

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Hauner'schen Kinderspital der

Ludwig – Maximilians – Universität München

Direktor: Prof. Dr. Dr. med. Christoph Klein

**Der durch mikrostrukturierte Oberflächen induzierte Lotus Effekt  
und dessen Auswirkungen auf Strömung und Anheftung  
von bakteriellen Mikroorganismen  
demonstriert an Escherichia coli und Enterococcus faecalis**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig – Maximilians – Universität zu München

Vorgelegt von

Elisabeth Barbara Schuler – Hötscher, geb. Schuler

aus München

2020

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Johannes Hübner

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Sandra Utzschneider  
PD Dr. Dimitrios Frangoulidis

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Dr. Christian Pfeffer

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 19.11.2020

# Eidesstattliche Versicherung

Elisabeth Barbara Schuler

---

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

„Der durch mikrostrukturierte Oberflächen induzierte Lotus Effekt und dessen Auswirkungen auf Strömung und Anheftung von bakteriellen Mikroorganismen demonstriert an Escherichia coli und Enterococcus faecalis“

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Brunnthal, den 21.11.2020

Ort, Datum

Elisabeth Schuler-Hötscher

Unterschrift Doktorandin

*Für meine Familie*

# Inhalt

I. Abbildungsverzeichnis .....	3
II. Tabellenverzeichnis .....	6
III. Abkürzungsverzeichnis .....	7
1. Einleitung .....	9
1.1. Künstliche Materialien in der Medizin .....	9
1.2. Bakterielle Biofilme .....	12
1.2.1. Zusammensetzung und Bildung eines Biofilms .....	12
1.2.2. Wichtige Biofilmbildner in der Medizin .....	14
1.2.2.1. <i>Escherichia coli</i> .....	15
1.2.2.2. <i>Enterococcus faecalis</i> .....	15
1.2.3. Maßnahmen zur Unterbindung von Biofilmbildung .....	17
1.2.3.2. Chemische Methoden .....	17
1.2.3.3. Physikalische Methoden .....	17
1.3. Hydrophobie .....	19
1.3.1. Lotus – Effekt .....	19
1.3.2. Grundlagen der Benetzung .....	20
1.3.3. Cassie – Baxter und Wenzel .....	21
1.4. Zielsetzung .....	24
2. Material und Methoden .....	25
2.1. Materialien .....	25
2.1.1. Samples .....	25
2.1.2. Bakterienstämme .....	27
2.1.3. Puffer und Stammlösungen .....	27
2.1.4. Primersequenzen .....	28
2.2. Methoden .....	29
2.2.1. Bestimmung der Hydrophobizität der Samples .....	29
2.2.1.1. Messung der Abperlwinkel .....	29
2.2.1.2. Messung der Kontaktwinkel .....	30
2.2.2. Bakterienkultur .....	30
2.2.3. Molekularbiologische Methoden .....	31

2.2.4. Biofilmbildung auf den Samples .....	32
3. Ergebnisse .....	34
3.1. Kontaktwinkel .....	34
3.2. Abperlwinkel .....	40
3.3. Biofilmbildung .....	44
3.4. Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung .....	47
4. Diskussion .....	52
5. Zusammenfassung .....	59
6. Literaturverzeichnis .....	61
7. Danksagung .....	66
IV. Anhang .....	67

# I. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Bakterielle Adhäsion in Abhängigkeit der molekularen Oberflächenstruktur [13]	10
Abbildung 2: Stadien der Biofilmbildung [29]	13
Abbildung 3: Schema mit drei möglichen Angriffspunkten von bakteriellen Biofilmen im menschlichen Körper: Katheter, Hüft - Totalendoprothesen und Peridontitis. Die Pfeile zeigen, auf welche Art und Weise die Bakterien in den Systemkreislauf gelangen können [1].	13
Abbildung 4: Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Oberflächenstruktur und Selbstreinigung. Während auf glatten Oberflächen die Partikel hauptsächlich durch Wasser umverteilt werden (a), haften sie auf rauen Oberflächen an den Tröpfchenoberflächen und werden beim Abperlen der Tröpfchen von den Blättern entfernt (b) [52].	19
Abbildung 5: Flüssigkeitstropfen auf einer Festkörperoberfläche: Bestimmung des Kontaktwinkels mittels angelegter Tangente am Dreiphasenpunkt Gas/Flüssigkeit/Festkörper	20
Abbildung 6: Schematische Darstellung: hydrophile Oberfläche mit Wasserkontaktwinkel kleiner als $90^\circ$ (a); hydrophobe Oberfläche mit Wasserkontaktwinkel größer als $90^\circ$ (b) und superhydrophobe Oberfläche mit Wasserkontaktwinkel größer als $150^\circ$ (c) [2]	21
Abbildung 7: Wenzel Zustand: die Flüssigkeit liegt innerhalb der Strukturen	21
Abbildung 8: Cassie-Baxter Zustand: der Tropfen liegt auf den Erhebungen der rauen Oberfläche	22
Abbildung 9: CAD - Darstellung von Sample #002 (alle Angaben in Millimeter)	26
Abbildung 10: Messung der Abperlwinkel	29
Abbildung 11: Messung der Kontaktwinkel	30
Abbildung 12: Versuchsaufbau Biofilm auf Sample	33
Abbildung 13: Kontaktwinkel destilliertes Wasser	34
Abbildung 14: Samples mit den höchsten Kontaktwinkeln bei Wasser im Vergleich zur Kontrolle #000	35
Abbildung 15: Oberfläche von Sample #002, das Muster hat runde Strukturen mit $50\mu\text{m}$ Durchmesser und $70\mu\text{m}$ Höhe in einem Abstand von $100\mu\text{m}$	35
Abbildung 16: Oberfläche von Sample #006, das Muster hat runde Strukturen mit $3\mu\text{m}$ Durchmesser und $6\mu\text{m}$ Höhe in einem Abstand von $6\mu\text{m}$	35
Abbildung 17: Oberfläche von Sample #069, das Muster hat runde Strukturen mit $35\mu\text{m}$ Durchmesser und $35\mu\text{m}$ Höhe in einem Abstand von $35\mu\text{m}$	36
Abbildung 18: Oberfläche von Sample #086, das Muster hat runde Strukturen mit $35\mu\text{m}$ Durchmesser und $35\mu\text{m}$ Höhe in einem Abstand von $35\mu\text{m}$	36
Abbildung 19: Kontaktwinkel <i>E. coli</i>	37
Abbildung 20: Samples mit den höchsten Kontaktwinkeln bei <i>E. coli</i> im Vergleich zur Kontrolle #000	37
Abbildung 21: Oberfläche von Sample #012, das Muster hat rechteckige Strukturen mit $25 \times 25\mu\text{m}$ Durchmesser und $115\mu\text{m}$ Höhe in einem Abstand von $50\mu\text{m}$	37
Abbildung 22: Kontaktwinkel <i>Enterococcus faecalis</i>	38
Abbildung 23: Samples mit den höchsten Kontaktwinkeln bei <i>Enterococcus faecalis</i> im Vergleich zur Kontrolle #000	38

Abbildung 24: Oberfläche von Sample #007, das Muster hat runde Strukturen mit 5µm Durchmesser und 110µm Höhe in einem Abstand von 10µm .....	39
Abbildung 25: Abperlwinkel dest. Wasser, alle getesteten Samples .....	40
Abbildung 26: Samples mit den niedrigsten Abperlwinkeln bei Wasser im Vergleich zur Kontrolle #000 .....	40
Abbildung 27: Abperlwinkel von <i>E. coli</i> auf allen getesteten Samples.....	41
Abbildung 28: Samples mit den geringsten Abperlwinkeln bei <i>E. coli</i> im Vergleich zur Kontrolle #000 .....	41
Abbildung 29: Oberfläche von Sample #008, das Muster hat runde Strukturen mit 200µm Durchmesser und 350µm Höhe in einem Abstand von 400µm .....	42
Abbildung 30: Abperlwinkel <i>E. faecalis</i> , alle getesteten Samples .....	42
Abbildung 31: Samples mit den geringsten Abperlwinkeln bei <i>E. faecalis</i> im Vergleich zur Kontrolle #000 .....	43
Abbildung 32: Biofilmbildung <i>E. faecalis</i> Sample #002 und #008.....	44
Abbildung 33: Biofilmbildung <i>E. coli</i> Sample #002 und #008 .....	44
Abbildung 34: Biofilmbildung <i>E. faecalis</i> Sample #004 und #401.....	44
Abbildung 35: Biofilmbildung <i>E. coli</i> Sample #004 und #401 .....	44
Abbildung 36: Biofilmbildung <i>E. faecalis</i> Sample #006 und #007.....	45
Abbildung 37: Biofilmbildung <i>E. coli</i> Sample #006 und #007 .....	45
Abbildung 38: Biofilmbildung <i>E. faecalis</i> Sample #009 und #012.....	45
Abbildung 39: Biofilmbildung <i>E. coli</i> Sample #009 und #012 .....	45
Abbildung 40: Biofilmbildung <i>E. faecalis</i> Sample #069 und #086.....	46
Abbildung 41: Biofilmbildung <i>E. coli</i> Sample #069 und #086 .....	46
Abbildung 42: Kontrolle, Biofilmbildung <i>E. coli</i> auf #000 nach 18h Inkubation (400x Vergrößerung).....	46
Abbildung 43: Biofilmbildung von <i>E. coli</i> auf #004 nach 18h Inkubation (400x Vergrößerung) .....	46
Abbildung 44: Kontrolle, Biofilmbildung <i>E. faecalis</i> auf #000 nach 18h Inkubation (400x Vergrößerung).....	46
Abbildung 45: Biofilmbildung <i>E. faecalis</i> auf #004 nach 18h Inkubation (400x Vergrößerung) .....	46
Abbildung 46: Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #002 und #008 bei <i>E. coli</i> .....	47
Abbildung 47: Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #002 und #008 bei <i>E. faecalis</i> .....	47
Abbildung 48: Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #004 und #401 bei <i>E. coli</i> .....	48
Abbildung 49: Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #004 und #401 bei <i>E. faecalis</i> .....	48
Abbildung 50: Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #006 und #007 bei <i>E. coli</i> .....	49
Abbildung 51: Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #006 und #007 bei <i>E. faecalis</i> .....	49
Abbildung 52: Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #009 und #012 bei <i>E. coli</i> .....	50
Abbildung 53: Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #009 und #012 bei <i>E. faecalis</i> .....	50



Abbildung 54: Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #069 und #086 bei <i>E. coli</i> .....	51
Abbildung 55: Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #069 und #086 bei <i>E. faecalis</i> .....	51
Abbildung 56: Biofilmbildung von <i>E. coli</i> , Vergleich der Samples untereinander bei auf eine OD von 0,2/cm <sup>2</sup> normierten Werten, Vergleich des Aussehens der Oberflächenstruktur .....	55
Abbildung 57: Biofilmbildung von <i>E. faecalis</i> , Vergleich der Samples untereinander bei auf eine OD von 0,2/cm <sup>2</sup> normierten Werten, Vergleich des Aussehens der Oberflächenstruktur .....	57

## II. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: medizinische Biofilmbildner; CoNS = Koagulase – negative Staphylokokken; GNB = Gram – negative Bakterien [32].....	15
Tabelle 2: Samplenummern mit mikroskopischer Struktur .....	26
Tabelle 3: Verwendete Primer .....	28
Tabelle 4: Primersequenzen.....	31
Tabelle 5: Reaktionsansatz der PCR.....	32
Tabelle 6: Protokoll PCR .....	32

### III. Abkürzungsverzeichnis

Formelgrößen wurden mit den international gebräuchlichen SI-Einheiten und chemische Elemente gemäß ihrer Bezeichnung im Periodensystem abgekürzt.

°C	Grad Celsius
%	Prozent
#	Nummer des Samples
bzgl.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
d.h.	das heißt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
E. coli	Escherichia coli
EPS	Extrazelluläre polymere Substanzen
etc.	et cetera
g	Gramm
h	hours (Stunden)
LB	Luria Broth
max.	maximal
min	Minute(n)
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
OD	optische Dichte
PBS	Phosphate Buffered Saline (Phosphatpuffer)
PCR	Polymerase-Kettenreaktion

PDMS	Polydimethylsiloxan
rpm	rounds per minute
sek.	Sekunden
Taq	Thermus aquaticus
TSB	Tryptic Soja Broth
TBE	TRIS – Borat – EDTA – Puffer
z.B.	zum Beispiel

# 1. Einleitung

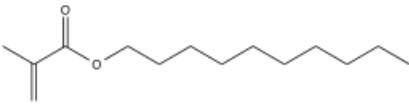
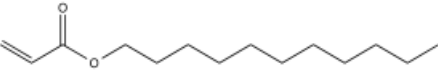
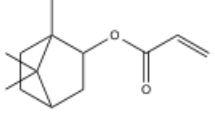
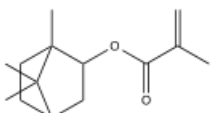
## 1.1. Künstliche Materialien in der Medizin

Der Anstieg der Lebenserwartung und die damit verbundene Erhöhung des Durchschnittsalters in den wohlhabenden Staaten weltweit sind eine Herausforderung für die moderne Medizin. Durch den Wunsch nach einer hohen Lebensqualität auch im Alter steigt die Nachfrage nach neuen Geräten, Analyseverfahren und Medikamenten, bis hin zu funktionsgerechten und bioverträglichen Materialien für Implantate und Prothesen zur Unterstützung von Organfunktionen oder zum Ersatz von Geweben, wie beispielsweise Knochen oder Weichteilen. Diese künstlichen Materialien werden in der Medizintechnik als Biomaterialien bezeichnet und sind aus der modernen Medizin nicht mehr wegzudenken.[3] Je nach mechanischen Anforderungen an das Implantat im Körper werden die unterschiedlichsten Werkstoffe verwendet. Dabei spielt auch die Verträglichkeit des Materials eine wichtige Rolle, welche als Biokompatibilität bezeichnet wird [3]. Während elastische Polymere in der Regel für den Einsatz im Weichgewebekontakt verwendet werden, sind anorganische Keramiken, Metalle oder Metalllegierungen überwiegend für den Einsatz mit Knochenkontakt vorteilhaft [4]. Als Metall wird beispielsweise Titan bei Eingriffen am Knochen bzw. bei orthopädischen-/und Dentalimplantaten verwendet, da dieses eine exzellente Biokompatibilität besitzt [5]. Metalllegierungen beweisen hohe Festigkeit, Bruchsicherheit und Korrosionsbeständigkeit, weshalb sie sich ebenfalls hervorragend als Implantatmaterial eignen [6]. Keramik wird vor allem in der Endoprothetik (beispielsweise in der Hüft-Endoprothetik zur Herstellung der Prothesenköpfe) benutzt [5]. Doch auch Kunststoffe finden in der Medizin Verwendung, unter anderem bei Nahtmaterial oder Einmalartikeln wie Kanülen, Spritzen, Kathetern, Drainagen und Verbandsartikeln[5] [7] [8] [9].

Insbesondere permanente Biomaterial-Implantate stehen vor zwei großen Herausforderungen im Hinblick auf ihren Einsatz in vivo: biomaterialassoziierte Infektionen und fehlende Integration von nativem Gewebe [10]. Implantat-assoziierte Infektionen stellen eine relevante Komplikation in der modernen Orthopädie und Unfallchirurgie dar und weisen eine Inzidenz von 1–3% bei primärer endoprothetischer Versorgung von Gelenken und von 1–5% nach osteosynthetischer Frakturversorgung auf [11]. Allerdings ist dieser medizinische Bereich nicht der einzige, in dem die bakterielle Infektion eine Komplikation darstellt. Auch die bakterielle Besiedlung von Kunststoffen, beispielsweise zentralvenösen Kathetern oder Urindauerkathetern stellt ein großes Problem dar.[7] [8] [9]

Die mikrobielle Besiedlung von nicht – körpereigenen Materialien stellt den Beginn einer biomaterialassoziierten Infektion dar [12] [1]. Aus diesem Grund ist zur Gestaltung von Präventivmaßnahmen vor allem das Verständnis mikrobieller Adhäsions- und Infektionsmechanismen wichtig. Leider sind die Fortschritte zur Verbesserung von Biomaterialoberflächen beziehungsweise der Entwicklung von Beschichtungen zur Verhinderung mikrobieller Anhaftung begrenzt. Gründe hierfür sind das Scheitern von Designtechnologien für Beschichtungen und neue Biomaterialien, die die bakterielle Adhäsion auf der Materialoberfläche reduzieren, sowie Strategien, um effektiv die mikrobielle Adhäsion zu blockieren.

Dabei wurde bereits in mehreren Studien die chemische Beschaffenheit der Oberfläche genau analysiert, um den Adhäsionsmechanismus der Bakterien besser zu verstehen. Hier zeigten beispielsweise Epa et. al., dass die molekulare Oberflächenstruktur eine wichtige Rolle spielt.[13] Vor allem lange Kohlenstoffketten bieten eine hervorragende Adhäsionsoberfläche für Bakterien, wie Abbildung 1 zeigt. Aus diesem Grund stellen insbesondere polymere Materialien in der Medizin ein hohes Infektionsrisiko dar.

Monomer	Experimental adhesion	Predicted adhesion
	High	High
	High	High
	Low	Low
	Low	Low

**Abbildung 1:** Bakterielle Adhäsion in Abhängigkeit der molekularen Oberflächenstruktur [13]

Eine entscheidende Rolle bei der Adhäsion spielt aber auch die bakterielle Produktion von extrazellulären polymeren Substanzen [14] [15]. Die Bakterien können sich hierin einbetten, um sich in einem Biofilm-Wachstumsmodus zu schützen. Dieser hochschützende Biofilm-Phänotyp ermöglicht es den Mikroorganismen, die eine Biomaterialoberfläche besiedeln, Antibiotika zu umgehen und Immunantworten bis zu mehreren Jahren lang auszuweichen, bevor sie in virulenteren Modi erwachen.[16] Voll ausgereifte Biofilme stoßen suspendierte Bakterien, Mikrokolonien und Biofilm-Fragmente

ab, diese streuen, setzen sich an anderen Stellen im Körper fest, bilden neue Biofilmkolonien und führen zu immer wiederkehrenden akuten Infektionen [17] [18]. Diese Biofilmbildung auf Oberflächen von Biomaterialien wie beispielsweise Prothesen, Herzklappen, Harn- und Venenkathetern und vielen mehr erhöhen nachweislich sowohl die Morbidität als auch Mortalität im Gesundheitswesen [19] und stellen damit ein schwerwiegendes Problem in der heutigen Medizin dar.

