtete sich das Augenmerk dieser Arbeit auf ein innovatives aus Silizium-Molekülen aufgebautes Beschichtungssubstrat, das sogenannte PDMS.

Die Ergebnisse konnten wachstumshemmende Effekte für alle untersuchten Konzentrationen von PDMS auf bakterielle Erreger in der Flüssigkultur nachweisen. Als statistisch nachgewiesene Effektkonzentration der Beschichtung konnte eine Konzentration von 2,0 vol-% PDMS ermittelt werden. Es zeigte sich ein maximaler wachstumshemmender Effekt zwischen 5,0 vol-% und 7,0 vol-% PDMS. Neben der Konzentrationsstärke, war der Effekt auch vom zu beschichtenden Material und vom getesteten Bakterienstamm selbst abhängig. Es konnte ein Zusammenhang zwischen der Generationszeit des Bakterienstamms und der wachstumshemmenden Potenz beobachtet werden.

In Form der Beschichtung zeigte sich auf allen untersuchten Materialien ein individuell ausgeprägter wachstumshemmender Effekt. Auf Glas konnte ein überdurchschnittlich schneller Eintritt des wachstumshemmenden Effektes im Vergleich zu Stahl und Polykarbonat beobachtet werden. Die Wachstumshemmung hielt für den gesamten Untersuchungszeitraum von 72 Stunden an. Zusätzlich zeigte sich nach erneutem Keimauftrag auf beschichtete Oberflächen eine fortwährende antibakterielle Wirkung. Des Weiteren wurde die Biofilmbildung bakterieller Erreger unter PDMS-Einfluss untersucht. Es konnte ein die Biofilmbildung-hemmender Effekt bei 80 % der untersuchten Bakterienstämme nachgewiesen werden. Zusammenfassend kommen für die antibakteriellen Effekte von PDMS sowohl antiadhäsive als auch toxische Wirkungen in Frage. In ein solches innovatives Beschichtungssubstrat können große Hoffnungen zur Lösung eines grundlegenden Problems der modernen Medizin gelegt werden.

7 Literaturverzeichnis

- Abdallah, M.; Benoliel, C.; Jama, C. *et al.* (2014): Thermodynamic prediction of growth temperature dependence in the adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* to stainless steel and polycarbonate. In: *Journal of food protection* 77 (7), S. 1116–1126.
- Ageorges, V.; Monteiro, R.; Leroy, S. *et al.* (2020): Molecular determinants of surface colonisation in diarrhoeagenic *Escherichia coli* (DEC): from bacterial adhesion to biofilm formation. In: *FEMS microbiology reviews* 44 (3), S. 314–350.
- Ahearn, D. G.; May, L. L.; Gabriel, M. M. (1995): Adherence of organisms to silver-coated surfaces. In: *Journal of Industrial Microbiology* 15 (4), S. 372–376.
- Anton Schweizer (2017): Rohrrauhigkeit. Friedrichshafen.
- Applerot, G.; Abu-Mukh, R.; Irzh, A. *et al.* (2010): Decorating parylene-coated glass with ZnO nanoparticles for antibacterial applications: a comparative study of sonochemical, microwave, and microwave-plasma coating routes. In: *ACS applied materials & interfaces* 2, S. 1052–1059.
- Askari, F.; Shafieian, M.; Solouk, A.; Hashemi, A. (2017): A comparison of the material properties of natural and synthetic vascular walls. In: *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* 71, S. 209–215.
- Banerjee, I.; Pangule, R. C.; Kane, R. S. (2011): Antifouling coatings. Recent developments in the design of surfaces that prevent fouling by proteins, bacteria, and marine organisms. In: *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)* 23 (6), S. 690–718.
- Bast, Eckhard (2014): Mikrobiologische Methoden. Eine Einführung in grundlegende Arbeitstechniken. 3., überarb. und erw. Aufl. Berlin: Springer Spektrum.
- Bello, A.; Peteroy-Kelly, M. A. (2007): Research Note: The relationship between triclosan antimicrobial product usage and the susceptibility of the staphylococci to the antibiotic ciprofloxacin. In: *BIOS* 78 (2), S. 51–57.
- Benie, C.; Dadie, A.; Guessennd, N. *et al.* (2017): Characterization of Virulence Potential of *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Bovine Meat, Fresh Fish, and Smoked Fish. In: *European journal of microbiology & immunology* 7 (1), S. 55–64.
- Bernardes, P.; Andrade, N. J. de; Ferreira, S. *et al.* (2010): Assessment of hydrophobicity and roughness of stainless steel adhered by an isolate of *Bacillus cereus* from a dairy plant. In: *Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]* 41 (4), S. 984–992.

- Besinis, A.; Peralta, T. de; Handy, R. D. (2014): The antibacterial effects of silver, titanium dioxide and silica dioxide nanoparticles compared to the dental disinfectant chlorhexidine on *Streptococcus mutans* using a suite of bioassays. In: *Nanotoxicology* 8 (1), S. 1–16.
- Biswaro, L. S.; da Costa Sousa, M. G.; Rezende, T. M. B *et al.* (2018): Antimicrobial Peptides and Nanotechnology, Recent Advances and Challenges. In: *Frontiers in microbiology* 9, S. 855.
- Buttner, H.; Mack, D.; Rohde, H. (2015): Structural basis of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation: mechanisms and molecular interactions. In: *Frontiers in cellular and infection microbiology* 5, S. 14.
- Cao, H.; van Heel, A. J.; Ahmed, H.; Mols, M.; Kuipers, O. P. (2017): Cell surface engineering of *Bacillus subtilis* improves production yields of heterologously expressed alpha-amylases. In: *Microbial cell factories* 16 (1), S. 56.
- Capeletti, L.; Oliveira, L. de; Gonçalves, K. de A.; Oliveira, J. *et al.* (2014): Tailored silica-antibiotic nanoparticles. Overcoming bacterial resistance with low cytotoxicity. In: *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids* 30 (25), S. 7456–7464.
- Chatterjee, T.; Chatterjee, B.; Majumdar, D.; Chakrabarti, P. (2015): Antibacterial effect of silver nanoparticles and the modeling of bacterial growth kinetics using a modified Gompertz model. In: *Biochimica et biophysica acta* 1850 (2), S. 299–306.
- Ciofu, O.; Rojo-Molinero, E.; Macia, M. D.; Oliver, A. (2017): Antibiotic treatment of biofilm infections. In: *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica* 125 (4), S. 304–319.
- Coffey, B. M.; Anderson, G. G. (2014): Biofilm formation in the 96-well microtiter plate. In: *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 1149, S. 631–641.
- Coughlan, A.; Boyd, D.; Douglas, C. W. I.; Towler, M. R. (2008): Antibacterial coatings for medical devices based on glass polyalkenoate cement chemistry. In: *Journal of materials science. Materials in medicine* 19 (12), S. 3555–3560.
- Cozens, D.; Read, R. C. (2012): Anti-adhesion methods as novel therapeutics for bacterial infections. In: *Expert review of anti-infective therapy* 10 (12), S. 1457–1468.
- Cueto-Lopez, M. de; Del Pozo-Leon, J. L.; Franco-Alvarez de Luna, F.; Marin-Arriaza, M. (2016): Diagnostico microbiologico de las infecciones asociadas a dispositivos biomedicos. In: *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica* 34 (10), S. 655–660.
- Dakal, T. C.; Kumar, A.; Majumdar, R. S.; Yadav, V. (2016): Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles. In: *Frontiers in microbiology* 7, S. 1831.