Um das Ausmaß dieser Problematik zu veranschaulichen, lohnt es sich, ein paar Zahlen zu betrachten. Das wohl anschaulichste Beispiel für die Benutzung polymerer Produkte in der Medizin sind die Harnblasenkatheter. Laut einer Studie aus dem Jahr 2014 erhalten 12 – 16% der erwachsenen Krankenhauspatienten im Laufe einer stationären Aufnahme im Krankenhaus einen Harnblasenkatheter [20]. Alleine in den Münchener Kliniken wurden im Jahr 2015 474.750 Patienten stationär behandelt, woraus sich eine Versorgung von ca. 56.970 – 75.960 Patienten mit einem Harnwegskatheter in Münchner Kliniken im Jahr 2015 errechnet [21]. Die Harnwegsinfektion ist eine der häufigsten im Krankenhaus erworbenen Infektionen. Dabei sind 70%-80% dieser Infektionen auf einen Harnblasenkatheter zurückzuführen [20]. Bei ca. 60.000 Patienten, die pro Jahr mit einem Harnblasenkatheter im Rahmen eines stationären Aufenthaltes versorgt werden, wären das ca. 42.000 Patienten, die pro Jahr durch den Katheter eine Infektion der Harnwege entwickeln.

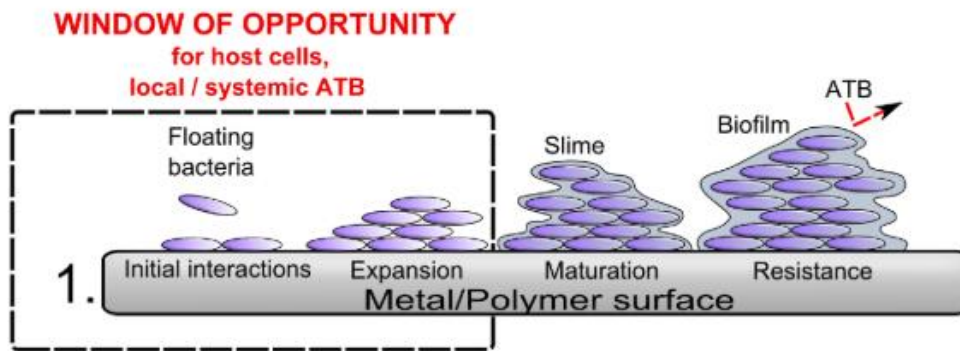
## 1.2. Bakterielle Biofilme

### 1.2.1. Zusammensetzung und Bildung eines Biofilms

Bakterien, die sich an feste Oberflächen anheften, sind in der Lage, einen gelartigen Mantel zu bilden [17]. Diese sogenannten bakteriellen Biofilme sind komplexe Strukturen, die aus einer hohen Dichte an Bakterienpopulationen bestehen, welche in einer selbst produzierten Polymermatrix leben [22]. Bakterien sind in der Lage auf vielen verschiedenen Oberflächen Biofilme zu bilden, beispielsweise in Wasserrohrsystemen, in allen feuchten Umgebungen in denen genügend Nahrung vorhanden ist, sowie auf medizinischen Implantaten wie Blasen-/intravaskulären Kathetern und orthopädischen Prothesen [23] [24]. Ein Grund für die Bildung ist der Schutz, den der Biofilm den reifen Bakterien gegenüber dem Immunsystem, antimikrobiellen Substanzen (wie beispielsweise Antibiotika) und umweltbedingtem Stress bietet [25]. Die Extrapolymermatrix schützt die Organismen, indem sie größere Moleküle (wie beispielsweise Antibiotika) und Entzündungszellen am Eindringen in die Biofilm – Matrix hindert [26].

Die Entstehung eines Biofilms im menschlichen Organismus erfolgt in drei großen Schritten (siehe Abbildung 2): zunächst nähern sich Bakterien einer (meist künstlichen) Oberfläche an. Dieser Vorgang erfolgt über leichte Van-der-Waals-Kräfte und ist damit noch reversibel. [25, 27] Über spezifische stereochemische Effekte kommt es anschließend zu einer starken, irreversiblen Wechselwirkung zwischen komplementären Strukturen auf der Oberfläche des Mikroorganismus (Adhäsine) und Bestandteilen der künstlichen Oberfläche. Adhärente Keime können sich während der nächsten 24 Stunden vermehren und Mikrokolonien bilden. Diese bilden wiederum die Extrapolymermatrix (EPS), bestehend aus Polysacchariden und einer Vielzahl von Proteinen, Lipiden, Phospholipiden und Glycoproteinen.[28] Im letzten Schritt werden durch verschiedene Stoffwechselforgänge die Bedingungen für die Ansiedelung anspruchsvollerer Bakterienpezies (Spätbesiedler) geschaffen. Bereits adhärente Bakterien können auch Rezeptoren für Adhäsine auf genetisch anders gearteten Bakterien exprimieren.[28] Die so entstandenen Verbindungen führen zu einer zunehmenden Vielfalt der Mikroflora. Ein großes Problem an der Organisation von Bakterien in Biofilmen ist der Plasmidaustausch, der verschiedene Spezies untereinander verbindet und die daraus resultierende potentielle Verbreitung von Antibiotikaresistenzen.[24] [29]

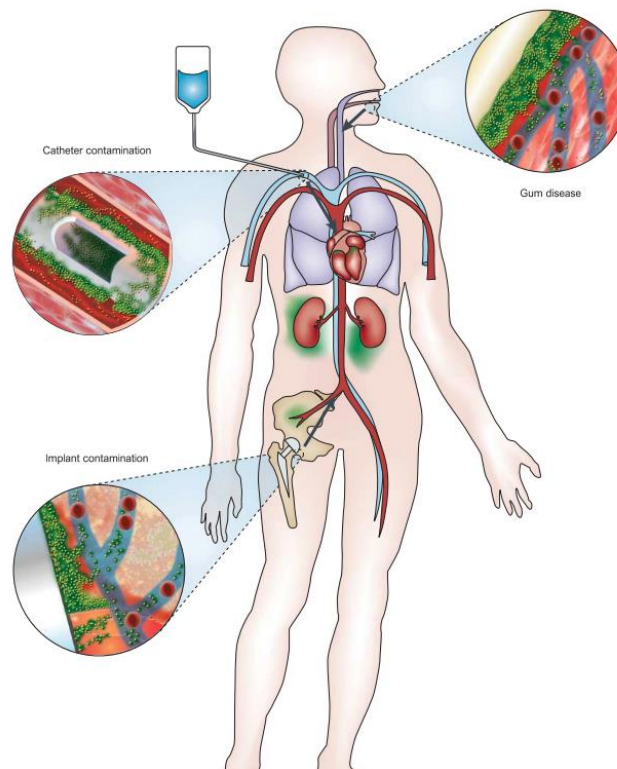




**Abbildung 2:** Stadien der Biofilmbildung [29]

Die Behandlung bereits bestehender Biofilme ist nicht nur sehr kostspielig sondern, vor allem im medizinischen Bereich, beispielsweise auf Kathetern oder Implantaten praktisch nicht möglich.[14] Dabei spielen vor allem die Besiedelung intravenöser Katheter, künstlicher oder vorgeschädigter Herzklappen sowie endotrachealer Tuben eine bedeutende Rolle [1] (siehe Abbildung 3).

Die erheblichen Mehrkosten werden anhand einer Studie von 2009 über Blutkreislauf-Infektionen durch venöse und arterielle Katheter auf Intensivstationen sichtbar: durchschnittlich werden 1.750.000 venöse und arterielle Katheter auf Intensivstationen in Deutschland pro Jahr verwendet [30]. Diese verbleiben im Durchschnitt 3,2 Tage im Körper.



**Abbildung 3:** Schema mit drei möglichen Angriffspunkten von bakteriellen Biofilmen im menschlichen Körper: Katheter, Hüft - Totalendoprothesen und Peridontitis. Die Pfeile zeigen, auf welche Art und Weise die Bakterien in den Systemkreislauf gelangen können [1].

Das Krankenhaus – Infektions – Surveillance – System (KISS) beschreibt im Jahr 2005 1,5 Infektionen pro 1000 Katheter, was eine Anzahl von 8.400 Infektionen pro Jahr durch arterielle und venöse Katheter auf Intensivstationen in Deutschland ergibt. Durch die Infektion müssen die Patienten im Durchschnitt 4,8 bis 7,2 Tage länger auf der Intensivstation beobachtet werden.[31] Laut dem Universitätskrankenhaus Tübingen betragen die Kosten für einen Patienten auf der Intensivstation pro Tag ca. 1.500€, was eine Summe an Mehrkosten von 23.500€ pro Infektionsepisode pro Jahr ergibt. Damit errechnet sich durch die Katheterinfektionen allein auf Intensivstationen eine Belastung von 59,6 bis 78,1 Millionen Euro an Mehrkosten pro Jahr.[7]

Die Entfernung der infizierten Implantate stellt für den Patienten ein zusätzliches Risiko dar und steigert nachweislich sowohl die Morbidität als auch die Mortalität [19]. Die Besiedelung von medizinischen Implantaten und biofilm-assoziierten Infektionen sind für 80% aller humanen bakteriellen Infektionen verantwortlich [32] und damit ein ernst zu nehmendes Problem in der heutigen Medizin.

### 1.2.2. Wichtige Biofilmbildner in der Medizin

Wie Tabelle 1 zeigt, gibt es im medizinischen Bereich zahlreiche wichtige Biofilmbilder, beispielsweise Klebsiellen und Pseudomonaden. In dieser Arbeit soll allerdings auf *Escherichia coli* und *Enterococcus faecalis* eingegangen werden, da diese gut und einfach im Labor anzüchtbar sind.

med. Vorrichtung	Prävalente ursächliche Krankheitserreger	
	Erstrangig	weitere
Zentralvenöse Katheter	CoNS	<i>S. aureus</i> , <b>Enterokokken</b> , <i>Candida spp.</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i>
Urinkatheter	<i>E. coli</i>	<i>Candida spp.</i> , CoNS, <b><i>E. faecalis</i></b> , <i>P. mirabilis</i>
mechanische Herzklappen	CoNS	<i>S. aureus</i> , <i>Streptokokkus spp.</i> , GNB, <b>Enterokokken</b> , Diphtherien
ventrikuläre Devices	CoNs	<i>S. aureus</i> , <i>Candida spp.</i> , <i>P. aeruginosa</i>
Koronar – Stents	<i>S. aureus</i>	CoNS, <i>P. aeruginosa</i> , <i>Candida spp.</i>
neurochirurgische ventrikuläre Shunts	Staphylokokken	Streptokokken spp., <i>Corynebacterium</i> , <b>GNB</b>
Peritoneal-Dialyse-Shunts	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i> , andere <b>Gram-negative</b> , <i>Candida spp.</i>
Orthopädische Prothesen	Staphylokokken	<i>S. pneumoniae</i> , <i>Streptokokkus spp.</i> , <i>P. acnes</i>
Fraktur-Fixations-Vorrichtungen	CoNS	<i>S. aureus</i> , <i>Propionibacterium spp.</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Streptokokkus spp.</i>
Endotracheal Tubus	enterische GNB	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Streptokokkus spp.</i> , <i>Staphylokokkus spp.</i>
aufblasbare	CoNS	<i>S. aureus</i> , <b>enterische GNB</b> , <i>P.</i>

Penisimplantate		<i>aeruginosa</i> , <i>Serratia spp.</i> , Pilze
Brustimplantate	Staphylokokken	<i>E. coli</i> , Peptostreptokokken, <i>C. perfringens</i> , <i>P. acnes</i>
Kochlearimplantate	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Streptokokkus spp.</i> , <i>N. meningitidis</i> , Pilze

**Tabelle 1: medizinische Biofilmbildner;** CoNS = Koagulase – negative Staphylokokken; GNB = Gram – negative Bakterien [33]

### 1.2.2.1. *Escherichia coli*

*Escherichia coli* (*E. coli*) ist ein gramnegatives, sporenloses, peritrich begeißeltes und deshalb bewegliches Stäbchen. *E. coli* kommt natürlicherweise im Darm vor. Aus diesem Grund ist *E. coli* ein klassischer Fäkalindikator, d. h. der Nachweis von *E. coli* in Trinkwasser, Lebensmitteln, Bedarfsgegenständen des täglichen Lebens oder auf Gegenständen im Umfeld des Menschen zeugt immer von einer Verunreinigung mit menschlichen oder tierischen Exkrementen und signalisiert die prinzipielle Möglichkeit des Vorkommens anderer Erreger (Viren, Bakterien, Protozoen, Würmer).[34] Extraintestinale Infektionen betreffen meist die ableitenden Harnwege und äußern sich, vor allem bei Frauen, als Zystitis bis hin zur Pyelonephritis und Urosepsis. Darüber hinaus gibt es einige *E. coli* – Stämme, die gastrointestinale Beschwerden mit schweren Diarrhoen verursachen können.[34] Ein bedeutendes Problem in der Medizin ist die Besiedelung von Urin-Dauerkathetern mit *E. coli* [35]. Studien haben gezeigt, dass 10 – 50% der Patienten mit Kurzzeit – Katheterisierung (bis zu 7 Tage), wohingegen *alle* Patienten mit Langzeit – Katheterisierung (über 28 Tage) eine Infektion entwickeln.[36] [37] Somit steigt das Infektionsrisiko mit jedem Tag, den der Katheter liegt um 10% [37].

### 1.2.2.2. *Enterococcus faecalis*

*Enterococcus faecalis* zählt zum Genus der Enterokokken [38]. Enterokokken sind grampositive, meist paarweise angeordnete Kokken, die früher zu den Streptokokken gerechnet wurden und die sich auch noch bei einem pH von 9,6 in einem Medium mit 6,5% Kochsalz vermehren [34]. *Enterococcus faecalis* ist ein natürlich im Dickdarm vorkommendes Bakterium. Neben vielen Lokalinfectionen sind Enterokokken vor allem an Harnwegsinfektionen ursächlich beteiligt. Mehr als 50% aller chronischen Harnwegsinfektionen werden durch Enterokokken verursacht, sowie 10–20% der akuten Harnwegsinfektionen, hauptsächlich solche, die nosokomialer Natur sind [34]. Ein weiteres schwerwiegendes Problem ist die durch Enterokokken verursachte Endokarditis. Dabei verursacht *Enterococcus faecalis* ungefähr 5%-20% aller Fälle von

Endokarditis.[39] Eine Endokarditis ist eine Infektion der Herzklappen, die ohne wirksame Antibiotikatherapie zu Zerstörung der Klappe bis hin zum Tod führt. Darüber hinaus kann *Enterococcus faecalis* Wundinfektionen bis hin zur Sepsis verursachen. Dabei sind vor allem immungeschwächte Patienten gefährdet. Ein besonderes Problem stellen die Resistenzbildungen von Enterokokken gegenüber verschiedenen Antibiotika dar, im Falle von *Enterococcus faecalis* wird beispielsweise eine zunehmende Vancomycinresistenz beobachtet [40], was die Therapie von enterokokkenverursachten Erkrankungen massiv erschwert, da Vancomycin bereits zu den Reserveantibiotika gehört.[41].

### **1.2.3. Maßnahmen zur Unterbindung von Biofilmbildung**

#### **1.2.3.1. Oberflächenbehandlungen**

Es gibt bereits zahlreiche Versuche, die bakterielle Biofilmbildung auf Implantaten im Körper zu verhindern beziehungsweise zu minimieren. Ein Ansatz beschäftigt sich mit der Modifizierung der Implantatoberflächen durch spezielle Beschichtungen. Da schon lange bekannt ist, dass Silberionen antibakteriell wirken, werden silberhaltige Produkte in der Medizin zum Beispiel zur Wundbehandlung eingesetzt [42]. Aufgrund dieser speziellen Eigenschaft galten Silberionen auch als guter Kandidat für die Beschichtung von Medizinprodukten, um so die bakterielle Adhäsion zu verhindern [43]. Dabei werden vor allem Chlorhexidin – Silbersulfadiazin – Imprägnierungen verwendet [44]. In Studien zeigte sich allerdings, dass mit Silber beschichtete Katheter nicht wirksam sind, wenn die durchschnittliche Verweildauer im Körper länger als 8 Tage beträgt [44]. Nachdem beispielsweise Prothesen über mehrere Jahre im Körper bleiben sollen, ist eine Silberbeschichtung zur Vermeidung von bakterieller Besiedlung über diese langen Zeiträume nicht wirksam. Darüber hinaus wurde schon in mehreren Publikationen über anaphylaktische Reaktionen auf Silber-beschichtete Katheter berichtet, was für den Patienten eine ernstzunehmende Komplikation darstellt, die bis hin zum Tod führen kann.[45] [46]

#### **1.2.3.2. Chemische Methoden**

Ein weiterer Ansatz zur Vermeidung bakterieller Besiedelungen von Implantaten ist die chemische Behandlung der Oberflächen. Hierbei bietet sich vor allem die Beschichtung mit Antibiotika an, da diese antibakteriell wirken. In Studien zeigte sich auch, dass für kurze Insertionszeiten (d.h. nicht länger als ca. 1 Woche) die antibiotische Beschichtung wirksamer war als die Chlorhexidin-Silbersulfadiazin-Imprägnierung [44]. Allerdings zeigt sich hierbei auch schon die Limitation der Antibiotikum-Beschichtung: eine Langzeitbeschichtung ist zum einen durch die Abwaschung des Antibiotikums sehr schwierig und zum anderen kann es bei einer Langzeitbeschichtung zu Antibiotikaresistenzen kommen [46].

#### **1.2.3.3. Physikalische Methoden**

Ein physikalischer Ansatz zur Vermeidung bakterieller Adhäsion auf künstlichen Oberflächen besteht darin, eine synthetische, flüssigkeitsabweisende Oberfläche zu entwickeln, die als SLIPS (Slippery – Liquid – Infused Porous Surface) bezeichnet wird [47]. Diese besteht aus einem Film von Schmierflüssigkeit, der durch ein mikro-

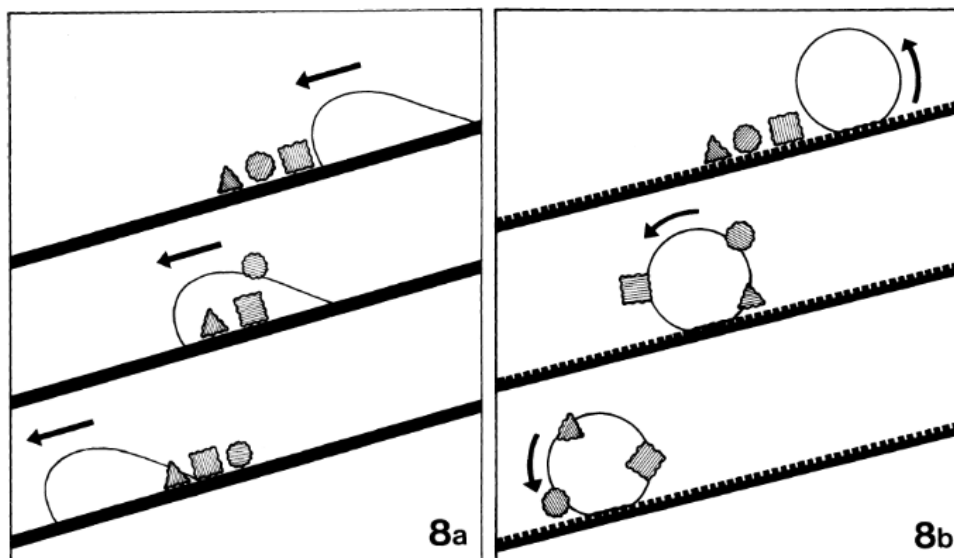
/nanoporöses Substrat an einer Oberfläche fixiert ist. Dadurch entsteht eine „rutschige“ Oberfläche, die die bakterielle Adhäsion verhindern soll. Epstein et al. konnten mit Hilfe der SLIPS Technologie eine Reduktion der Adhäsion bei E. coli um 96% feststellen [14]. Allerdings wurde hier lediglich eine Zeitspanne von 48 Stunden beobachtet, was den dauerhaften Einsatz in vivo nicht widerspiegelt.

Smith et al. modifizierten Katheter mit polymerem Sulfobetain (PolySB), welches Wassermoleküle an die Katheteroberfläche zieht und somit Protein-/Zell-/ und mikrobielle Anhaftungen reduziert [48]. Allerdings entstehen auch hierbei Probleme. Zum einen müssen diese Beschichtungen für längere Einsätze in vivo erst noch getestet werden [49, 50]. Zum anderen scheinen die Ausscheidungsprodukte der Bakterien das Sulfobetain anzudauen, wodurch die Beschichtung mit PolySB nicht von Dauer wäre.[48]

## 1.3. Hydrophobie

### 1.3.1. Lotus – Effekt

Als Lotuseffekt bezeichnet man die wasserabweisende Funktion einer Oberfläche, wie sie bei der Lotuspflanze beobachtet werden kann. Durch die mikro-/und nanoskopische Oberflächenarchitektur kann das Wasser an den Blättern in Tropfen abperlen [51]. Dabei werden auch alle Partikel auf der Oberfläche mitgenommen, wodurch die Haftung von Schmutzpartikeln minimiert wird, was in Abbildung 3 schematisch dargestellt ist [52].



**Abbildung 4: Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Oberflächenstruktur und Selbstreinigung.** Während auf glatten Oberflächen die Partikel hauptsächlich durch Wasser umverteilt werden (a), haften sie auf rauen Oberflächen an den Tröpfchenoberflächen und werden beim Abperlen der Tröpfchen von den Blättern entfernt (b) [52].

Bereits 1997 entschlüsselten Neinhuis und Barthlott die Funktionsweise der selbstreinigenden Fähigkeiten der Lotus-Pflanze [52]. Demnach sind die Voraussetzungen für die Selbstreinigungsfähigkeit die Oberflächenrauigkeit und die hohe Oberflächenspannung des Wassers [53]. Durch die Rauigkeit der Oberfläche wird die Haftung zwischen Kontaktfläche und Partikel reduziert, während die Kontaktfläche zwischen Partikel und Wassertropfen, und damit die Haftung, größer ist, sodass der Partikel mit dem Wassertropfen abperlt [53].

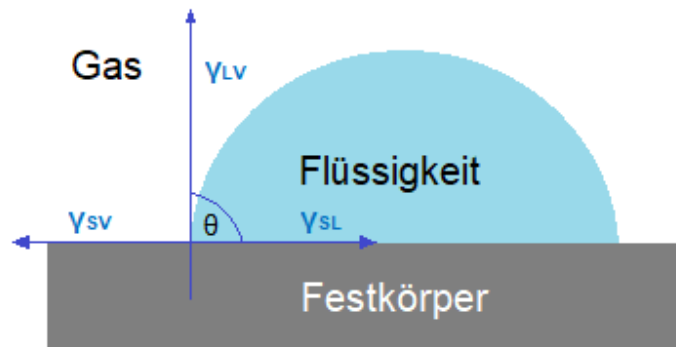
Der Selbstreinigungseffekt von Oberflächen wurde schon erfolgreich bei technischen Produkten nachgeahmt und umgesetzt. Beispiele hierfür wären Fassadenbeschichtungen für Häuser oder Sprays zur Imprägnierung [54].

### 1.3.2. Grundlagen der Benetzung

Je nachdem, wie sich ein Wassertropfen auf einer festen Oberfläche verhält, kann die Oberfläche als hydrophil, hydrophob oder superhydrophob eingestuft werden [55]. Eine hydrophile Oberfläche zeigt eine starke Affinität zu Wasser, während eine hydrophobe Oberfläche Wasser stark abstößt [56]. Um eine Oberfläche auf diese Art und Weise einteilen zu können, werden folgende Parameter verwendet: Kontaktwinkel und Abperlwinkel [57] [58] [2]. Wie Abbildung 5 zeigt, entspricht der Kontaktwinkel  $\theta$  dem Winkel zwischen der Festkörperoberfläche und der Tangente an der Phasengrenze Festkörper/Flüssigkeit/Gas [59]. Dieser Winkel ergibt sich aus den Kräften, die an den Grenzflächen des Tropfens zum Festkörper (fest/flüssig, flüssig/gasförmig und fest/gasförmig) wirken [59]. Die Kräfte, die hier wirken, sind die Oberflächenspannungen. Diese kann man im Gleichgewichtszustand mit Hilfe der Gleichung nach Young berechnen [60] [61]:

$$\cos \theta = \frac{\gamma_{SV} - \gamma_{SL}}{\gamma_{LV}}$$

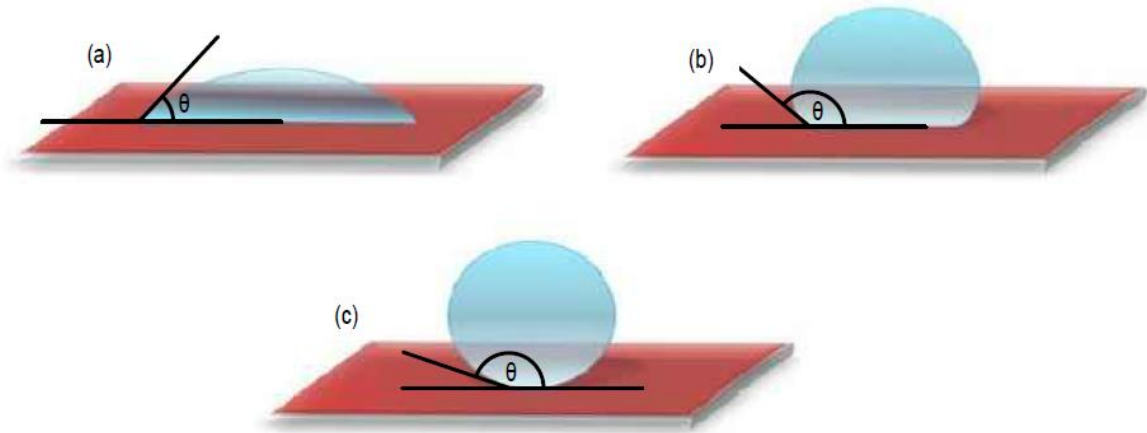
Bei dieser Gleichung beschreibt  $\gamma$  die Oberflächenspannung (d.h. die Energie pro Flächeneinheit). Die Buchstaben S, L und V beschreiben die Phasen und sind Abkürzungen für die englischen Begriffe „solid“ (fest), „liquid“ (flüssig) und „vapour“ (gasförmig) [61].



**Abbildung 5: Flüssigkeitstropfen auf einer Festkörperoberfläche:** Bestimmung des Kontaktwinkels mittels angelegter Tangente am Dreiphasenpunkt Gas/Flüssigkeit/Festkörper



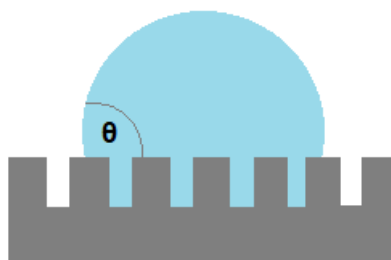
Bei Kontaktwinkeln kleiner als  $90^\circ$  gilt eine Oberfläche als hydrophil (Abbildung 6a), hydrophob bei einem Kontaktwinkel größer als  $90^\circ$  (Abbildung 6b) und superhydrophob bei Kontaktwinkeln über  $150^\circ$  (Abbildung 6c) [62].



**Abbildung 6: Schematische Darstellung:** hydrophile Oberfläche mit Wasserkontaktwinkel kleiner als  $90^\circ$  (a); hydrophobe Oberfläche mit Wasserkontaktwinkel größer als  $90^\circ$  (b) und superhydrophobe Oberfläche mit Wasserkontaktwinkel größer als  $150^\circ$  (c) [2]

### 1.3.3. Cassie – Baxter und Wenzel

Die bisherigen Beobachtungen bezogen sich auf glatte Oberflächen. Um bei Benetzung mit Wasser höhere Kontaktwinkel als  $120^\circ$  zu erreichen, muss eine Oberfläche entweder rau oder chemisch heterogen aufgebaut sein [57]. Durch die raue Oberfläche wird die freie Energie an der Grenze Flüssigkeit – Feststoff effektiv erhöht, wodurch eine starke Wasserabweisung entsteht [57]. Dies wurde erstmals 1936 von Robert N. Wenzel beschrieben [63], der ein geometrisches Modell entwickelte, welches den Rauigkeitsfaktor  $r$  einer rauhen Festkörperoberfläche in die Gleichung mit einbezieht. In seinem Modell benetzt die Flüssigkeit die gesamte Oberfläche vollständig, was als homogene Benetzung oder Wenzel-Zustand bezeichnet wird [64] [2] (siehe Abbildung 7).



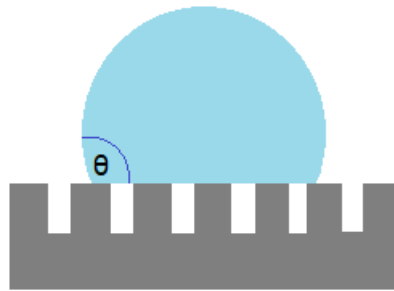
**Abbildung 7: Wenzel Zustand:** die Flüssigkeit liegt innerhalb der Strukturen

Der Wenzel-Kontaktwinkel kann wie folgt berechnet werden:

$$\cos \theta_W = r \cos \theta$$

wobei  $\theta_W$  den Kontaktwinkel nach Wenzel auf einer rauen Oberfläche bezeichnet, während  $\theta$  den Kontaktwinkel einer flachen Oberfläche beschreibt [65].

Aufgrund von Kapillarkräften kann es für Flüssigkeiten schwierig sein, in die Erhebungen einer rauen Oberfläche einzudringen [66]. Demnach kann es für die Flüssigkeit energetisch vorteilhaft sein, die Oberseiten der Erhebungen zu überbrücken, so dass der Tropfen auf einer Verbundoberfläche der festen Oberseiten und der Luftspalte sitzt [67] (siehe Abbildung 8). Cassie und Baxter beobachteten die Änderung des Kontaktwinkels, wenn der Tropfen nur noch auf den Erhebungen der feinstrukturierten Oberflächen liegt [68].



**Abbildung 8: Cassie-Baxter Zustand:** der Tropfen liegt auf den Erhebungen der rauen Oberfläche

Nach Cassie und Baxter lässt sich der Kontaktwinkel mit folgender Formel berechnen [69]:

$$\cos \theta_{CB} = f (\cos \theta + 1) - 1$$

$\theta_{CB}$  beschreibt den Kontaktwinkel nach Cassie-Baxter,  $\theta$  bezeichnet den Kontaktwinkel auf einer flachen Oberfläche. Bei einer rauen Oberfläche, die nur eine Art von Unebenheiten enthält, bezeichnet  $f$  den Feststoffanteil, demnach wird der Luftanteil als  $(1 - f)$  bezeichnet. Dies zeigt, dass, wenn eine raue Oberfläche mit Wasser in Kontakt kommt, Lufteinschlüsse im Muldenbereich auftreten können, die wesentlich zur Erhöhung der Hydrophobie beitragen [65].

Anhand dieser Prinzipien wurden bereits zahlreiche Studien durchgeführt, um Superhydrophobie mit Hilfe von Konstruktionen der Oberflächenrauheit in industriellen Bereichen zu realisieren [70]. Insbesondere bei der Imprägnierung von

Kleidung, Beton, Farben, Windschutzscheiben und Fensterscheiben, oder bei Materialien mit sehr geringer Reibung im Wasser (wie Boots- oder Badeanzugbeschichtungen, Kunststoffe für die Mikrofluidik) ist die wasserabweisende Wirkung sehr von Vorteil [71].

## 1.4. Zielsetzung

Sowohl *Escherichia coli* als auch *Enterococcus faecalis* sind starke Biofilmbildner. Da vor allem im medizinischen Bereich eine Infektion mit Biofilmbildnern ein sehr großes Risiko für den Patienten birgt, wird in der Forschung nach einer Möglichkeit gesucht, um die Biofilmbildung zu verhindern. Hierbei gibt es bereits zahlreiche Ansätze die Vermehrung der Bakterien zu unterdrücken, beispielsweise mit Hilfe verschiedenster Beschichtungen. Wie im vorherigen Kapitel bereits erwähnt, gibt es dabei jedoch zahlreiche Probleme. Silberionen zeigen nur kurzfristig einen antimikrobiellen Effekt, der nach 8 Tagen Verweildauer im Körper schon nachlässt. Antibiotische Beschichtungen haben den Nachteil, dass es zur Resistenzentwicklung kommen kann.

Ein weiterer Ansatz besteht darin, durch mikrostrukturierte Oberflächen auf den jeweiligen Implantaten den Bakterien die Möglichkeit zur Adhäsion zu nehmen. Da sich die Nachahmung des Lotuseffektes bereits im industriellen Bereich bewährt hat, wäre es durchaus eine Möglichkeit, diese auch im medizinischen Bereich zu testen. Dabei wäre es vorstellbar, die Oberflächen medizinischer Implantate mit einer Oberflächenstruktur zu versehen, die den Bakterien die Möglichkeit der Anhaftung nimmt, im Sinne einer superhydrophoben Oberfläche.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Biofilmbildung von *Escherichia coli* und *Enterococcus faecalis* auf mikrostrukturierten Oberflächen zu untersuchen. *E. coli* und *Enterococcus faecalis* wurden verwendet, da beide gute, im medizinischen Bereich relevante Biofilmbildner sind und sich darüber hinaus im Labor sehr gut anzüchten lassen. Als Polymer wurde Polydimethylsiloxan verwendet und verschiedene Oberflächengeometrien getestet. Polydimethylsiloxan wird aufgrund seiner billigen Herstellung und guten Biokompatibilität bereits vielfach in der Medizin verwendet. Um die Oberflächen zu charakterisieren wurden die Mikroskopie sowie die Messung von Kontakt-/und Abperlwinkel durchgeführt. Im Anschluss sollten auf den verschiedenen Oberflächen sowohl von *Escherichia coli* als auch von *Enterococcus faecalis* Biofilme gezüchtet und diese anschließend zum Vergleich quantitativ gemessen werden.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Materialien

#### 2.1.1. Samples

Die Oberflächenstrukturen auf den entsprechenden Trägermaterialien wurden von der Firma Hoowaki, LLC Hoowaki LLC, 511 Westinghouse Road, Pendleton, South Carolina 29670 hergestellt. Dazu wurde die sogenannte „Layer – by – Layer (LBL)“ Methode verwendet. Im Allgemeinen ist dies ein zyklischer Prozess, bei dem ein geladenes Material auf ein Substrat aufgebracht, und nach dem Waschen ein entgegengesetzt geladenes Material auf die erste Schicht gebunden wird [72].

Der größte Vorteil der LBL-Baugruppe im Vergleich zu anderen Beschichtungsverfahren ist seine Fähigkeit, nanoskalige konforme Beschichtungen aus einer extrem großen Vielfalt an organischen, anorganischen und biologischen Molekülen und Materialien zu erzeugen [73]. Dabei lassen sich auch Strukturen wie Nanokanäle bzw. nanotexturierte Elemente erzeugen [74]. Der kleinste Spalt innerhalb eines Nanokanals wurde mit einem Polymer/Polymer-Mehrschichtaufbau realisiert, wobei die ursprüngliche Spaltgröße auf ca. 11nm (Nasszustandsspalt) reduziert werden konnte [74].

Die mechanische Robustheit wird im Wesentlichen durch einfaches Autoklavieren der Beschichtung nach der LBL-Montage erreicht. [74].

##### 2.1.1.1. *Poly-(dimethyl-)Siloxan (PDMS)*

Poly-(dimethyl-)Siloxan, oder kurz PDMS gehört als organisches Polymer zur Gruppe der Silikone [75] [76]. Durch die einfache Handhabung und die vielseitige Einsetzbarkeit, wird PDMS sehr breit eingesetzt. Durch ihre Temperaturbeständigkeit werden Silikone beispielsweise in der Luft-/und Raumfahrtindustrie sowie im Elektronikbereich als elektrische Isolierung verwendet [76]. Aufgrund seiner hohen Biokompatibilität wird PDMS auch im medizinischen Bereich eingesetzt, beispielsweise in Form von Kontaktlinsen [77].