- D'Almeida, M.; Attik, N.; Amalric, J.; Brunon, C. *et al.* (2017): Chitosan coating as an antibacterial surface for biomedical applications. In: *PloS one* 12 (12), e0189537.
- Deardorff, Jim (2011): Permanon. Nanotechnology-based surface protection reduces factors that cause coating failures. In: *Metal Finishing* 109 (1-2), S. 29–31.
- Demnati, I.; Grossin, D.; Marsan, O.; Bertrand, G. *et al.* (2015): Comparison of Physical-chemical and Mechanical Properties of Chlorapatite and Hydroxyapatite Plasma Sprayed Coatings. In: *The open biomedical engineering journal* 9, S. 42–55.
- Dhas, S. P.; Anbarasan, S.; Mukherjee, A.; Chandrasekaran, N. (2015): Biobased silver nanocolloid coating on silk fibers for prevention of post-surgical wound infections. In: *International journal of nanomedicine* 10 Suppl 1, S. 159–170.
- Ding, X.; Yang, C.; Lim, T. P. *et al.* (2012): Antibacterial and antifouling catheter coatings using surface grafted PEG-b-cationic polycarbonate diblock copolymers. In: *Biomaterials* 33 (28), S. 6593–6603.
- Donlan, Rodney M. (2002): Biofilms. Microbial life on surfaces. In: *Emerging infectious diseases* 8 (9), S. 881–890.
- Donlan, Rodney M.; Costerton, J. William (2002): Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. In: *Clinical microbiology reviews* 15 (2), S. 167–193.
- Donnenberg, Michael (2013): *Escherichia coli*. Pathotypes and Principles of Pathogenesis. 2nd ed. Burlington: Elsevier Science.
- El-Fouly, M. Z.; Sharaf, A. M.; Shahin, A.A.M.; El-Bialy, Heba A.; Omara, A.M.A. (2015): Biosynthesis of pyocyanin pigment by *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 8 (1), S. 36–48.
- Ewig, Santiago (Hg.) (2017): *Nosokomiale Pneumonie*. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg.
- Faria, A. F. de; Martinez, D. S. T.o; Meira, S. M. M. *et al.* (2014): Anti-adhesion and antibacterial activity of silver nanoparticles supported on graphene oxide sheets. In: *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces* 113, S. 115–124.
- Flemming, Hans-Curt; Wingender, Jost (2001): Biofilme—die bevorzugte Lebensform der Mikroorganismen. In: Erwin Beck (Hg.): *Faszination Lebenswissenschaften*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH, S. 247–265.
- Francolini, I.; Vuotto, C.; Piozzi, A.; Donelli, G. (2017): Antifouling and antimicrobial biomaterials: an overview. In: *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica* 125 (4), S. 392–417.

- Fritsche, Olaf (Hg.) (2016): Mikrobiologie. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Fu, B.; Wu, Q.; Dang, M. *et al.* (2017): Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation by Traditional Chinese Medicinal Herb *Herba patriniae*. In: *BioMed research international* 2017, S. 9584703.
- Gomes, F.; Teixeira, P.; Oliveira, R. (2014): Mini-review. *Staphylococcus epidermidis* as the most frequent cause of nosocomial infections: old and new fighting strategies. In: *Biofouling* 30 (2), S. 131–141.
- Gristina, A. G.; Hobgood, C. D.; Webb, L. X.; Myrvik, Q. N. (1987): Adhesive colonization of biomaterials and antibiotic resistance. In: *Biomaterials* 8 (6), S. 423–426.
- Gupta, P.; Sarkar, S.; Das, B.; Bhattacharjee, S.; Tribedi, P. (2016): Biofilm, pathogenesis and prevention--a journey to break the wall: a review. In: *Archives of microbiology* 198 (1), S. 1–15.
- Hahn, H.; Kaufmann, S. H. E.; Schulz, T. F.; Suerbaum, S. (2009): Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. 6., komplett überarbeitete Auflage. Heidelberg: Springer (Springer-Lehrbuch).
- Harrington, S. M.; Dudley, E. G.; Nataro, J. P. (2006): Pathogenesis of enteroaggregative *Escherichia coli* infection. In: *FEMS microbiology letters* 254 (1), S. 12–18.
- Hebbelstrup Jensen, B.; Olsen, K. E. P.; Struve, C. *et al.* (2014): Epidemiology and clinical manifestations of enteroaggregative *Escherichia coli*. In: *Clinical microbiology reviews* 27 (3), S. 614–630.
- Hebbelstrup Jensen, B.; Stensvold, C. R.; Struve, C. *et al.* (2016): Enteroaggregative *Escherichia coli* in Daycare-A 1-Year Dynamic Cohort Study. In: *Frontiers in cellular and infection microbiology* 6, S. 75.
- Hemeg, Hassan A. (2017): Nanomaterials for alternative antibacterial therapy. In: *International journal of nanomedicine* 12, S. 8211–8225.
- Heseker, Helmut (2002): Silizium: Vorkommen, Funktionen, physiologische und gesundheitliche Aspekte. In: *Ernährungs-Umschau* 2002 (2), S. 64–65.
- Hiebl, B.; Hopperdietzel, C.; Hunigen, H.; Jung, F.; Scharnagl, N. (2013): Influence of a silicon (Si14)-based coating substrate for biomaterials on fibroblast growth and human C5a. In: *Clinical hemorheology and microcirculation* 55 (4), S. 491–499.
- Hof, H.; Dörries, R.; Geginat, G. (2009): Medizinische Mikrobiologie. [Immunologie, Virologie, Bakteriologie, Mykologie, Parasitologie, klinische Infektiologie, Hygiene] ; 237 Tabellen. 4., vollst. überarb. und erw. Aufl. Stuttgart: THIEME (Duale Reihe).