### 2.1.1.2. Mikroskopische Struktur

Sample- nummer	Mikroskopische Struktur			
	Aussehen	Durchmesser/ Seitenlänge	Höhe	Abstand
#000	Kontrolloberfläche, ohne Mikrostrukturen			
#002	rund	50µm	70µm	100µm
#004	quadratisch	10µm x 10µm	25µm	20µm
#006	rund	3µm	6µm	6µm
#007	rund	5µm	10µm	10µm
#008	rund	200µm	350µm	400µm
#009	rund	100µm	200µm	200µm
#012	quadratisch	25µm x 25µm	115µm	50µm
#069	rund	35µm	35µm	35µm
#086	rund (versch. Größen)	3 + 35µm	4 + 45µm	, 6 + 45µm
#401	quadratisch	10 x 10 µm 50 x 50µm	25µm	100µm

Tabelle 2: Samplenummern mit mikroskopischer Struktur

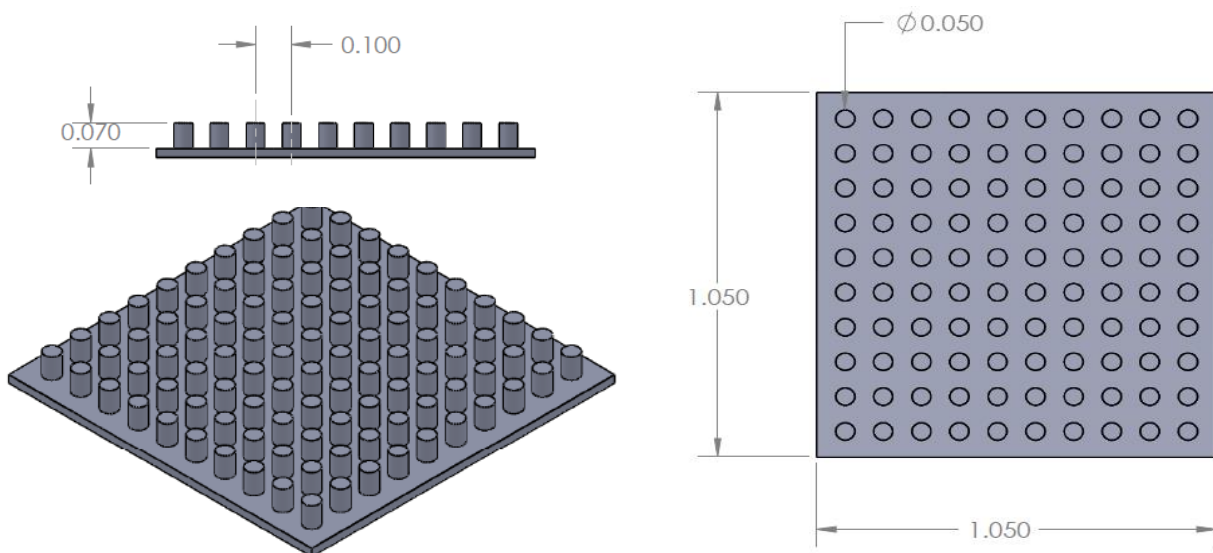


Abbildung 9: CAD - Darstellung von Sample #002 (alle Angaben in Millimeter)

### 2.1.2. Bakterienstämme

#### *E. coli* (DH10β)

F-, endA1, recA1, galE15, galK16, nupG, rpsL, ΔlacX74, Φ80lacZΔM15, araD139, Δ(ara,leu) 7697, mcrA, Δ(mrr-hsdRMS-mcrBC), λ-. Dieser Bakterienstamm wurde von der Firma Invitrogen bezogen.

#### *E. faecalis*

Genome Announc. 2016 Sep 29;4(5). pii: e01061-16. doi: 10.1128/genomeA.01061-16. Draft Genome Sequences of the Probiotic Enterococcus faecalis Symbioflor 1 Clones DSM16430 and DSM16434. Fritzenwanker M(1), Chakraborty A(1), Hain T(1), Zimmermann K(2), Domann E(3)

Der von uns verwendete Stamm "Symbioflor" ist Teil eines kommerziell erhältliches probiotischen Präparats, das verwendet wurde, da dieser Stamm als S1 eingestuft wurde und deshalb ohne besondere Sicherheitsvorkehrungen im Labor verwendet werden kann.

### 2.1.3. Puffer und Stammlösungen

Alle für die Kultivierung von Bakterien verwendeten Puffer, Lösungen und Nährmedien wurden sofort nach ihrer Herstellung autoklaviert oder sterilfiltriert und wenn nicht anders beschrieben bei Raumtemperatur (RT) gelagert.

#### Bakterienkultivierung

LB – Medium: Natriumchlorid 5g/L, Trypton 10g/L, Hefeextrakt 5g/L, pH 7,0 (25°C) [78]

TSB – Medium: Casein Pepton 17g/L, di-Kaliumhydrogenphosphat 2,5g/L, Glucose 2,5g/L, Natriumchlorid 5g/L, Soja Pepton 3g/L, pH 7,3 (25°C) [79]

### **Abwaschen der überschüssigen Bakterien:**

PBS – Puffer: Natriumchlorid 8,0g, Kaliumchlorid 0,2g,  
Dinatriumhydrogenphosphat 1,15g,  
Kaliumhydrogenphosphat 0,2 g[80]

### **Agarosegelelektrophorese:**

*Agarosegel:* Agarose 1,5% in TBE  
*Laufpuffer:* TBE (TRIS – Borat – EDTA – Puffer)  
*Färbemittel:* Ethidiumbromid (4µl in 40ml Gel)

#### **2.1.4. Primersequenzen**

<b>Primer</b>	<b>Sequenz 5' → 3'</b>
EFS1_0029_FRW	TTAGCCCAGTTTCCGCTGAC
EFS1_0029_REV	AACTGGCCGTCCAATCACAT
EFS1_2443_FRW	ACACCTAAACCGACTAGAATAGC
EFS1_2443_REV	GGTCCAATCGCTGAAAGAATGC
EFS1_2450_FRW	AAACGTTGCGAACTCTTGGC
EFS1_2450_REV	TGTTTTTGGCTGGCGTGATG

**Tabelle 3: Verwendete Primer**



## 2.2. Methoden

### 2.2.1. Bestimmung der Hydrophobizität der Samples

Vor der Bestimmung der Kontakt-/und Abperlwinkel wurden die Samples nach einem Protokoll der Firma Hoowaki gesäubert. Hierzu wurden die PDMS (Polydimethylsiloxan) Samples in einer 2% - igen Verdünnung von Micro-90 Reinigungslösung eingeweicht und 10 Minuten im Ultraschallbecken gereinigt. Anschließend wurden die Samples fünf Mal mit destilliertem Wasser abgespült und im Anschluss weitere 5 Minuten im Ultraschallbecken mit destilliertem Wasser gereinigt, um Rückstände der Spülflüssigkeit restlos zu entfernen. Zum Schluss wurden die PDMS Samples in Aceton eingeweicht und mit Druckluft getrocknet [81].

Im Anschluss an die Säuberung wurden die Samples bei Raumtemperatur weitestgehend staubfrei gelagert.

Um die oben beschriebenen Beobachtungen von Cassie-Baxter und Wenzel nachvollziehen zu können, wurden die Kontakt-/und Abperlwinkel auf den verschiedenen Samples gemessen. Auf diese Art und Weise können die unterschiedlichen Mikrostrukturierungen der Oberfläche der Samples nach ihrer Hydrophobizität beurteilt werden.

#### 2.2.1.1. Messung der Abperlwinkel

Zur Messung der Abperlwinkel wurden die Samples mit strukturierter Seite nach oben in eine Petrischale gelegt, welche an einem Kipptisch befestigt wurde. Anschließend wurde ein Tropfen der zu messenden Lösung auf das Sample gegeben und der Kipptisch langsam geneigt. Der Winkel  $\alpha$ , bei dem die Tropfen anfangen das Sample hinabzurollen, wurde mittels Goniometer gemessen und notiert. Hierbei ergaben sich Ergebnisse für die Tropfengrößen 10 $\mu$ l, 20 $\mu$ l, 50 $\mu$ l, 70 $\mu$ l und 100 $\mu$ l. Jede Messung wurde mindestens drei Mal wiederholt. Als Lösungen wurden destilliertes Wasser, LB – Medium, TSB – Medium, sowie eine Suspension von *E. coli* und *Enterococcus faecalis*, jeweils mit einer optischen Dichte von 0,1 (gemessen bei 600nm) verwendet.

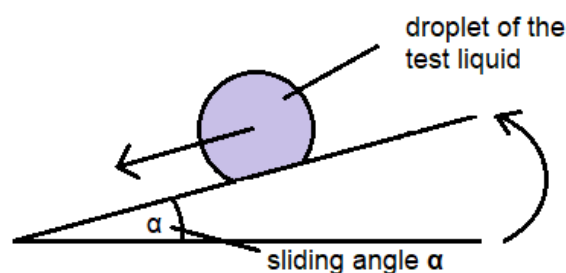


Abbildung 10: Messung der Abperlwinkel

### 2.2.1.2. *Messung der Kontaktwinkel*

Das Sample wurde mit der Mikrostruktur nach oben schauend auf eine Petrischale gelegt. Anschließend wurde eine Kamera mit Makroobjektiv auf einem Stativ in einer exakten Entfernung von der Petrischale positioniert. Dadurch konnte gewährleistet werden, dass alle Fotos im gleichen Winkel und von der gleichen Entfernung aus geschossen wurden. Anschließend wurden jeweils drei Tropfen der Größe 10µl, 20µl, 50µl oder 100µl auf das Sample gegeben und mit Hilfe der Kamera abgelichtet. Hierbei erfolgten Aufnahmen für Tropfen von LB – Medium, TSB – Medium, mit destilliertem Wasser, sowie für eine Bakteriensuspension von *E. coli* und *E. faecalis* mit einer optischen Dichte von jeweils 0,1 (gemessen bei 600nm). Die Messung der Kontaktwinkel, sowohl rechts als auch links, erfolgte im Anschluss digital mit Hilfe des Programms ImageJ [82].

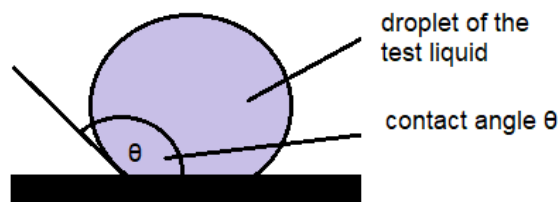


Abbildung 11: Messung der Kontaktwinkel

## 2.2.2. Bakterienkultur

### 2.2.2.1. *Vermehrung und Aufbewahrung*

Zur Kultivierung von Bakterien in Suspension wurde für *E. coli* Luria Broth Medium [16] und für *E. faecalis* Tryptic Soy Broth (TSB) verwendet. Hierbei wurden die Bakterien über Nacht bei 37°C im Inkubator kultiviert. Zur Selektion plasmidhaltiger Stämme wurde Ampicillin (100mg/l) in einer Konzentration von 1:1000 zum LB – Medium gegeben, um nur diejenigen *E. coli* Bakterien, welche den Vektor für die Ampicillin – Resistenz aufgenommen haben zu kultivieren und damit sicherzustellen, dass sich ausschließlich *E. coli* – Bakterien in der Suspension befinden und verwendet werden. Zur Aufbewahrung wurden jeweils 885µl der Zellsuspension mit 115µl Glycerin 100% versetzt und bei -80°C eingefroren und gelagert.

### 2.2.2.2. Transformation

Die Transformation der *E. coli* Bakterien wurde nach dem Protokoll des Labors von Prof. Olivier Gires im Klinikum Großhadern durchgeführt.

Für die Transformation wurden Aliquoten der kompetenten *E. coli* Bakterien auf Eis aufgetaut. Anschließend wurde zu 50µl der Bakteriensuspension 1µl Plasmid mit dem passenden Vektor gegeben und 30min auf Eis gelagert. Dann wurde der Ansatz 1min lang bei 42°C einem Hitzeschock ausgesetzt und direkt im Anschluss wieder für 2min auf Eis gelagert. Im letzten Schritt wurden 950µl LB – Medium zum Ansatz gegeben und die Probe unter leichtem Schütteln (800-900rpm) für 30 bis 45 Minuten bei 37°C inkubiert. Der Ansatz wurde zentrifugiert, der flüssige Überstand abgegossen und das Pellet auf Agarplatten mit Ampicillin ausplattiert.

### 2.2.3. Molekularbiologische Methoden

#### 2.2.3.1. Standard PCR (Polymerase Chain Reaction)

Zur Identifizierung des verwendeten *E. faecalis* - Stammes wurde die Taq-Polymerase (MBI Fermetas) mit den Primern, die *E. faecalis Symbioflor* identifizieren, verwendet. Es wurden der folgende Reaktionsansatz und folgendes PCR Programm verwendet:

Primer	Sequenz 5' → 3'
EFS1_0029_FRW	TTAGCCCAGTTTCCGCTGAC
EFS1_0029_REV	AACTGGCCGTCCAATCACAT
EFS1_2443_FRW	ACACCTAAACCGACTAGAATAGC
EFS1_2443_REV	GGTCCAATCGCTGAAAGAATGC
EFS1_2450_FRW	AAACGTTGCGAACTCTTGGC
EFS1_2450_REV	TGTTTTTGGCTGGCGTGATG

Tabelle 4: Primersequenzen

**EFS1\_0029:** PTS-System, cellobiosespezifische IIC-Komponente  
Chromosome: 34,070-35,371 forward strand.  
ASM31791v1:HF558530.1 [83]

**EFS1\_2443:** cellobiosespezifisches PTS-System, IIC-Komponente, mutmaßlich  
[83]

**EFS1\_2450:** Typ I Restriktionsenzym, R-Untereinheit [83]

Reagenz	Volumen
gDNA	1µl
Forward Primer	1µl
Backward Primer	1µl
Taq Puffer	5µl
dNTP (10mM)	1µl
MgCl <sub>2</sub> (25mM)	10µl
Taq – Polymerase	2,5µl
H <sub>2</sub> O	1µl

**Tabelle 5: Reaktionsansatz der PCR**

Temperatur	Zeit	Zyklen	Reaktion
95°C	5min	1	Denaturierung
95°C	30s	35 Zyklen	
57°C	1min		Annealing
72°C	2min		Elongation
72°C	10min	1	Kühlung
4°C			

**Tabelle 6: Protokoll PCR**

### **2.2.3.2. Agarose Gelelektrophorese**

Die Agarose Gelelektrophorese wurde nach dem Protokoll von C. Aaij und P. Borst durchgeführt [84]. Dabei wurden zunächst die DNA - Fragmente in Agarosegelen aufgetrennt. Als Laufpuffer wurde 1 x TBE (Tris – Borat – EDTA – Puffer) verwendet. Das im Agarosegel zugegebene Ethidiumbromid interkalierte in die DNA, wodurch die aufgetrennten Nukleinsäuren unter UV – Licht visualisiert werden konnten.

### **2.2.4. Biofilmbildung auf den Samples**

#### **2.2.4.1. Statische Inkubation von Bakterien auf den Samples**

Übernachtskulturen von *E. coli* und *E. faecalis* wurden auf eine optische Dichte von 0,1 (gemessen bei 600nm) verdünnt. Anschließend wurden jeweils 3 Tropfen mit 200µl der Bakterienkultur und 100µl des passenden Mediums auf das Sample gegeben und die Samples in eine Petrischale gelegt. Die Petrischale mit dem Sample wurde in eine mit feuchten Papiertüchern ausgelegte Box gegeben und annähernd luftdicht verschlossen.

Nach 18h bis 24h Bebrütung bei 37°C im Brutschrank wurden die Samples mit je 200µl PBS gewaschen und anschließend mit 0,2% Kristallviolett-Lösung für 20min gefärbt. Kristallviolett ist ein Farbstoff, der an Proteine und DNA bindet, womit die Adhärenz von lebenden und toten Zellen nachgewiesen werden kann [85]. Anschließend wurde die Lösung mit klarem Leitungswasser abgespült und die Samples vor der Extinktionsmessung getrocknet. Die mit Kristallviolett gefärbten Bakterien wurden unter dem Mikroskop betrachtet und anschließend quantitativ gemessen (s.u.).

#### **2.2.4.2. Inkubation von Bakterien auf den Samples im Shaker**

Übernachtskulturen von *E. coli* und *E. faecalis* wurden auf eine optische Dichte von 0,1 (gemessen bei 600nm) verdünnt. Die Samples wurden in eine Petrischale geklebt und zum Boden der Petrischale hin abgedichtet. In einer Petrischale befanden sich dabei jeweils zwei verschiedene Samples sowie ein Kontrollsample ohne Mikrostruktur (#000). Anschließend wurden die Samples mit der jeweiligen Bakteriensuspension übergossen, bis diese vollständig bedeckt waren. Der Deckel der Petrischale wurde aufgesetzt und die Schalen in einen mit feuchten Tüchern ausgelegten Behälter gegeben, der ebenfalls annähernd luftdicht abgeschlossen wurde. Nun wurden die Samples bei 60rpm und 37°C im Shaker bebrütet. Die Auswertung erfolgte nach 18h.



**Abbildung 12:** Versuchsaufbau Biofilm auf Sample

#### **2.2.4.3. Quantitative Messung des Biofilms**

Nach 18-stündiger Bebrütung wurden die Samples aus dem Shaker genommen und die überschüssige Bakteriensuspension abgegossen. Anschließend wurde jedes Sample mit jeweils 3 x 200µl PBS abgewaschen und mit 3%iger Kristallviolettlösung zwei Minuten lang gefärbt. Im Anschluss wurden die gefärbten Samples unter fließendem Leitungswasser abgewaschen und 10min bei 50°C getrocknet, sodass makroskopisch bereits gefärbte Stellen (Biofilm) sichtbar wurden. Nach dem Trocknen wurden die Samples im Mikroskop unter verschiedenen Vergrößerungsstufen betrachtet und dokumentiert. Zur quantitativen Messung der Biofilmmenge wurden die Samples jeweils mit 4ml 70%-iger Ethanol-Lösung abgewaschen und die optische Dichte bei 600nm gemessen.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Kontaktwinkel

Aufgrund der vorangegangenen Erläuterungen und Berechnungen erwarten wir bei den mikrostrukturierten Oberflächen sehr hydrophobe Kontaktwinkel, d.h.  $\theta > 90^\circ$ .

Die Messungen bei *destilliertem Wasser* ergaben jeweils für die Tropfengrößen von 10 $\mu$ l bis 100 $\mu$ l Kontaktwinkel von 133 $^\circ$  bis 155 $^\circ$  für Sample #002, 139 $^\circ$  bis 157 $^\circ$  für Sample #006, 150 $^\circ$  bis 153 $^\circ$  für Sample #069 und 140 $^\circ$  bis 156 $^\circ$  für Sample #086 (siehe Abbildung 14). Die Unterschiede der Winkel zwischen den einzelnen Samples lassen sich durch die unterschiedliche Oberflächenstruktur erklären, wobei jegliche Veränderung des Oberflächenmusters eine Änderung des Kontaktwinkels bedingt. Darüber hinaus fällt auf, dass die Kontaktwinkel steigen, je größer die Tropfen werden. Dies geschieht, wie in Kapitel 1.3.3. bereits erwähnt, aufgrund von Lufteinschlüssen im Muldenbereich, die zur Erhöhung der Hydrophobie beitragen [65]. Da das Kontrollsample #000 keine Oberflächenstruktur besitzt, ergibt sich hier der kleinste Kontaktwinkel von ca. 104 $^\circ$  (der jedoch durch die höhere Polarität des größeren Wassertropfens ebenfalls leicht ansteigt).

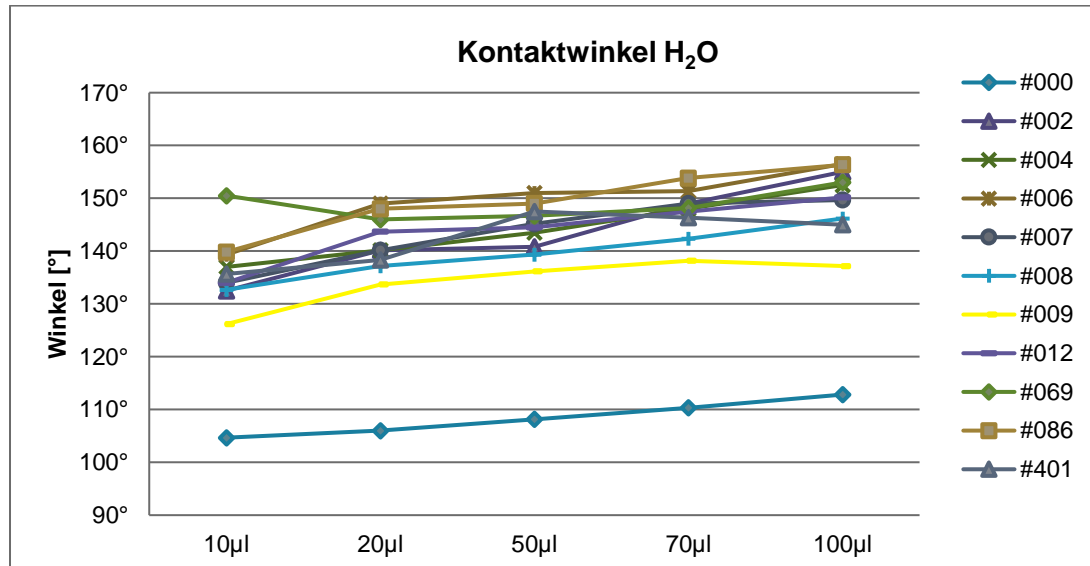
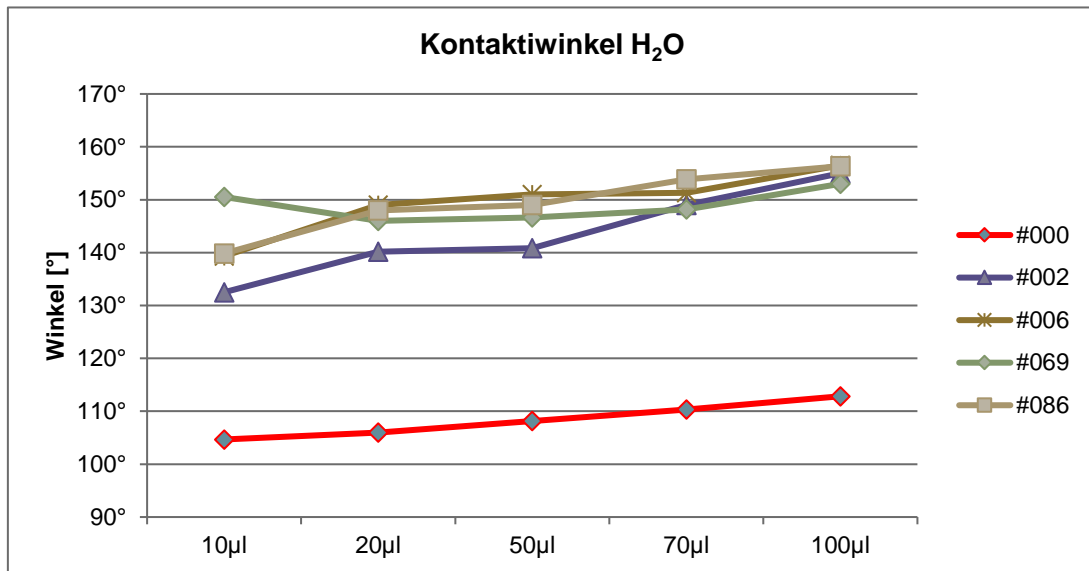
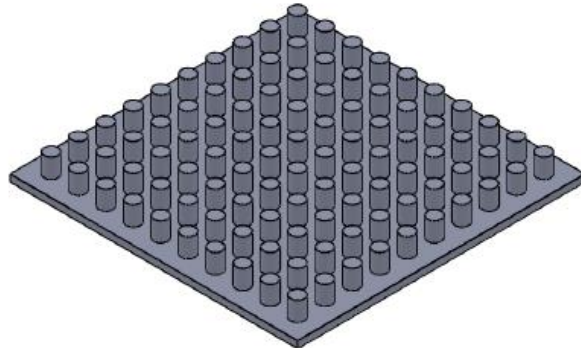


Abbildung 13: Kontaktwinkel destilliertes Wasser

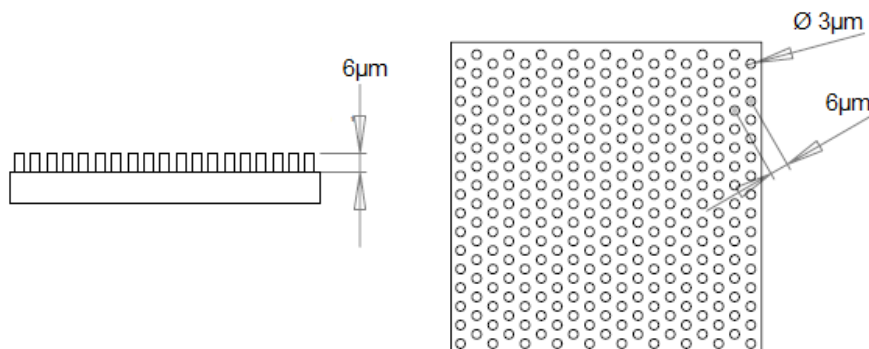


**Abbildung 14:** Samples mit den höchsten Kontaktwinkeln bei Wasser im Vergleich zur Kontrolle #000

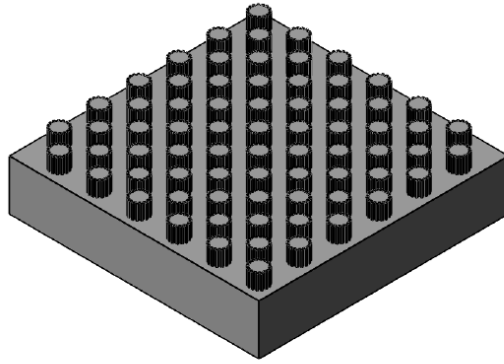
Um genauere Rückschlüsse über die Hydrophobizität der Samples zu gewinnen, sollen die Strukturen der einzelnen Oberflächen miteinander verglichen werden. Die Samples mit der höchsten Hydrophobizität bei destilliertem Wasser sind #002, #006, #069 und #086 (siehe Abbildung 14). Alle diese Samples besitzen runde Strukturen (siehe Abbildung 15 und Abbildung 16), dementsprechend scheint diese Form für destilliertes Wasser am wirkungsvollsten.



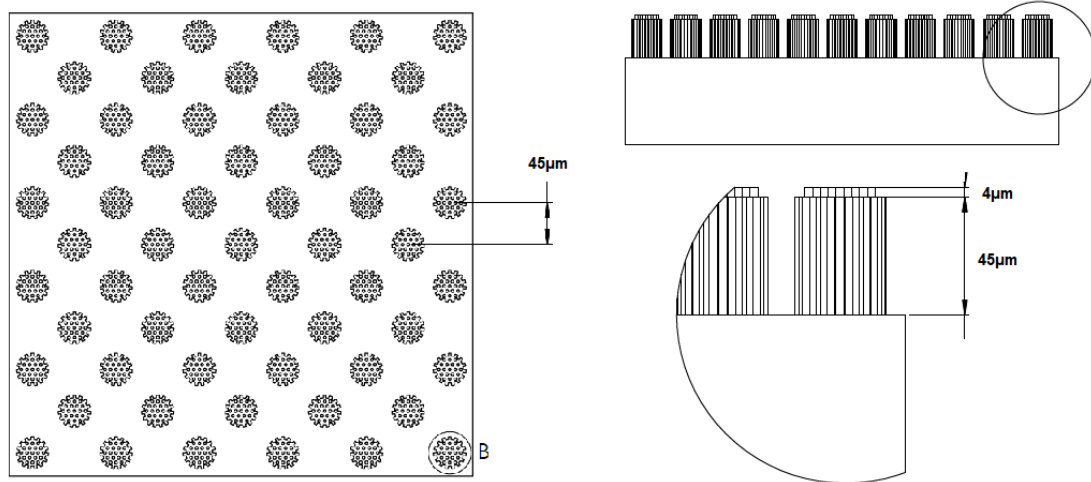
**Abbildung 15:** Oberfläche von Sample #002, das Muster hat runde Strukturen mit 50µm Durchmesser und 70µm Höhe in einem Abstand von 100µm



**Abbildung 16:** Oberfläche von Sample #006, das Muster hat runde Strukturen mit 3µm Durchmesser und 6µm Höhe in einem Abstand von 6µm



**Abbildung 17:** Oberfläche von Sample #069, das Muster hat runde Strukturen mit 35µm Durchmesser und 35µm Höhe in einem Abstand von 35µm



**Abbildung 18:** Oberfläche von Sample #086, das Muster hat runde Strukturen mit 35µm Durchmesser und 35µm Höhe in einem Abstand von 35µm

Bei der Messung der Kontaktwinkel mit einer Suspension von *E. coli* – Bakterien ergaben sich wiederum jeweils für Tropfengrößen von 10µl bis 100µl Winkel von 137° bis 157° für Sample #002, 140° bis 161° für Sample #012, 147° bis 157° für #069 und 145° bis 156° für #086. Diese sind somit als diejenigen mit der höchsten Hydrophobizität unter den getesteten Samples zu bewerten. Die Samples #002 und #069 besitzen runde Strukturen (siehe Abbildung 15, Abbildung 17). Sample #086 hat ebenfalls runde Strukturen, allerdings in verschiedenen Größen und mit unterschiedlichen Abständen bzw. Höhen der Strukturen (siehe Abbildung 18) Sample #012 hat rechteckige Strukturen (siehe Abbildung 21).



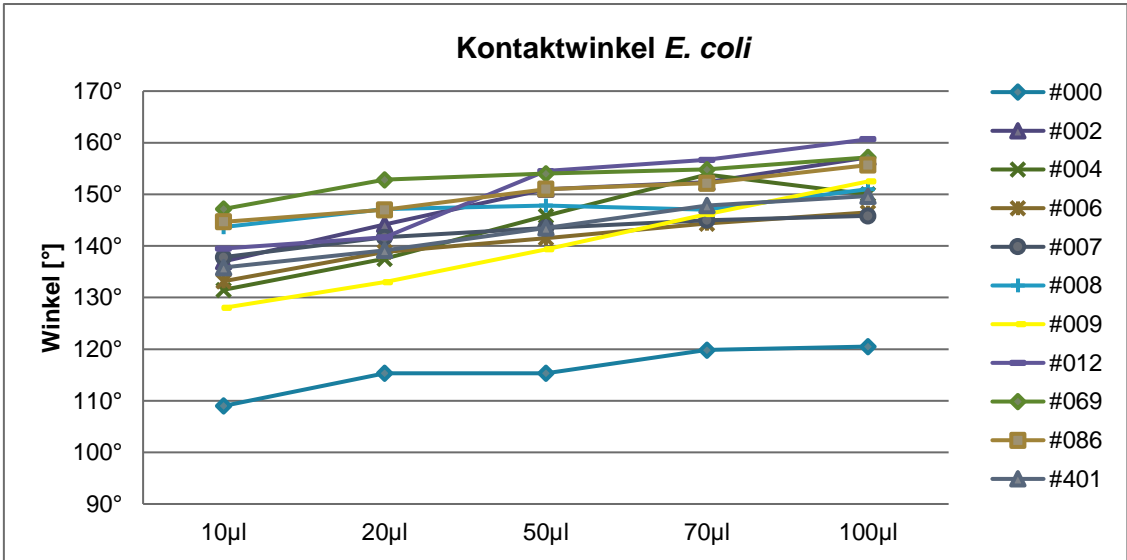


Abbildung 19: Kontaktwinkel *E. coli*

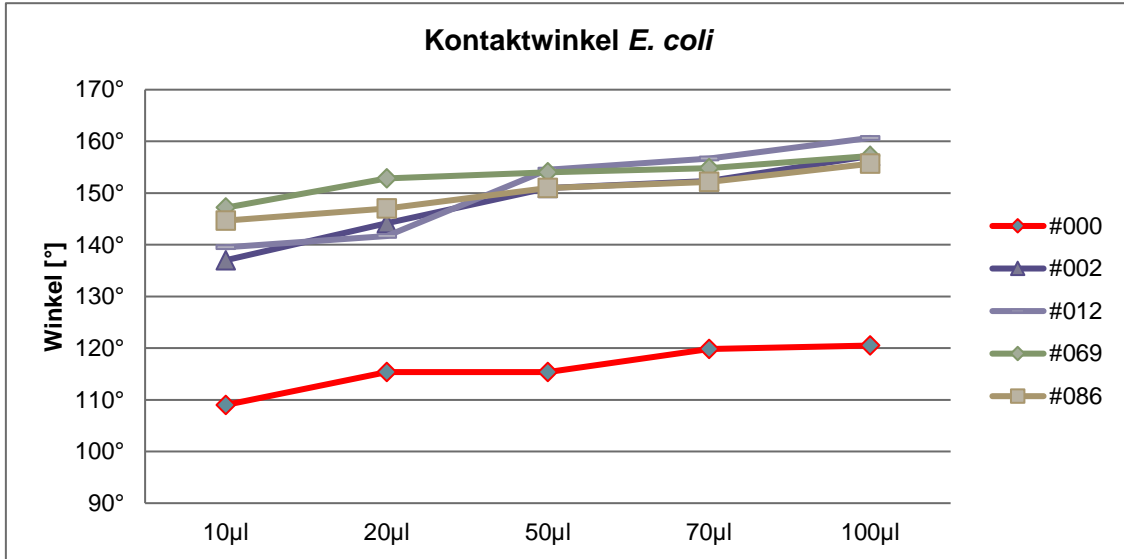


Abbildung 20: Samples mit den höchsten Kontaktwinkeln bei *E. coli* im Vergleich zur Kontrolle #000

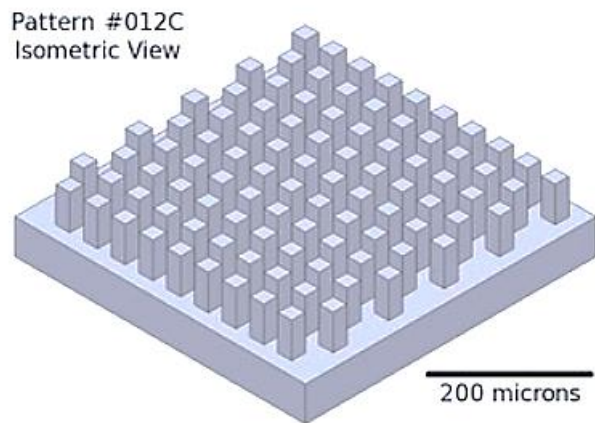


Abbildung 21: Oberfläche von Sample #012, das Muster hat rechteckige Strukturen mit 25 x 25µm Durchmesser und 115µm Höhe in einem Abstand von 50µm

Für die Kontaktwinkel für Tropfengrößen von jeweils 10µl bis 100µl bei einer *E. faecalis* – Suspension ergaben sich Winkel von 139° bis 149° für #006, 131° bis 142° für #007, 134° bis 152° für #069 und 135° bis 158° für #086. Diese sind somit als diejenigen mit der höchsten Hydrophobizität unter den getesteten zu bewerten. Auch hier besitzen die als am hydrophobsten getesteten Samples runde Oberflächenstrukturen (siehe Abbildung 16, Abbildung 24, Abbildung 17 und Abbildung 18)