- Hof, H.; Dörries, R.; Geginat, G. (2014): Medizinische Mikrobiologie. [Virologie, Bakteriologie, Mykologie, Parasitologie, Immunologie, klinische Infektiologie, Hygiene]. 5., vollst. überarb. Aufl. s.l.: Georg Thieme Verlag KG (Duale Reihe).
- Hof, H.; Dörries, R.; Geginat, G.; Schlüter, Dirk; Wendt, Constanze (2017): Medizinische Mikrobiologie. 6., unveränderte Auflage (Duale Reihe).
- Hogt, A. H.; Dankert, J.; Feijen, J. (1985): Adhesion of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* to a hydrophobic biomaterial. In: *Journal of general microbiology* 131 (9), S. 2485–2491.
- Huang, D. B.; Dupont, H. L. (2004): Enteroaggregative *Escherichia coli*. An emerging pathogen in children. In: *Seminars in Pediatric Infectious Diseases* 15 (4), S. 266–271.
- Huang, M.; Hull, C. M. (2017): Sporulation. How to survive on planet Earth (and beyond). In: *Current genetics* 63 (5), S. 831–838.
- Imuta, N.; Ooka, T.; Seto, K.; Kawahara, R. *et al.* (2016): Phylogenetic Analysis of Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) Isolates from Japan Reveals Emergence of CTX-M-14-Producing EAEC O25:H4 Clones Related to Sequence Type 131. In: *Journal of clinical microbiology* 54 (8), S. 2128–2134.
- Jang, J.; Hur, H.; Sadowsky, M. J.; Byappanahalli, M. N. *et al.* (2017): Environmental *Escherichia coli*: Ecology and Public Health Implications - A Review. In: *Journal of applied microbiology*.
- Jiang, Z.; Okhuysen, P. C.; Guo, D. *et al.* (2003): Genetic susceptibility to enteroaggregative *Escherichia coli* diarrhea: polymorphism in the interleukin-8 promotor region. In: *The Journal of infectious diseases* 188 (4), S. 506–511.
- Kalishwaralal, K.; BarathManiKanth, S.; Pandian, S. *et al.* (2010): Silver nanoparticles impede the biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. In: *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces* 79 (2), S. 340–344.
- Kaper, J. B.; Nataro, J. P.; Mobley, H. L. (2004): Pathogenic *Escherichia coli*. In: *Nature reviews. Microbiology* 2 (2), S. 123–140.
- Kapoor, M.; Gopalakrishnapai, J.; Surolia, N.; Surolia, A. (2004): Mutational analysis of the triclosan-binding region of enoyl-ACP (acyl-carrier protein) reductase from *Plasmodium falciparum*. In: *The Biochemical journal* 381 (Pt 3), S. 735–741.
- Karatan, E.; Watnick, P. (2009): Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms. In: *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR* 73 (2), S. 310–347.
- Kaye, K. S.; Pogue, J. M. (2015): Infections Caused by Resistant Gram-Negative Bacteria. Epidemiology and Management. In: *Pharmacotherapy* 35 (10), S. 949–962.

- Kayser, Fritz H. (2014): Taschenlehrbuch Medizinische Mikrobiologie. [Hygiene, Immunologie, Bakteriologie, Virologie, Mykologie, Parasitologie, Infektiologie]. 13., vollst. überarb. und erw. Aufl. Stuttgart: THIEME.
- Keum, H.; Kim, J.; Yu, B.; Yu, S. *et al.* (2017): Prevention of Bacterial Colonization on Catheters by a One-Step Coating Process Involving an Antibiofouling Polymer in Water. In: *ACS applied materials & interfaces* 9 (23), S. 19736–19745.
- Kim, H.; Lee, S.; Byun, Y.; Park, H. (2015): 6-Gingerol reduces *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and virulence via quorum sensing inhibition. In: *Scientific reports* 5, S. 8656.
- Kinnari, T. J.; Soininen, A.; Esteban, J.; Zamora, N. *et al.* (2008): Adhesion of staphylococcal and Caco-2 cells on diamond-like carbon polymer hybrid coating. In: *Journal of biomedical materials research. Part A* 86 (3), S. 760–768.
- Koo, H.; Allan, R.; Howlin, R. P.; Stoodley, P.; Hall-Stoodley, L. (2017): Targeting microbial biofilms. Current and prospective therapeutic strategies. In: *Nature reviews. Microbiology* 15 (12), S. 740–755.
- Kopeckova, K.; Eckschlager, T.; Sirc, J. *et al.* (2019): Nanodrugs used in cancer therapy. In: *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*.
- Kreis, Stefan (2015): Einfluss von Rauheit und Hydrophobizität von Keramik- und Titan-Implantatoberflächen auf die initiale Biofilmbildung. Dissertation. Universität, Regensburg. Lehrstuhl für Zahnärztliche Prothetik.
- Lara, F. B. M.; Nery, D. R.; Oliveira, P. *et al.* (2017): Virulence Markers and Phylogenetic Analysis of *Escherichia coli* Strains with Hybrid EAEC/UPEC Genotypes Recovered from Sporadic Cases of Extraintestinal Infections. In: *Frontiers in microbiology* 8, S. 146.
- Lassen, S.; Lomholt, H.; Brüggemann, H. (2017): Complete Genome Sequence of a *Staphylococcus epidermidis* Strain with Exceptional Antimicrobial Activity. In: *Genome announcements* 5 (10).
- Lau, G. W.; Hassett, D. J.; Ran, H.; Kong, F. (2004): The role of pyocyanin in *Pseudomonas aeruginosa* infection. In: *Trends in molecular medicine* 10 (12), S. 599–606.
- Le, K. Y.; Park, M. D.; Otto, M. I. (2018): Immune Evasion Mechanisms of *Staphylococcus epidermidis* Biofilm Infection. In: *Frontiers in microbiology* 9, S. 359.
- Leigh, B. L.; Cheng, E.; Xu, L. *et al.* (2018): Antifouling Photograftable Zwitterionic Coatings on PDMS Substrates. In: *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*.
- Lemire, J. A.; Harrison, J. J.; Turner, R. J. (2013): Antimicrobial activity of metals. Mechanisms, molecular targets and applications. In: *Nature reviews. Microbiology* 11 (6), S. 371–384.

- Li, J. ; Xie, S.; Ahmed, S.; Wang, F. *et al.* (2017): Antimicrobial Activity and Resistance. Influencing Factors. In: *Frontiers in pharmacology* 8, S. 364.
- Lieberman, A.; Mendez, N.; Trogler, W. C.; Kummel, A. C. (2014): Synthesis and surface functionalization of silica nanoparticles for nanomedicine. In: *Surface science reports* 69 (2-3), S. 132–158.
- Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Parker, J.; Brock, T. D.; Goebel, W. (Hg.) (2003): Mikrobiologie. 2., korrigierter Nachdr. Heidelberg: Spektrum Akad. Verl. (Spektrum-Lehrbuch).
- Mafu, A. A.; Plumety, C.; Deschênes, L.; Goulet, J. (2011): Adhesion of Pathogenic Bacteria to Food Contact Surfaces. Influence of pH of Culture. In: *International journal of microbiology* 2011, S. 972494.
- Magdalena Agnes Sluszniak (2013): Modifizierung von Titanoberflächen mit antimikrobiellen Polymerbeschichtungen für die Anwendung bei Extremitätenprothesen. Dissertation. Technische Universität Carolo-Wilhelmina, Braunschweig. Fakultät für Lebenswissenschaften.
- Mahlapuu, M.; Håkansson, J.; Ringstad, L.; Björn, C. (2016): Antimicrobial Peptides. An Emerging Category of Therapeutic Agents. In: *Frontiers in cellular and infection microbiology* 6, S. 194.
- Majumdar, P.; Lee, E.; Gubbins, N. *et al.* (2009): Combinatorial materials research applied to the development of new surface coatings XIII. An investigation of polysiloxane antimicrobial coatings containing tethered quaternary ammonium salt groups. In: *Journal of combinatorial chemistry* 11 (6), S. 1115–1127.
- Malini, M.; Thirumavalavan, M.; Yang, W.; Lee, J. *et al.* (2015): A versatile chitosan/ZnO nanocomposite with enhanced antimicrobial properties. In: *International journal of biological macromolecules* 80, S. 121–129.
- Martienssen, M.; Reichel, O.; Kohlweyer, U. (2001): Surface properties of bacteria from different wastewater treatment plants. In: *Acta Biotechnologica* 21 (3), S. 207–225.
- Mhaske, A.; Shetty, P. Chandra; B., N. S. *et al.* (2015): Antiadherent and antibacterial properties of stainless steel and NiTi orthodontic wires coated with silver against *Lactobacillus acidophilus*-an in vitro study. In: *Progress in orthodontics* 16, S. 40.
- Mielich-Süss, B.; Lopez, D. (2015): Molecular mechanisms involved in *Bacillus subtilis* biofilm formation. In: *Environmental microbiology* 17 (3), S. 555–565.
- Montali, Andrea (2006): Antibacterial coating systems. In: *Injury* 37 Suppl 2, S81-6.
- Moore, J. E.; Mastoridis, P. (2017): Clinical implications of *Pseudomonas aeruginosa* location in the lungs of patients with cystic fibrosis. In: *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*.