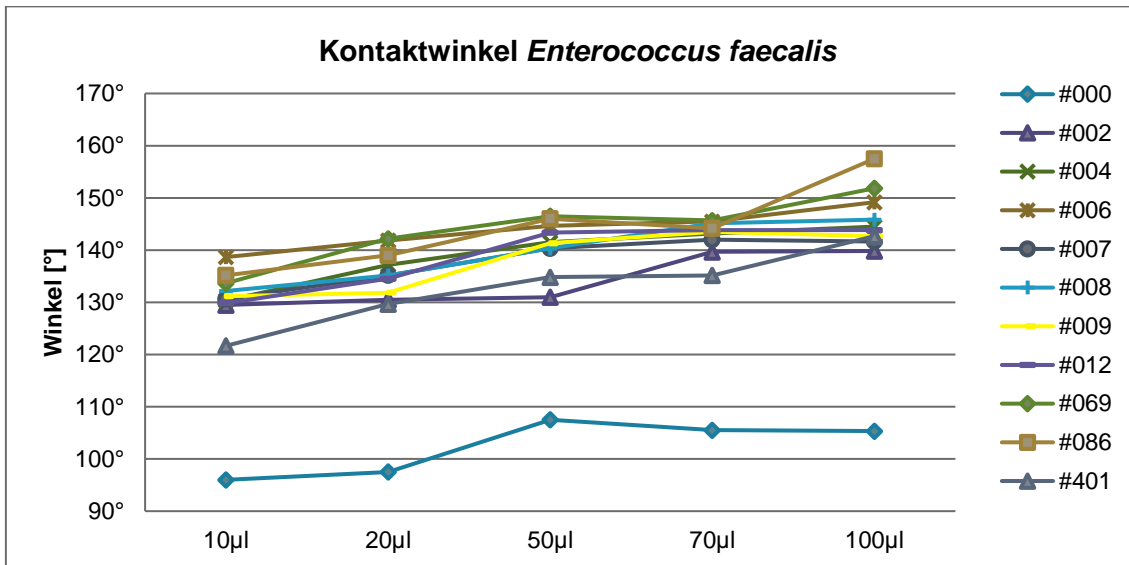


Abbildung 22: Kontaktwinkel *Enterococcus faecalis*

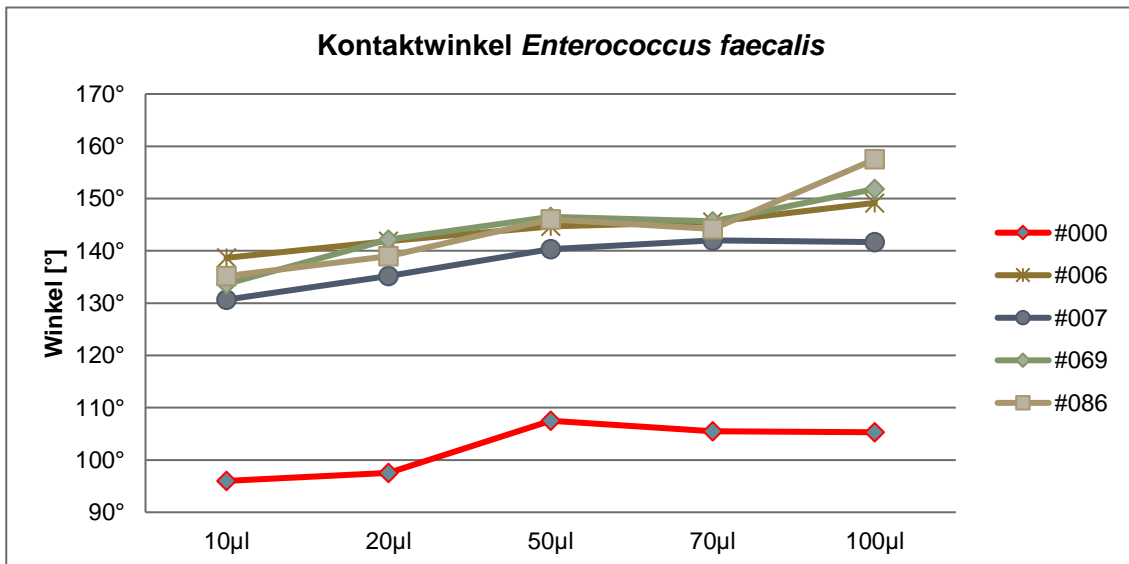
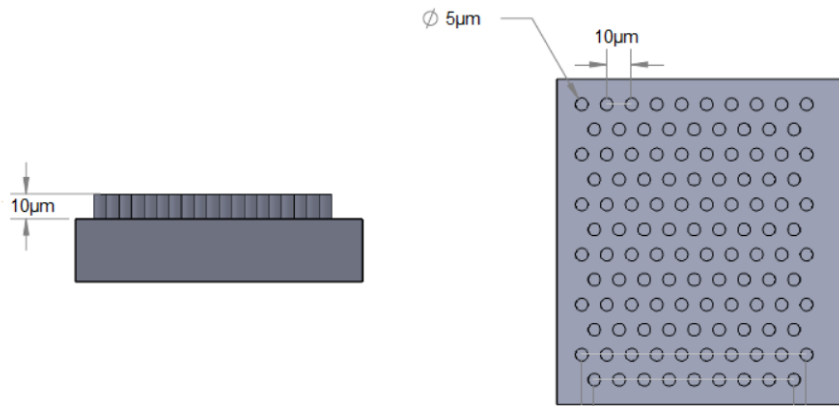


Abbildung 23: Samples mit den höchsten Kontaktwinkeln bei *Enterococcus faecalis* im Vergleich zur Kontrolle #000



**Abbildung 24:** Oberfläche von Sample #007, das Muster hat runde Strukturen mit 5µm Durchmesser und 110µm Höhe in einem Abstand von 10µm

Anhand der Tabellen im Anhang können die Kontaktwinkel aller getesteten Samples für das jeweilige Medium verglichen werden. Der Übersicht halber wurden im Fließtext nur die hydrophobsten Samples aufgeführt.

### 3.2. Abperlwinkel

Als zweiter Versuch zur Beurteilung der Hydrophobizität wurden die Abperlwinkel auf den Samples bei verschiedenen Tropfengrößen gemessen. Hierbei sollten nach dem Prinzip des oben erläuterten Lotuseffektes die Messungen bei besonders hydrophoben Oberflächen einen geringen Abperlwinkel ergeben.

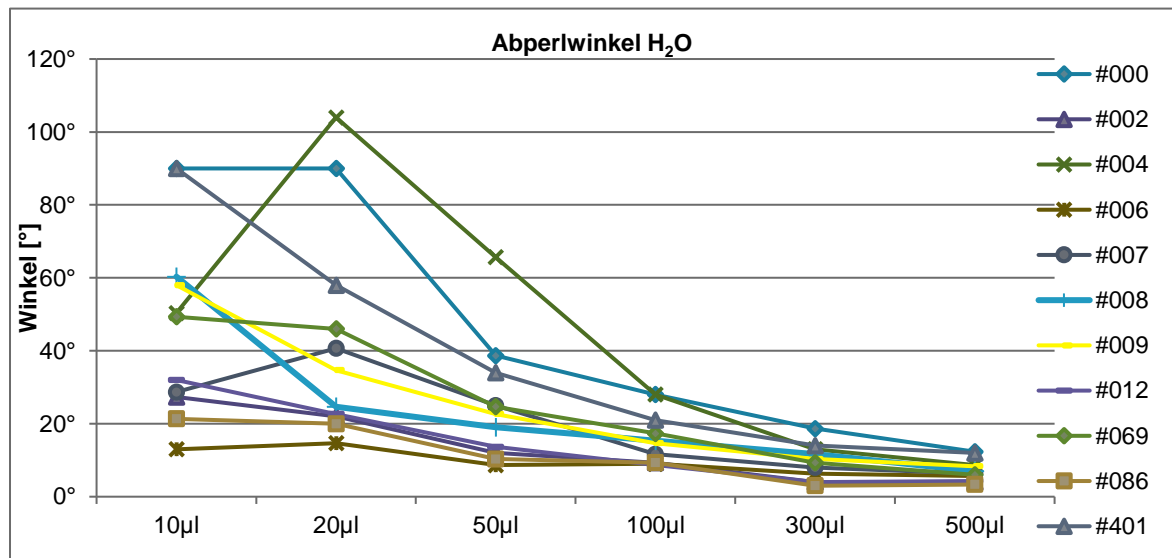


Abbildung 25: Abperlwinkel dest. Wasser, alle getesteten Samples

Die geringsten Abperlwinkel von *destilliertem Wasser* wurden für Sample #002 mit 27° bis 4°, für Sample #006 mit 13° bis 6°, für Sample #012 mit 32° bis 4° und für Sample #086 mit 21° bis 3° gemessen (siehe Abbildung 26). Auch diesen Samples sind die runden Oberflächen – Strukturen gemeinsam (wie schon bei den Kontaktwinkeln).

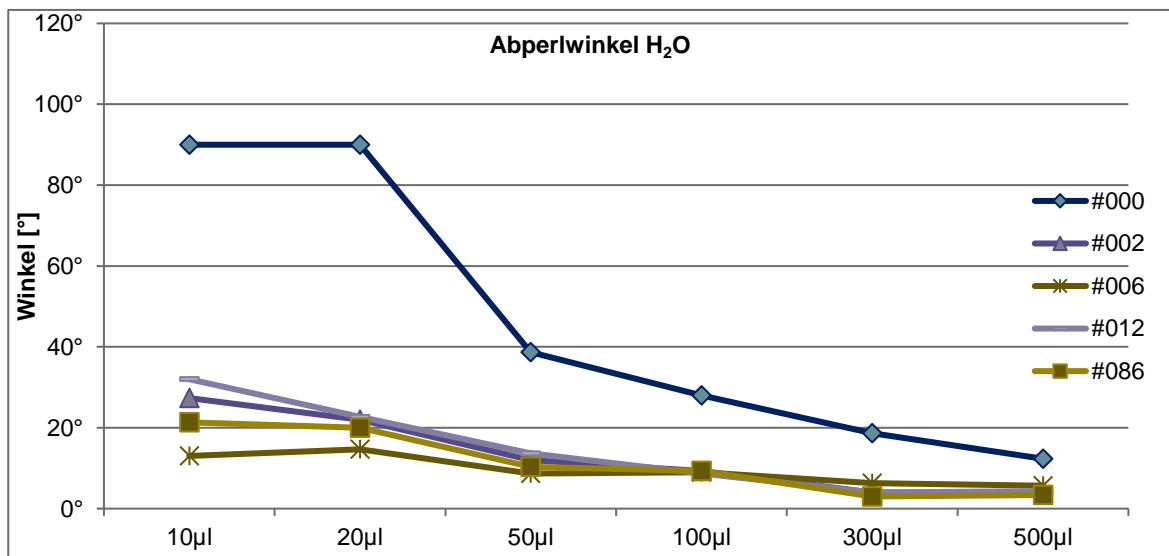


Abbildung 26: Samples mit den niedrigsten Abperlwinkeln bei Wasser im Vergleich zur Kontrolle #000

Bei *E. coli* – Suspensionen wurden Abperlwinkel von 20° bis 5° für Sample #002, 27° bis 8° für Sample #008, 22° bis 6° für Sample #012 und 81° bis 8° für Sample #086 gemessen (siehe Abbildung 28). #002, #008 und #086 besitzen jeweils runde Oberflächenstrukturen mit unterschiedlichen Durchmessern und Abständen (siehe Abbildung 9, Abbildung 29 und Abbildung 18). #012 hingegen hat eine quadratische Oberflächen – Struktur (siehe Abbildung 21).

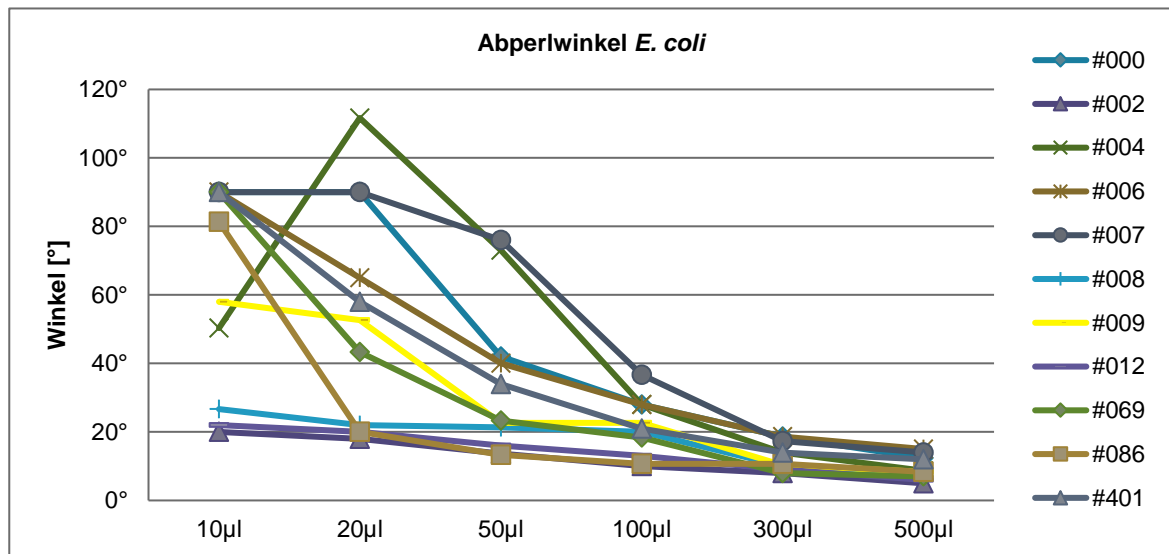


Abbildung 27: Abperlwinkel von *E. coli* auf allen getesteten Samples

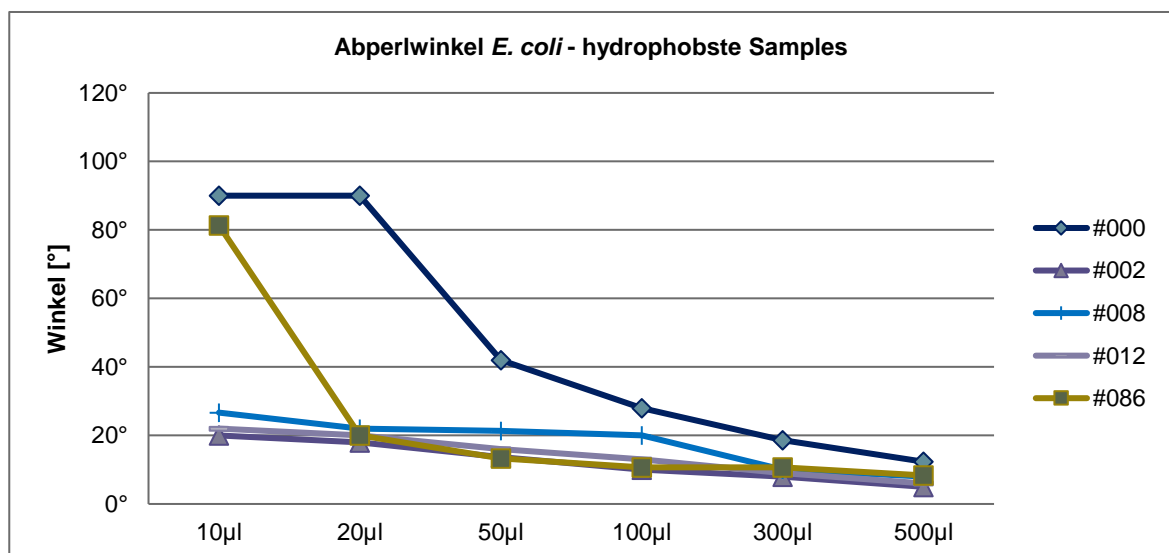
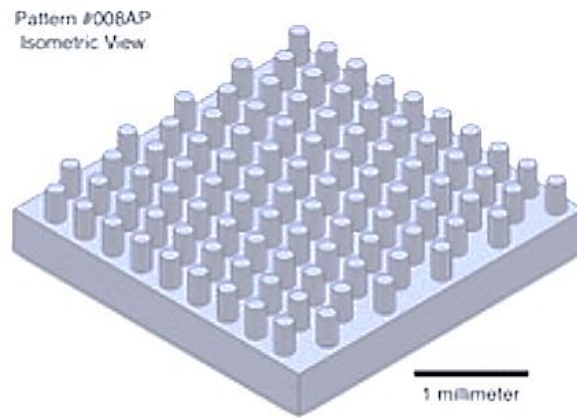
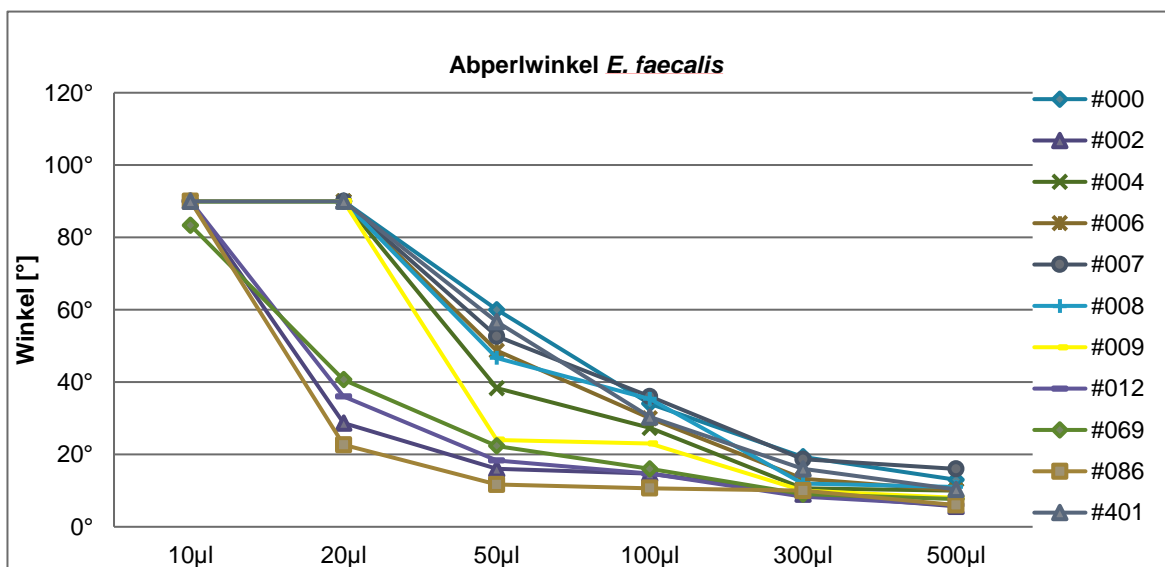


Abbildung 28: Samples mit den geringsten Abperlwinkeln bei *E. coli* im Vergleich zur Kontrolle #000

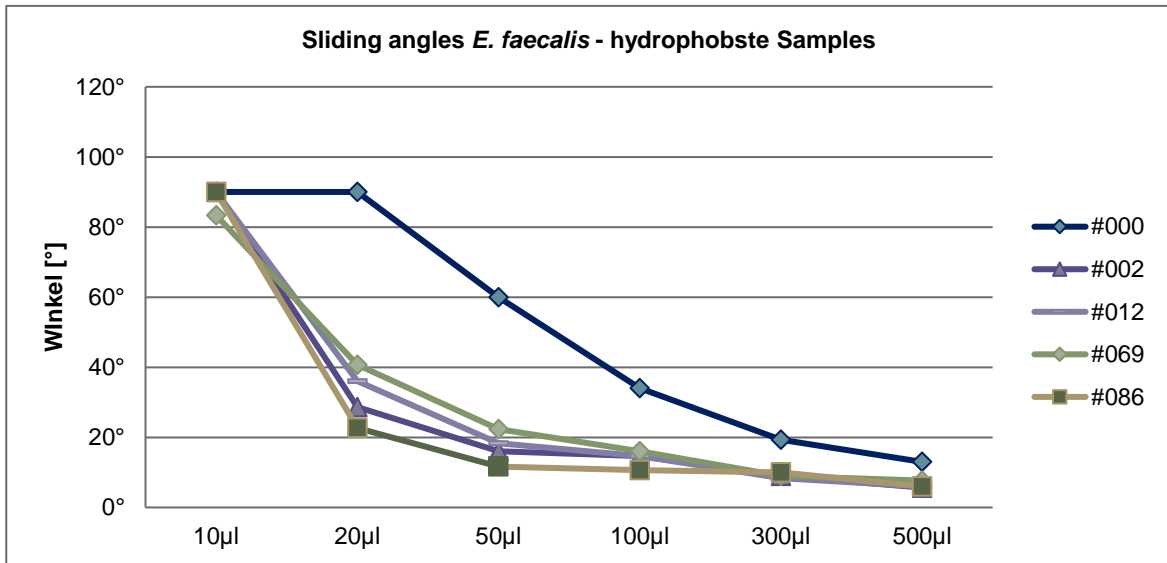


**Abbildung 29:** Oberfläche von Sample #008, das Muster hat runde Strukturen mit 200µm Durchmesser und 350µm Höhe in einem Abstand von 400µm

Die Suspension mit *E. faecalis* ergab Abperlwinkel von 90° bis 13° für Sample #002, 90° bis 6° für Sample #012, 83° bis 7° für Sample #069 und 90° bis 6° für Sample #086 (siehe Abbildung 31). #002, #069 und #086 besitzen runde Oberflächenstrukturen (siehe Abbildung 15, Abbildung 17, Abbildung 18), wohingegen #012 quadratische Strukturen aufweist (siehe Abbildung 21).