- Morlon-Guyot, J.; Mere, J.; Bonhoure, A.; Beaumelle, B. (2009): Processing of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A is dispensable for cell intoxication. In: *Infection and immunity* 77 (7), S. 3090–3099.
- Mortimer, C. E.; Müller, U.; Beck, J.s (2015): Chemie. Das Basiswissen der Chemie. 12., korrigierte und aktualisierte Auflage. Stuttgart: THIEME.
- Murphy, W.; Black, J.; Hastings, G. (2016): Handbook of Biomaterial Properties. New York, NY: Springer New York.
- Murugadoss, S.; Lison, D.; Godderis, L. *et al.* (2017): Toxicology of silica nanoparticles. An update. In: *Archives of toxicology* 91 (9), S. 2967–3010.
- Nataro, J. P.; Kaper, J. B.; Robins-Browne, R.; Prado, V. *et al.* (1987): Patterns of adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells. In: *The Pediatric infectious disease journal* 6 (9), S. 829–831.
- Neumeister, B.; Braun, R.; K. Geiss, H.; Kimmig, P. (2009): Mikrobiologische Diagnostik. 2., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart: THIEME.
- Niinomi, M.; Narushima, T.; Nakai, M. (Hg.) (2015): Advances in Metallic Biomaterials. Tissues, Materials and Biological Reactions. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg (Springer Series in Biomaterials Science and Engineering, 3).
- Nuesch-Inderbinnen, M. T.; Hofer, E.; Hachler, H.; Beutin, L.; Stephan, R. (2013): Characteristics of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from healthy carriers and from patients with diarrhoea. In: *Journal of medical microbiology* 62 (Pt 12), S. 1828–1834.
- Ofek, I.; Hasty, D. L.; Sharon, N. (2003): Anti-adhesion therapy of bacterial diseases. Prospects and problems. In: *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 38 (3), S. 181–191.
- O'Gara, James P. (2007): ica and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. In: *FEMS microbiology letters* 270 (2), S. 179–188.
- Okhuysen, P.C.; Dupont, H. L. (2010): Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC): a cause of acute and persistent diarrhea of worldwide importance. In: *The Journal of infectious diseases* 202 (4), S. 503–505.
- Oliveira, W. F.; Silva, P. M. S.; Silva *et al.* (2018): *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* infections on implants. In: *The Journal of hospital infection* 98 (2), S. 111–117.
- Österreichische Gesellschaft für Infektionskrankheiten (Hg.) (2011): Fremdkörper-assoziierte Infektionen. 5. Österreichischer Infektionskongress. *JATROS Fachzeitschrift für Infektiologie* 5 (2). Wien: P.b.b. Verlagspostamt.

- Ozdamar, A.; Aras, C.; Ozturk, R.; Akin, E.; Karacorlu, M.; Ercikan, C. (1999): In vitro antimicrobial activity of silicone oil against endophthalmitis-causing agents. In: *Retina (Philadelphia, Pa.)* 19 (2), S. 122–126.
- Ozturk, S.; Calik, P.; O., Tuncer H. (2016): Fed-Batch Biomolecule Production by *Bacillus subtilis*: A State of the Art Review. In: *Trends in biotechnology* 34 (4), S. 329–345.
- Percival, S. L. (2017): Importance of biofilm formation in surgical infection. In: *The British journal of surgery* 104 (2), e85-e94.
- Permanon GmbH Deutschland (2015). Hg. v. Permanon GmbH Deutschland. Leutkirch.
- Petroff, A. P.; Wu, T.; Liang, B.; Mui, J.; Guerin-Kern, J. *et al.* (2011): Reaction-diffusion model of nutrient uptake in a biofilm: theory and experiment. In: *Journal of theoretical biology* 289, S. 90–95.
- Pfeiffer, S.; Baum, A.; Kehlen, A.; Hopperditzel, C. *et al.* (2016): Influence of polymerized siloxanes on growth of nosocomial aerobic bacteria. In: *JCB* 2 (1), S. 69–75.
- Pollack, M. (1983): The role of exotoxin A in pseudomonas disease and immunity. In: *Reviews of infectious diseases* 5 Suppl 5, S979-84.
- Pompeo, F.; Foulquier, E.; Galinier, A. (2016): Impact of Serine/Threonine Protein Kinases on the Regulation of Sporulation in *Bacillus subtilis*. In: *Frontiers in microbiology* 7, S. 568.
- Rafieezad, M.; Jaffer, J.; Cui, C.; Duan, X.; Nasiri, A. (2018): Nanosecond Laser Fabrication of Hydrophobic Stainless Steel Surfaces. The Impact on Microstructure and Corrosion Resistance. In: *Materials (Basel, Switzerland)* 11 (9).
- Rasch, B.; Friese, M.; Hofmann, W.; Naumann, E. (Hg.) (2014): *Quantitative Methoden 1*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (Springer-Lehrbuch).
- Robert Koch-Institut (2017): *Escherichia Coli*. Berlin.
- Romanò, C. L.; Scarponi, S.; Gallazzi, E.; Romanò, D.; Drago, L. (2015): Antibacterial coating of implants in orthopaedics and trauma. A classification proposal in an evolving panorama. In: *Journal of orthopaedic surgery and research* 10, S. 157.
- Romling, U.; Balsalobre, C. (2012): Biofilm infections, their resilience to therapy and innovative treatment strategies. In: *Journal of internal medicine* 272 (6), S. 541–561.
- Sabaté Brescó, M.; Harris, L. G.; Thompson, K. *et al.* (2017): Pathogenic Mechanisms and Host Interactions in *Staphylococcus epidermidis* Device-Related Infection. In: *Frontiers in microbiology* 8, S. 1401.

- Sarah Kühnapfel, Jochen Hallmann, Ines Hartmann, Tanja Musiol, Wolf Wente, Martin Armbrrecht (Hg.) (2013): Bestimmung der Zelldichte von Bakterienkulturen mit Hilfe der Hellma® Faseroptischen Sonde in Kombination mit dem Eppendorf BioSpectrometer. *Application Note No. 272*.
- Shida, T.; Koseki, H.; Yoda, I.; Horiuchi, H.; Sakoda, H.; Osaki, M. (2013): Adherence ability of *Staphylococcus epidermidis* on prosthetic biomaterials: an in vitro study. In: *International journal of nanomedicine* 8, S. 3955–3961.
- Shin, J. M.; Gwak, J. W.; Kamarajan *et al.* (2016): Biomedical applications of nisin. In: *Journal of applied microbiology* 120 (6), S. 1449–1465.
- Singh, S.; Singh, S. K.; Chowdhury, I.; Singh, R. (2017): Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms Resistance to Antimicrobial Agents. In: *The open microbiology journal* 11, S. 53–62.
- Sondi, I.; Salopek-Sondi, B. (2004): Silver nanoparticles as antimicrobial agent. A case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. In: *Journal of colloid and interface science* 275 (1), S. 177–182.
- Steinmetz, I. (2016): Nichtfermentierende Bakterien (Nonfermenter): *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*. In: Sebastian Suerbaum, Gerd-Dieter Burchard, Stefan H.E Kaufmann und Thomas F. Schulz (Hg.): *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (Springer-Lehrbuch), S. 261–269.
- Su, L.; Yu, Y.; Zhao, Y.; Liang, F.; Zhang, X. (2016): Strong Antibacterial Polydopamine Coatings Prepared by a Shaking-assisted Method. In: *Scientific reports* 6, S. 24420.
- Suerbaum, Sebastian; Burchard, Gerd-Dieter; Kaufmann, Stefan H.E; Schulz, Thomas F. (Hg.) (2016): *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (Springer-Lehrbuch).
- Suerbaum, S.; Hahn, H.; Burchard, G.; Kaufmann, S. H. E.; Schulz, T. F. (2012): *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. 7., überarbeitete Auflage. Berlin: Springer (Springer-Lehrbuch).
- Taglietti, A.; Arciola, C. R.; D'Agostino, A.; Dacarro, G. *et al.* (2014): Antibiofilm activity of a monolayer of silver nanoparticles anchored to an amino-silanized glass surface. In: *Biomaterials* 35 (6), S. 1779–1788.
- Talan, D. A.; Takhar, S. S.; Krishnadasan, A.; Abrahamian, F. M.; Mower, W. R.; Moran, G. J. (2016): Fluoroquinolone-Resistant and Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Infections in Patients with Pyelonephritis, United States(1). In: *Emerging infectious diseases* 22 (9).

- Thampi, S.; Nandkumar, A. M.; Muthuvijayan, V.; Parameswaran, R. (2017): Differential Adhesive and Bioactive Properties of the Polymeric Surface Coated with Graphene Oxide Thin Film. In: *ACS applied materials & interfaces* 9 (5), S. 4498–4508.
- Thevenot, P.; Hu, W.; Tang, L. (2008): Surface chemistry influences implant biocompatibility. In: *Current topics in medicinal chemistry* 8 (4), S. 270–280.
- Tony Newson (2002): Stainless Steel – A Family of Medical Device Materials. In: *Medical Device Manufacturing & Technology*.
- Trentinaglia, M. T.; van der Straeten, C.; Morelli, I.; Logoluso, N. *et al.* (2018): Economic Evaluation of Antibacterial Coatings on Healthcare Costs in First Year Following Total Joint Arthroplasty. In: *The Journal of arthroplasty*.
- Tuson, H. H.; Weibel, D. B. (2013): Bacteria-surface interactions. In: *Soft matter* 9 (18), S. 4368–4380.
- Uzodi, A. S.; Lohse, C. M.; Banerjee, R. (2017): Risk Factors For and Outcomes of Multidrug-Resistant Escherichia coli Infections in Children. In: *Infectious diseases and therapy*.
- Valerio, P.; Pereira, M. M.; Goes, A. M.; Leite, M. F. (2004): The effect of ionic products from bioactive glass dissolution on osteoblast proliferation and collagen production. In: *Biomaterials* 25 (15), S. 2941–2948.
- Vani, K.; Thomas, S.; Prabhawathi, V.; Boobalan, T.; Sawant, S. N.; Doble, M. (2013): In vitro biocompatibility of modified polycarbonate as a biomaterial. In: *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces* 108, S. 191–198.
- Vlamakis, H.; Chai, Y.; Beaugard, P.; Losick, R.; Kolter, R. (2013): Sticking together: building a biofilm the Bacillus subtilis way. In: *Nature reviews. Microbiology* 11 (3), S. 157–168.
- Wacker Chemie AG (2019): Siliconöle und Siliconemulsionen von WACKER. Hg. v. Wacker Chemie AG. München.
- Wang, L.; Fan, D.; Chen, W.; Terentjev, E. (2015): Bacterial growth, detachment and cell size control on polyethylene terephthalate surfaces. In: *Scientific reports* 5, S. 15159.
- Wilkins, M.; Hall-Stoodley, L.; Allan, R. ; Faust, S. N. (2014): New approaches to the treatment of biofilm-related infections. In: *The Journal of infection* 69 Suppl 1, S47-52.
- Williams, David F. (2008): On the mechanisms of biocompatibility. In: *Biomaterials* 29 (20), S. 2941–2953.
- Wollschläger, Daniel (2017): Grundlagen der Datenanalyse mit R. Eine anwendungsorientierte Einführung. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg (Statistik und ihre Anwendungen).

-
- Wu, S.; Altenried, S.; Zogg, A.; Zuber, F.; Maniura-Weber, K.; Ren, Q. (2018): Role of the Surface Nanoscale Roughness of Stainless Steel on Bacterial Adhesion and Microcolony Formation. In: *ACS omega* 3 (6), S. 6456–6464.
- Yan, Hua; Li, Jun (2008a): An experimental study on antimicrobial activity of silicone oil in vitro. In: *Ophthalmologica. Journal internationale d'ophtalmologie. International journal of ophthalmology. Zeitschrift für Augenheilkunde* 222 (4), S. 245–248.
- Yan, Hua; Li, Jun (2008b): Experimental study on antiviral activity of silicone oil in vitro. In: *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv für klinische und experimentelle Ophthalmologie* 246 (9), S. 1285–1289.
- Yin, Bing; Liu, Tao; Yin, Yansheng (2012): Prolonging the duration of preventing bacterial adhesion of nanosilver-containing polymer films through hydrophobicity. In: *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids* 28 (49), S. 17019–17025.
- Zimbro, Mary Jo (Hg.) (2009): *Difco & BBL Manual. Manual of microbiological culture media*. 2. ed. Sparks, MD: Becton Dickinson.