**Abbildung 30:** Abperlwinkel *E. faecalis*, alle getesteten Samples



**Abbildung 31:** Samples mit den geringsten Abperlwinkeln bei *E. faecalis* im Vergleich zur Kontrolle #000

Unter den getesteten Samples sind somit die im Text aufgeführten als diejenigen mit der höchsten Hydrophobizität zu bewerten.

### 3.3. Biofilmbildung

Die Samples wurden nach unter 2.2.3. genannter Methode inkubiert und anschließend die unter 2.2.4. genannte Methode zur quantitativen Bestimmung der Biofilmbildung verwendet. Dabei wurde jeweils die optische Dichte (OD) pro Fläche des Samples als Vergleichsgröße herangezogen.

Auf Sample #002 und #008 ergab sich für *E. coli* auf beiden Samples eine höhere Biofilmbildung als auf dem Kontrollsample #000. Die höchste Biofilmbildung auf #002 (siehe Abbildung 33). Bei *E. faecalis* ergab sich ebenfalls auf beiden Samples eine höhere Biofilmbildung als auf der Kontrolle, auch hier zeigte sich mehr Biofilm bei #002 als bei #008 (siehe Abbildung 32).

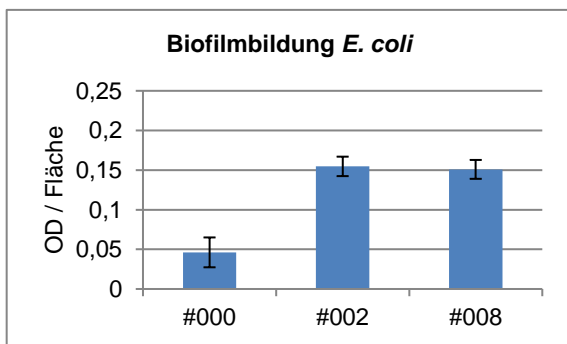


Abbildung 33: Biofilmbildung *E. coli* Sample #002 und #008

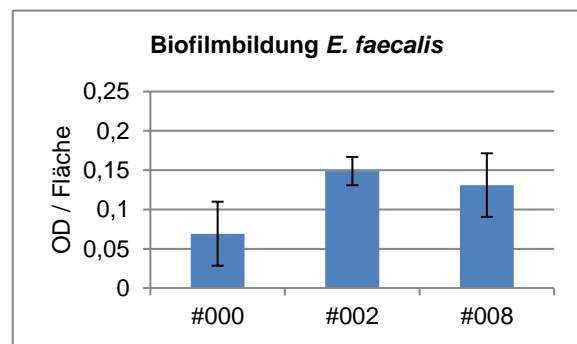


Abbildung 32: Biofilmbildung *E. faecalis* Sample #002 und #008

Sample #004 zeigte die geringste Biofilmbildung sowohl für *Escherichia coli* als auch für *E. faecalis*. (siehe Abbildung 35 und Abbildung 34).

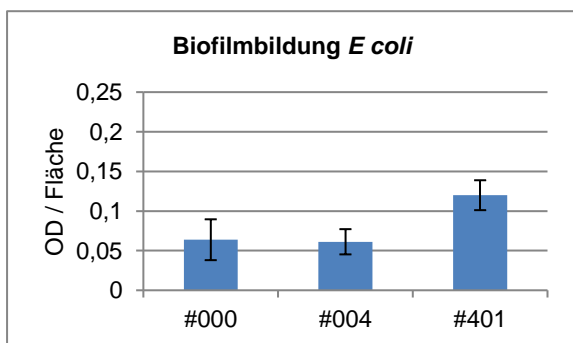


Abbildung 34: Biofilmbildung *E. coli* Sample #004 und #401

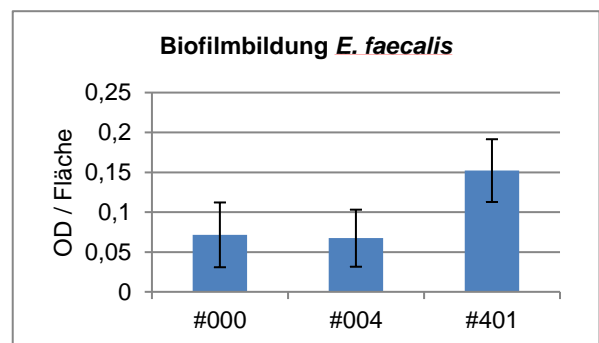
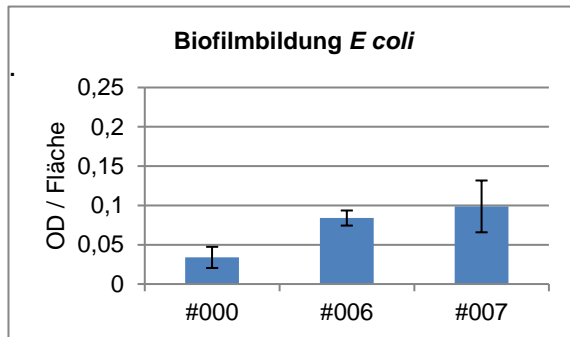


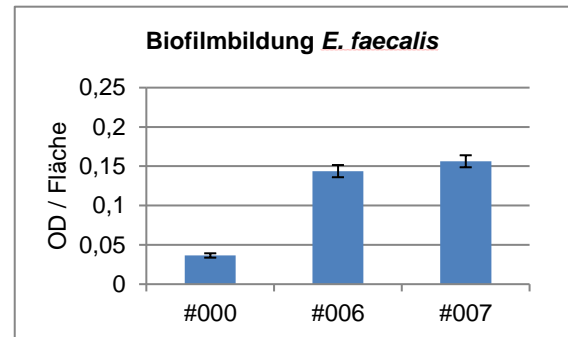
Abbildung 35: Biofilmbildung *E. faecalis* Sample #004 und #401



Für *E. coli* zeigte sich auch auf Sample #006 wenig Biofilmbildung, allerdings trotzdem mehr als auf dem Kontrollsample #000. Dies galt jedoch nicht für *E. faecalis* (siehe Abbildung 37 und Abbildung 36).

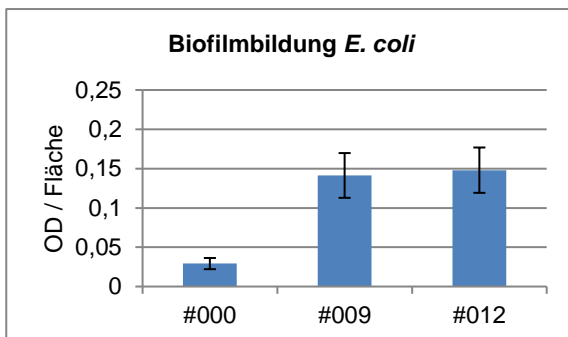


**Abbildung 37:** Biofilmbildung *E. coli* Sample #006 und #007

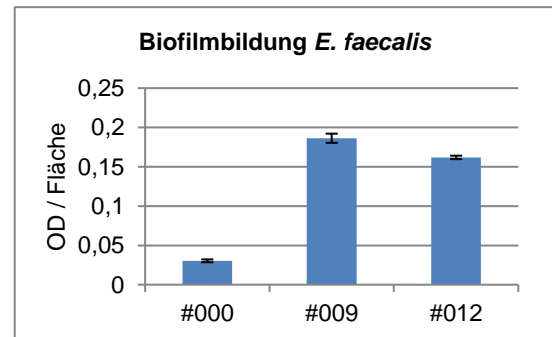


**Abbildung 36:** Biofilmbildung *E. faecalis* Sample #006 und #007

Auf Sample #009 und #012 zeigte sich sowohl bei *E. coli* als auch bei *E. faecalis* deutlich mehr Biofilmbildung auf den mikrostrukturierten Oberflächen im Gegensatz zur Kontrolle (siehe Abbildung 39 und Abbildung 38).

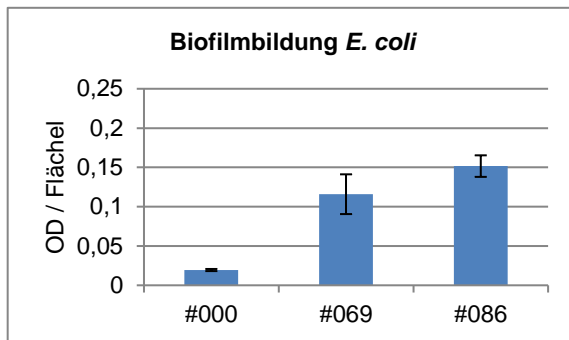


**Abbildung 39:** Biofilmbildung *E. coli* Sample #009 und #012

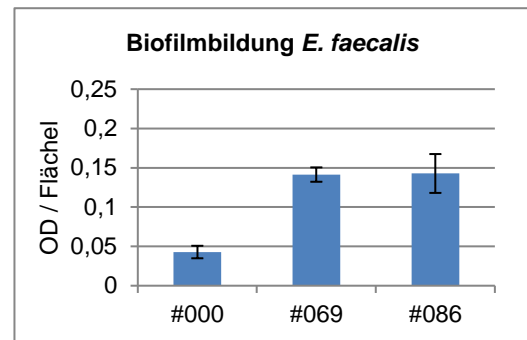


**Abbildung 38:** Biofilmbildung *E. faecalis* Sample #009 und #012

Die letzten zu betrachtenden Samples sind #069 und #086. Hier zeigte sich im Vergleich zum Kontrollsample ebenfalls stärkere Biofilmbildung auf den mikrostrukturierten Oberflächen (siehe Abbildung 40 und Abbildung 41).



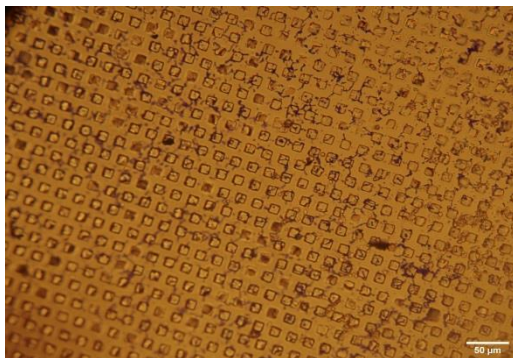
**Abbildung 41:** Biofilmbildung *E. coli* Sample #069 und #086



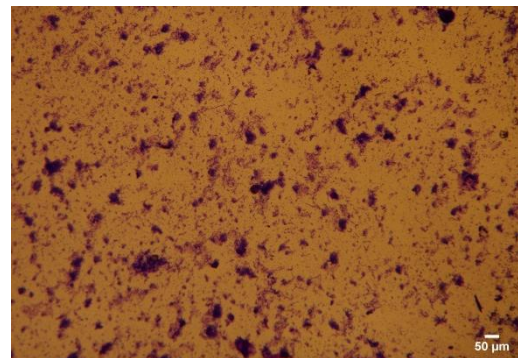
**Abbildung 40:** Biofilmbildung *E. faecalis* Sample #069 und #086

Darüber hinaus galt es herauszufinden, wo sich die Bakterien überwiegend befinden. Mögliche Anhaftungspunkte sind sowohl auf den Erhebungen der Strukturen als auch in deren Zwischenräumen oder an deren Seitenwänden.

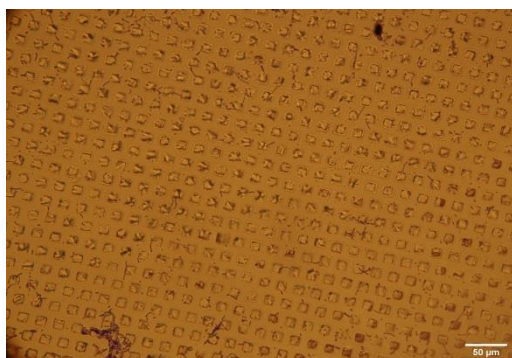
Hierbei zeigte sich, dass sich die Bakterien nach 18h Inkubation sowohl auf als auch zwischen den Erhebungen anhaften (siehe Abbildung 43 und Abbildung 45).



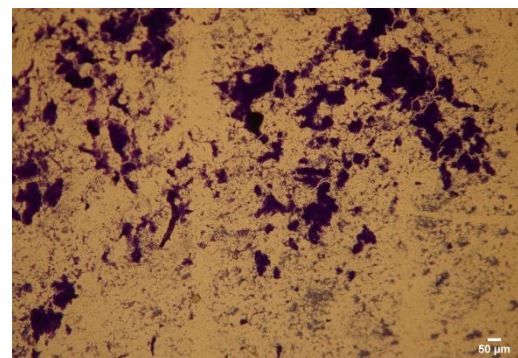
**Abbildung 43:** Biofilmbildung von *E. coli* auf #004 nach 18h Inkubation (400x Vergrößerung)



**Abbildung 42: Kontrolle,** Biofilmbildung *E. coli* auf #000 nach 18h Inkubation (400x Vergrößerung)



**Abbildung 45:** Biofilmbildung *E. faecalis* auf #004 nach 18h Inkubation (400x Vergrößerung)

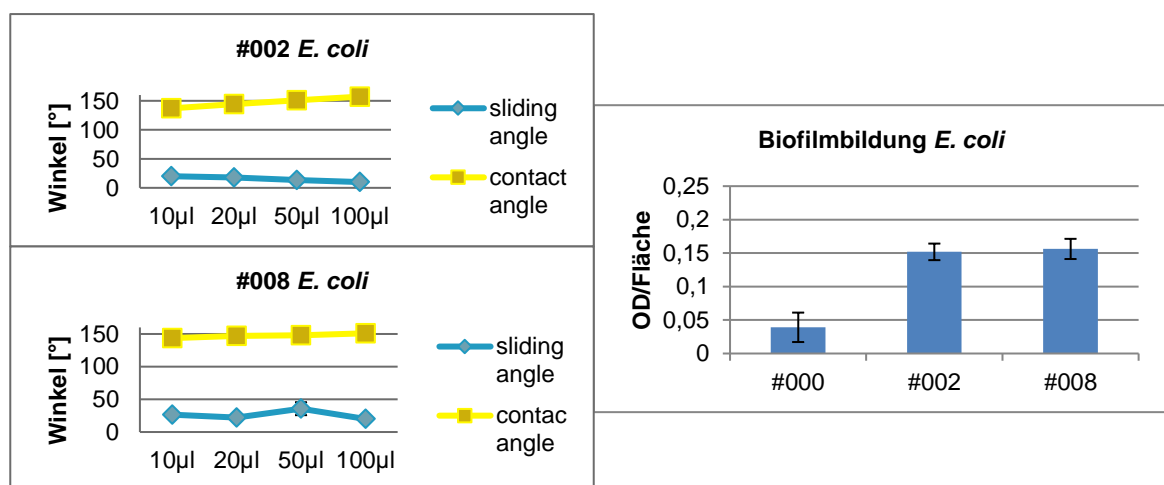


**Abbildung 44: Kontrolle,** Biofilmbildung *E. faecalis* auf #000 nach 18h Inkubation (400x Vergrößerung)

### 3.4. Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung

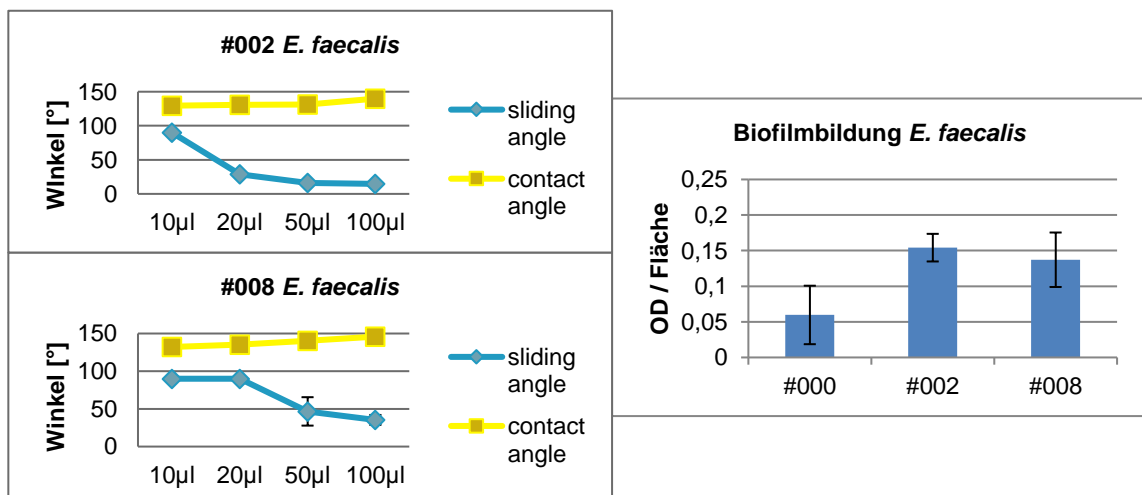
Um die Ergebnisse aus den vorherigen Kapiteln in Zusammenschau besser beurteilen zu können, ist es hilfreich, die Parameter der einzelnen Samples noch einmal gemeinsam zu betrachten.