8 Thesen

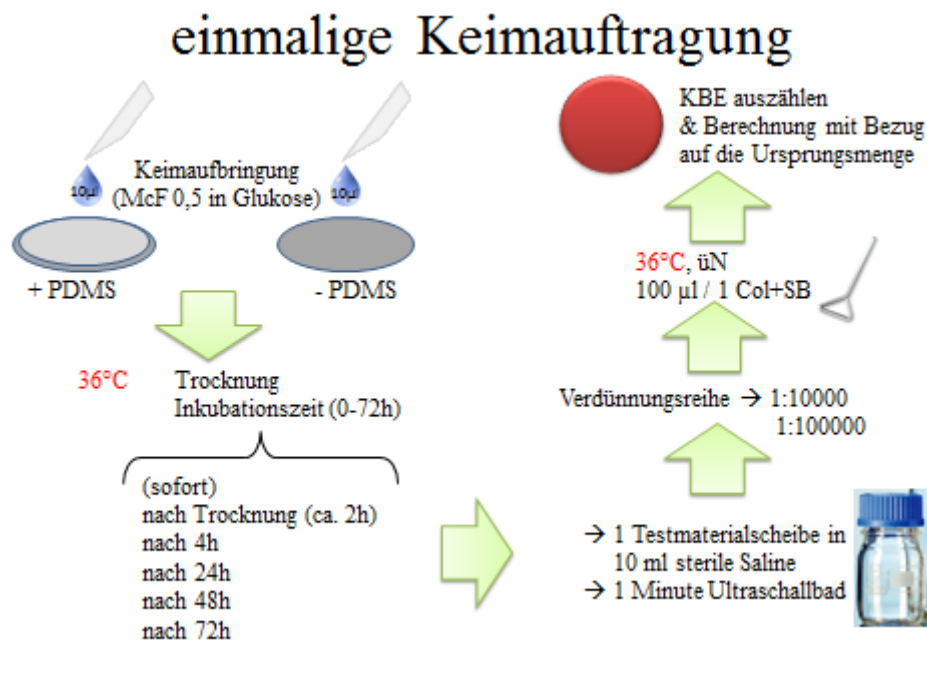
1. Das Silizium-basierte Beschichtungssubstrat PDMS weist sowohl in Lösung, als auch als Beschichtungssubstrat wachstumshemmende Effekte gegenüber bakteriellen Erregern, wie *E. coli*, *S. epidermidis* und *P. aeruginosa* auf.
2. Die antibakteriellen Effekte sind von der Konzentration des PDMS abhängig. Die effektive Beschichtungskonzentration bei der eine zur Bekämpfung einer Infektionskrankheit ausreichende Wachstumshemmung durch PDMS vermutet wird, liegt bei 2,0 vol-%. Bei dieser Konzentration konnten sowohl in Lösung als auch als Beschichtung signifikante antibakterielle Ergebnisse für die o.g. Erreger ermittelt werden.
3. Die maximale Beschichtungskonzentration von PDMS liegt nahe der 5,0 vol-%. Zwischen 5,0 vol-% und 7,0 vol-% konnte kein weiterer signifikanter Anstieg des antibakteriellen Effektes beobachtet werden.
4. Der wachstumshemmende Effekt ist von bakterienspezifischen Eigenschaften, wie der Generationsrate abhängig. Bakterielle Erreger mit einer kurzen Generationsrate wie *E. coli* werden weniger durch PDMS beeinflusst als Bakterien mit einer eher langsameren Teilungsrate, wie *S. epidermidis*.
5. Der wachstumshemmende Effekt ist von Eigenschaften des Ausgangsmaterials, wie dem Rauheitswert abhängig. Je glatter und ebener eine Oberfläche ist, wie es beispielsweise bei Glas der Fall ist, desto einfacher gelingt die Beschichtung und desto schwieriger ist die Adhäsion der Bakterien. Die wachstumshemmenden Effekte von PDMS konnten auf Glas frühzeitig beobachtet werden als auf Stahl oder Polykarbonat.
6. PDMS als Beschichtungssubstrat erzeugt eine hydrophobe und positiv geladene Oberfläche. Diese spielt bei der Vermittlung der antiadhäsiven und antibakteriellen Effekten von PDMS eine entscheidende Rolle. Die Effekte sind über einen Zeitraum von 72 Stunden, sowie nach einem zweiten Erregerkontakt nachgewiesen.
7. PDMS beeinflusst nicht nur das Wachstumsverhalten planktonischer Bakterien, sondern ist auch in der Lage die Biofilmbildung bakterieller Erreger zu beeinflussen. Die Beschichtung einer Polypropylenoberfläche mit 2 vol-% PDMS konnte bei 80 % der untersuchten bakteriellen Erreger eine Verminderung der Ausbildung eines Biofilmes zeigen.

Anhangsverzeichnis

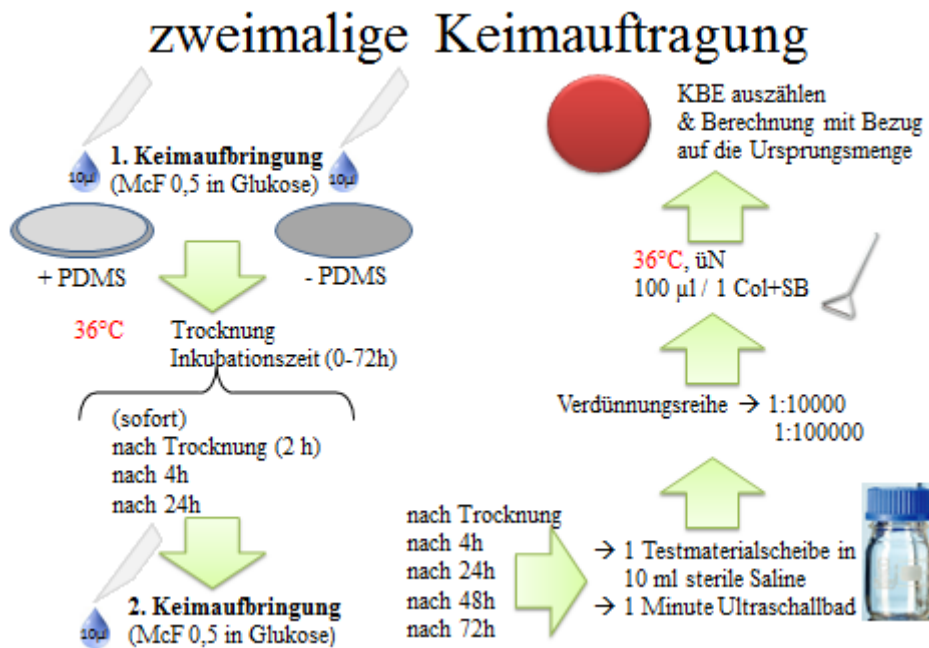
Anhang I: Zusammensetzung der einzelnen Bestandteile der Ansatzlösung

Endkonzentration [vol-%]	Glukose-Bouillon [ml]	A. dest [ml]	PDMS [ml]	gesamt [ml]	pH-Wert
0,00	74,40	5,60	0,00	80,00	7,03
0,20	74,40	5,44	0,16	80,00	7,02
2,00	74,40	4,00	1,60	80,00	7,01
5,00	74,40	1,60	4,00	80,00	6,98
7,00	74,40	0,00	5,60	80,00	6,97

Anhang II: Schematische Darstellung des Versuchsablaufes mit einmaliger Keimaufrtragung (n=9) auf Testmaterialscheiben mit und ohne PDMS Beschichtung. McF = McFarland Einheiten, üN = über Nacht, Col + SB = Blutagarplatte.



Anhang III: Schematische Darstellung des Versuchsablaufes mit zweimaliger Keimaufrtragung (n=9) auf Testmaterialscheiben mit und ohne PDMS Beschichtung. McF=McFarland Einheiten, üN=über Nacht, Col+SB=Blutagarplatte.



Anhang IV: *p*-Werte von *S. epidermidis* für die Untersuchungen zu bakteriellen Wachstumskurven nach der Zugabe von PDMS

	<i>p</i> -Wert		Signifikanzniveau
	mit Welch-Korrektur	mit Bonferroni-Korrektur	
0,0 % zu 0,02 %	0,159	0,638	
0,0 % zu 2,0 %	<0,001	<0,001	***
0,0 % zu 5,0 %	<0,001	<0,001	***
0,0 % zu 7,0 %	<0,001	<0,001	***
5,0 % zu 7,0 %	0,134	0,538	

Anhang V: *p*-Werte für *P. aeruginosa* für die Untersuchungen zu bakteriellen Wachstumskurven nach der Zugabe von PDMS

	<i>p</i> -Wert		Signifikanzniveau
	mit Welch-Korrektur	mit Bonferroni-Korrektur	
0,0 % zu 0,02 %	<0,001	<0,001	***
0,0 % zu 2,0 %	<0,001	<0,001	***
0,0 % zu 5,0 %	<0,001	<0,001	***
0,0 % zu 7,0 %	<0,001	<0,001	***
5,0 % zu 7,0 %	<0,001	<0,001	***

Anhang VI: *p*-Werte für *E. coli* für die Untersuchungen zu bakteriellen Wachstumskurven nach der Zugabe von PDMS

	<i>p</i> -Wert		Signifikanzniveau
	mit Welch-Korrektur	mit Bonferroni-Korrektur	
0,0 % zu 0,02 %	0,002	0,009	**
0,0 % zu 2,0 %	< 0,001	< 0,001	***
0,0 % zu 5,0 %	< 0,001	< 0,001	***
0,0 % zu 7,0 %	< 0,001	< 0,001	***
5,0 % zu 7,0 %	0,739	2,957	

Anhang VII: *p*-Werte für die Prüfung der bakteriellen Wachstumshemmung von PDMS auf Stahl

Stahl		<i>p</i> -Werte		Signifikanzniveau
		mit Welch-Korrektur	mit Bonferroni-Korrektur	
nach 1. Keimauftrag	nach 24 Stunden	0,033	0,098	
	nach 48 Stunden	0,075	0,225	
	nach 72 Stunden	0,017	0,051	
nach 2. Keimauftrag	nach 24 Stunden	0,011	0,032	*
	nach 48 Stunden	0,324	0,971	
	nach 72 Stunden	0,586	1,757	

Anhang VIII: *p*-Werte für die Prüfung der bakteriellen Wachstumshemmung von PDMS auf Polykarbonat

Polykarbonat		<i>p</i> -Werte		Signifikanzniveau
		mit Welch-Korrektur	mit Bonferroni-Korrektur	
nach 1. Keimauftrag	nach 24 Stunden	0,003	0,009	**
	nach 48 Stunden	0,113	0,339	
	nach 72 Stunden	0,352	1,056	
nach 2. Keimauftrag	nach 24 Stunden	0,073	0,024	*
	nach 48 Stunden	0,065	0,196	
	nach 72 Stunden	0,352	1,056	

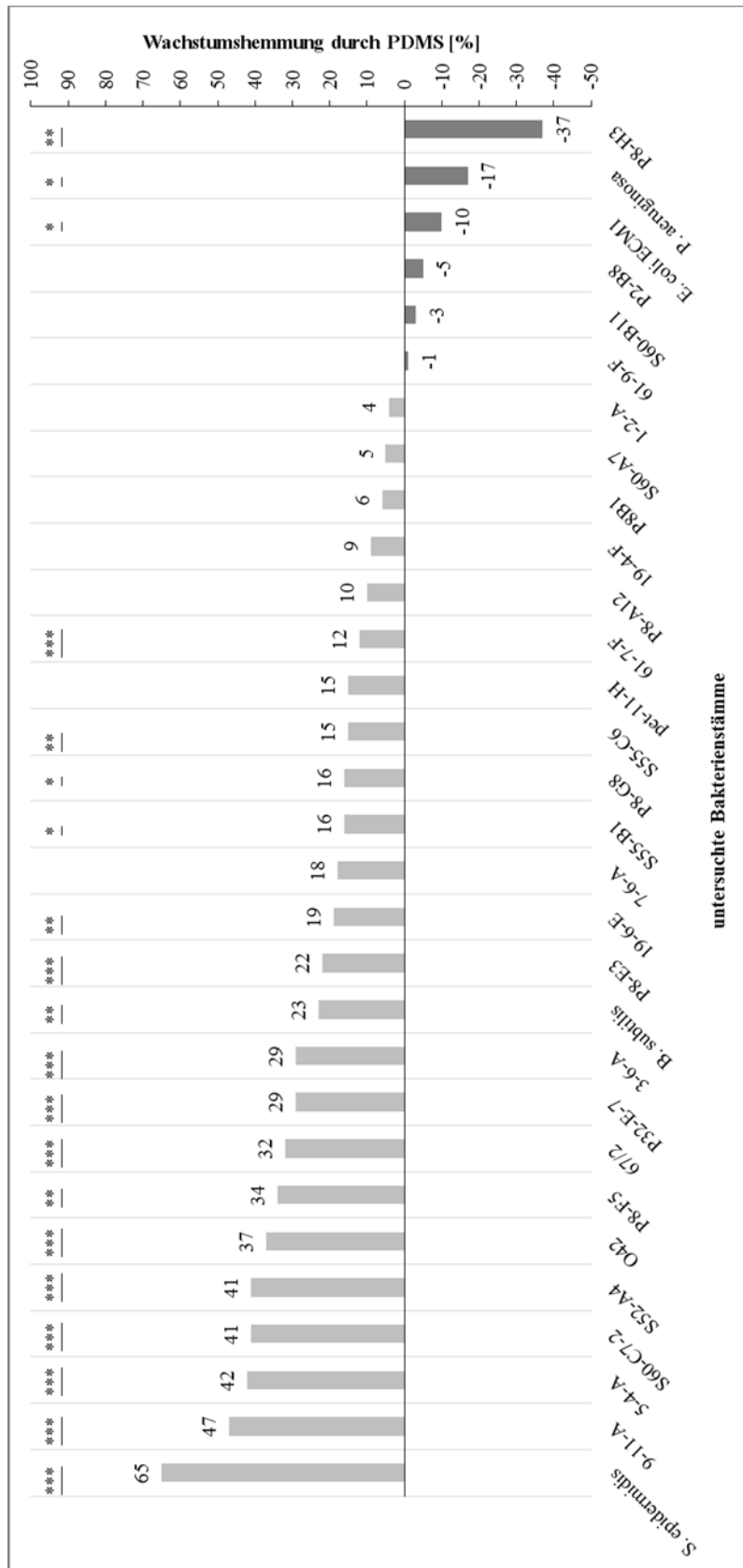
Anhang IX: *p*-Werte für die Prüfung der bakteriellen Wachstumshemmung von PDMS auf Glas

	Glas	<i>p</i> -Werte		Signifikanzniveau
		mit Welch-Korrektur	mit Bonferroni-Korrektur	
nach 1. Keimauftrag	nach 2 Stunden	0,008	0,023	*
	nach 4 Stunden	0,019	0,057	
	nach 24 Stunden	0,514	1,541	
	nach 48 Stunden	0,006	0,019	*
	nach 72 Stunden	0,008	0,023	*
nach 2. Keimauftrag	nach 2 Stunden	0,047	0,140	
	nach 4 Stunden	0,062	0,187	
	nach 24 Stunden	0,114	0,341	
	nach 48 Stunden	0,052	0,157	
	nach 72 Stunden	0,269	0,808	

Anhang X: Messwerte und p -Werte für die Messung der Biofilmbildung auf mit PDMS-beschichteten und unbeschichteten 96 Well-Mikrotiterplatten

Bakterienstamm	OD ₅₉₀		Verminderung der OD ₅₉₀ [%]	p -Wert	Signifikanz- niveau
	ohne PDMS	mit PDMS			
<i>S. epidermidis</i>	0,442	0,157	64,58	< 0,001	***
9-11-A	0,486	0,256	47,35	< 0,001	***
5-4-A	0,198	0,115	42,01	< 0,001	***
S60-C7-2	0,604	0,357	40,81	< 0,001	***
S52-A4	0,231	0,138	40,54	< 0,001	***
O42	0,602	0,378	37,15	< 0,001	***
P8-F5	0,256	0,170	33,60	0,002	**
67/2	0,133	0,091	31,57	< 0,001	***
P32-E-7	0,133	0,094	29,49	< 0,001	***
3-6-A	0,242	0,171	29,31	< 0,001	***
<i>B. subtilis</i>	0,105	0,081	23,05	< 0,001	***
P8-E3	0,088	0,069	22,30	< 0,001	***
19-6-E	0,106	0,085	19,30	0,003	**
7-6-A	0,663	0,545	17,82	0,404	
S55-B1	0,115	0,096	16,24	0,029	*
P8-G8	0,190	0,160	15,78	0,011	*
S55-C6	0,103	0,087	15,17	0,003	**
pet-11-H	0,116	0,099	14,81	0,061	
61-7-F	0,086	0,076	11,75	0,002	**
P8-A12	0,147	0,132	9,82	0,051	
19-4-F	0,149	0,136	8,63	0,361	
P8-B1	0,111	0,104	6,04	0,376	
S60-A7	0,170	0,162	5,06	0,509	
1-2-A	0,097	0,093	3,54	0,340	
61-9-F	0,087	0,088	-1,15	0,864	
S60-B11	0,125	0,129	-3,00	0,853	
P2-B8	0,136	0,143	-5,38	0,440	
<i>E. coli</i> EcM1	0,091	0,100	-10,07	0,033	*
<i>P. aeruginosa</i>	0,294	0,346	-17,45	0,011	*
P8-H3	0,172	0,235	-37,02	0,003	**

Anhang XI: Zusammenfassende Übersicht der prozentualen Hemmung der Biofilmmasse von allen untersuchten Bakterien auf PDMS beschichteter Polypropylenoberfläche. (n = 8, Kolmogorov Smirnov Test)



Selbstständigkeitserklärung

Ehrenwörtliche Erklärung zu meiner Dissertation mit dem Titel:

„Einfluss eines PDMS-basierten Beschichtungssubstrates auf das Wachstum und Überleben von bakteriellen Erregern“

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel und Quellen verwendet habe. Alle wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen habe ich als solche gekennzeichnet.

Ich versichere außerdem, dass ich die Dissertation nur in diesem und keinem anderen Promotionsverfahren eingereicht habe und, dass diesem Promotionsverfahren keine endgültig gescheiterten Promotionsverfahren vorausgegangen sind.

Ort, Datum

Unterschrift

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen besonderen Dank all denen entgegen bringen, die durch ihre fachliche und persönliche Unterstützung zur Anfertigung dieser Dissertation beigetragen haben.

An erster Stelle gilt ein besonderer Dank Sahra Pfeiffer für das Anvertrauen des interessanten Themas. Danke für deine fachliche Betreuung und Unterstützung, für die produktiven Hinweise und anregenden Diskussionen. Du hast dir immer viel Zeit für mich genommen und dabei deine eigene Arbeit hinten angestellt. Das gemeinsame Arbeiten, sowohl im Labor als auch beim Schreiben der Diskussion hat mir viel Freude bereitet.

Ich danke herzlich Frau PD Dr. Astrid Kehlen für die Übernahme der Betreuung und der Bereitstellung von Räumlichkeiten des Instituts zum Anfertigen meiner Dissertation.

Ein großer Dank geht auch an Barbara Tüdö, ohne deren Hilfe ich die Laborversuche nicht so strukturiert und planmäßig hätte durchführen können.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Herrn PD Dr. Hiebl für die Idee des Themas und der Bereitstellung und Kostenübernahme des Substrates. Ich danke Ihnen für die freundliche Zusammenarbeit an unserem gemeinsamen Paper.

Ich bedanke mich bei meiner Kommilitonin Annemarie Baum, die mit ihren Versuchen eine große Vorarbeit für meine Dissertation geleistet hat.

Ein weiterer Dank geht an Torsten Hoffmann und Uli Heiser von der Vivoryon N.V., Halle (Saale), die mir bei statistischen und chemischen Fragen immer zur Seite standen.

Weiterhin bedanke ich mich bei den Mitarbeitern des Instituts für medizinische Mikrobiologie, Halle für das gute Arbeitsklima und jeden kleinen Tipp, der mir das Arbeiten im Labor erleichtert hat sowie die stetige Bereitschaft zur Einweisung in Geräte und Hilfe bei der Bewältigung großer und kleiner Probleme des Laboralltags. Ein besonderer Dank gilt auch Frau Undine Ziese von ZMG für die Beschichtung und Reinigung der Materialien.

Meiner Familie, im Besonderen meiner Mutter Petra Niebergall und meinen Großeltern Monika und Frank Werner, danke ich für die jahrelange Unterstützung während der Doktorarbeit, des Studiums und während meines gesamten Lebens. Vielen Dank für die andauernde Motivation und Unterstützung, auch in schwierigen Situationen.

Schlussendlich danke ich noch meinem Freund Jonas Meyer von ganzem Herzen für die Geduld und das Verständnis während der letzten Jahre.