Anhand der Grafiken kann man erkennen, dass die Kontaktwinkel und Abperlwinkel sowohl auf #002 als auch auf #008 eine hydrophobe Oberfläche zeigen (siehe Abbildung 46). Die Höhe der Biofilmbildung ist allerdings auf dem Kontrollsample #000 ohne mikroskopische Oberfläche am geringsten.



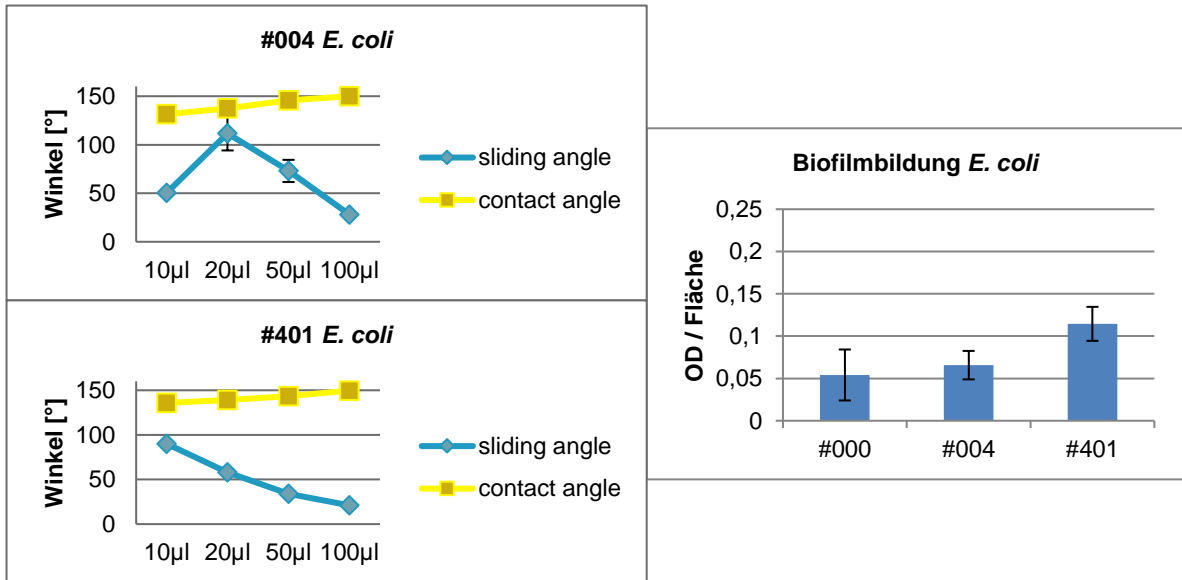
**Abbildung 46:** Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #002 und #008 bei *E. coli*

Ähnlich verhält es sich auf den gleichen Samples mit *E. faecalis* (siehe Abbildung 47). Auch hier lässt sich anhand von Kontakt-/und Abperlwinkel eine hydrophobe Oberfläche darstellen. Die Biofilmbildung ist auf den Samples mit der mikrostrukturierten Oberfläche allerdings deutlich höher als auf dem Kontrollsample.



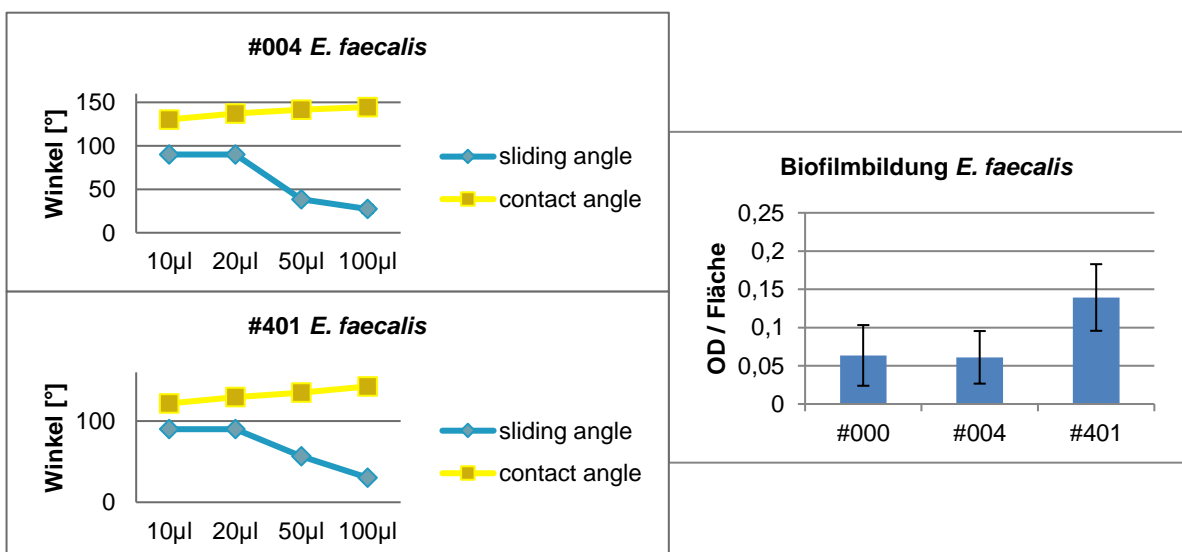
**Abbildung 47:** Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #002 und #008 bei *E. faecalis*

Bei #004 und #401 zeigen Kontakt-/und Abperlwinkel auch eine hydrophobe Oberfläche (siehe Abbildung 48). Betrachtet man die Biofilmbildung auf den Samples, so zeigt sich bei #401 eine deutliche höhere OD/Fläche als auf dem Kontrollsample. Diese ist für #004 und #000 bei *E. coli* annähernd gleich hoch, es bildet sich also ähnlich viel Biofilm wie auf der nicht strukturierten Oberfläche von #000.



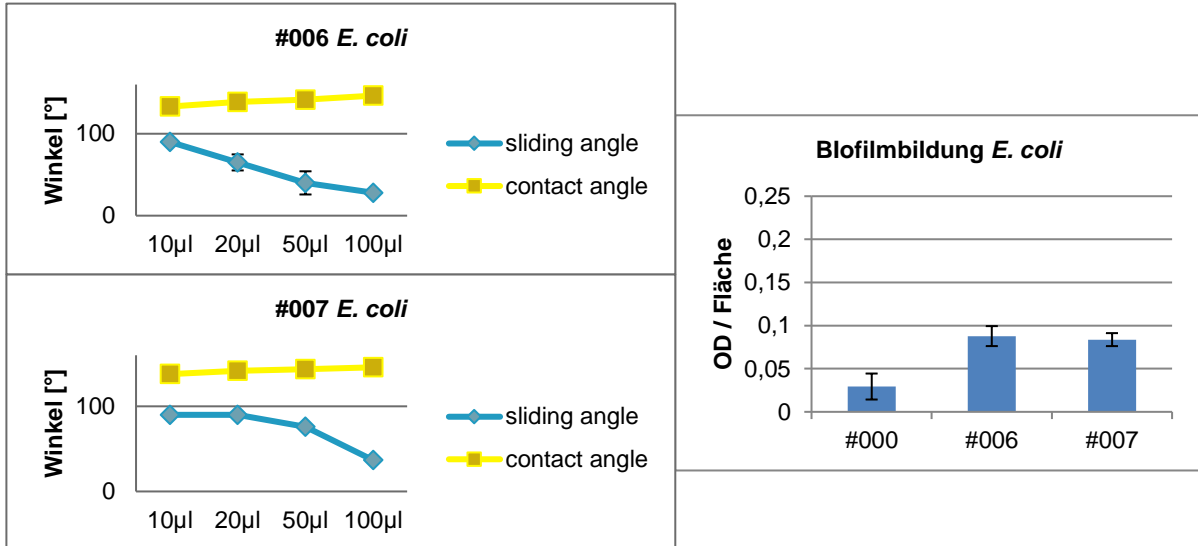
**Abbildung 48:** Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #004 und #401 bei *E. coli*

Wie Abbildung 49 zeigt, bestehen bei *E. faecalis* auf #004 und #401 ebenfalls hydrophobe Kontakt-/und Abperlwinkel. Auch hier die Biofilmbildung bei Sample #401 höher als auf dem Kontrollsample. Bei #004 zeigt sich für *E. faecalis* eine ähnliche Biofilmbildung wie auf der glatten Kontrolle #000.



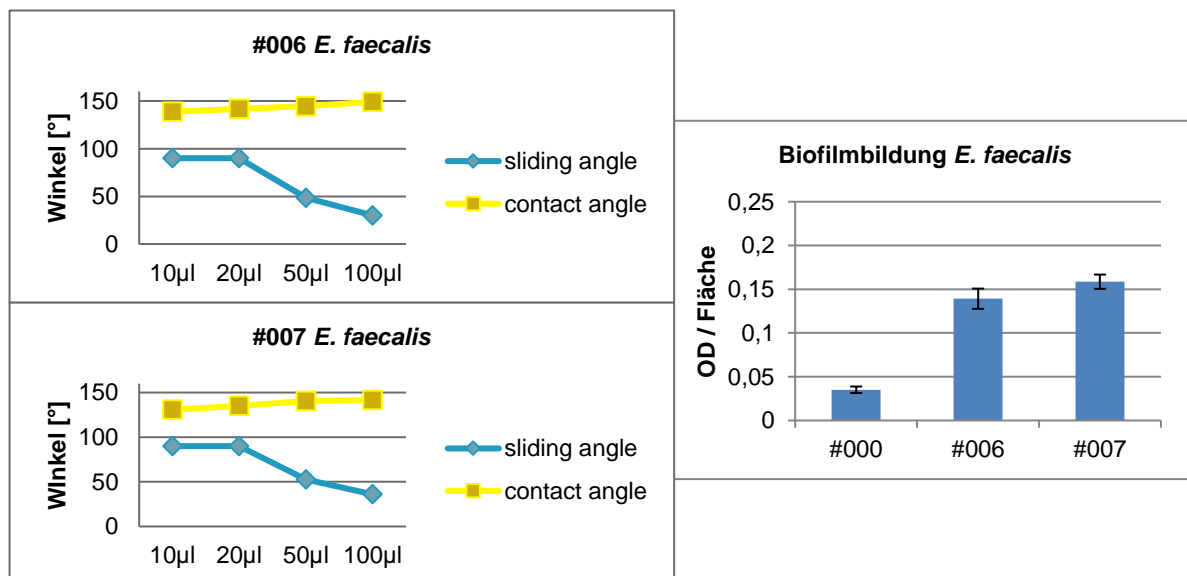
**Abbildung 49:** Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #004 und #401 bei *E. faecalis*

Bei Sample #006 und #007 ergeben sich für *E. coli* hydrophobe Kontakt-/und Abperlwinkel. Die Biofilmbildung ist gegenüber dem Kontrollsample erhöht (siehe Abbildung 50).



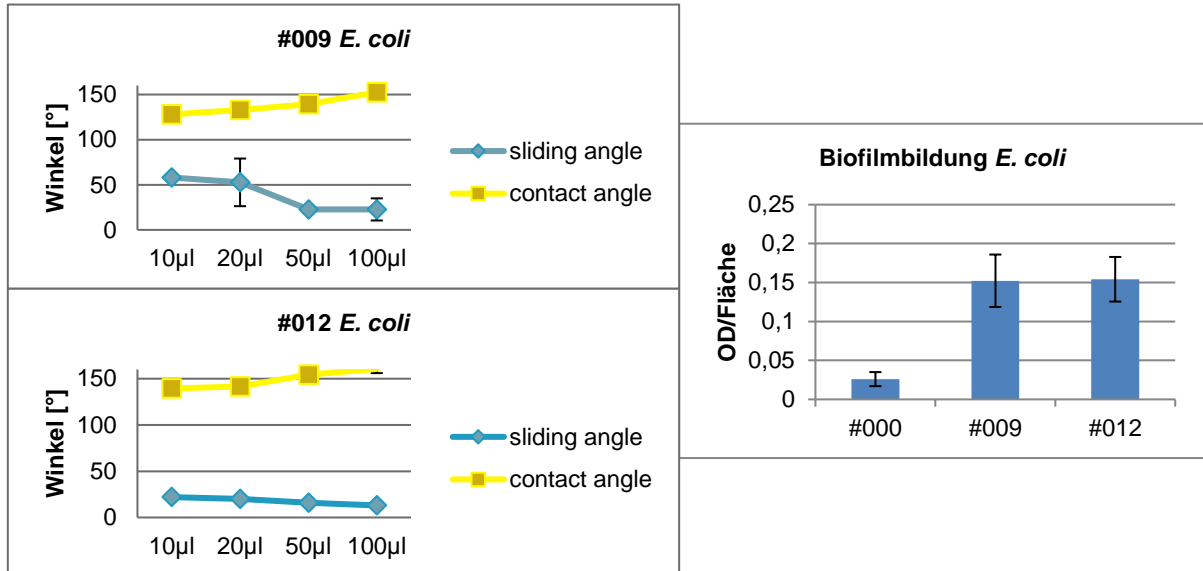
**Abbildung 50:** Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #006 und #007 bei *E. coli*

Ähnlich verhält es sich auf bei den gleichen Samples mit *E. faecalis*. Auch hier zeigen sich hydrophobe Kontakt-/und Abperlwinkel. Die Biofilmbildung ist gegenüber dem Kontrollsample auf den mikrostrukturierten Oberflächen höher (siehe Abbildung 51).



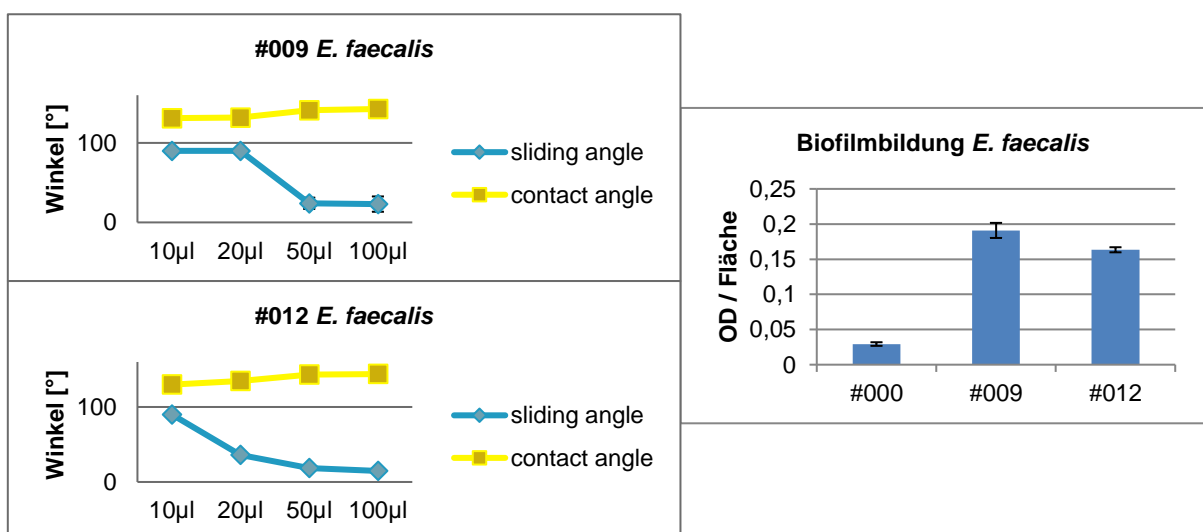
**Abbildung 51:** Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #006 und #007 bei *E. faecalis*

Bei #009 und #012 zeigen Kontakt-/und Abperlwinkel eine hydrophobe Oberfläche (siehe Abbildung 52). Betrachtet man die Biofilmbildung auf den Samples, so zeigt sich auf beiden Samples für *E. coli* eine höhere Biofilmbildung als auf dem Kontrollsample #000.



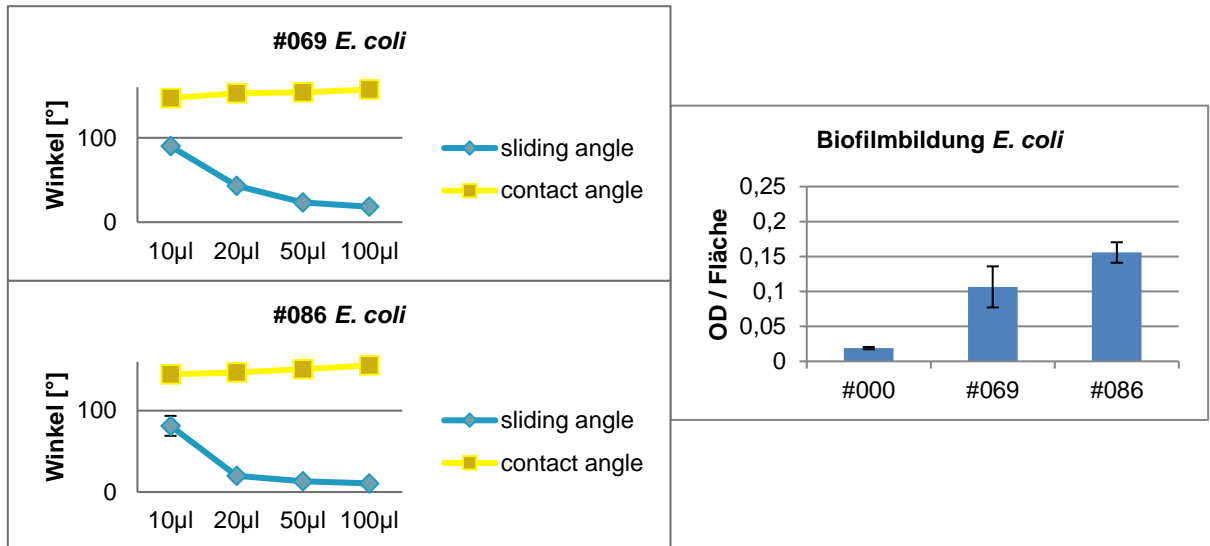
**Abbildung 52:** Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #009 und #012 bei *E. coli*

Bei *E. faecalis* zeigen sich ebenfalls hydrophobe Kontakt-/und Abperlwinkel auf den Samples. Die Biofilmbildung ist auch hier deutlich höher als auf der Kontrolle (siehe Abbildung 53). Die Biofilmbildung auf #009 besitzt insgesamt die höchste OD/Fläche unter den getesteten Samples.



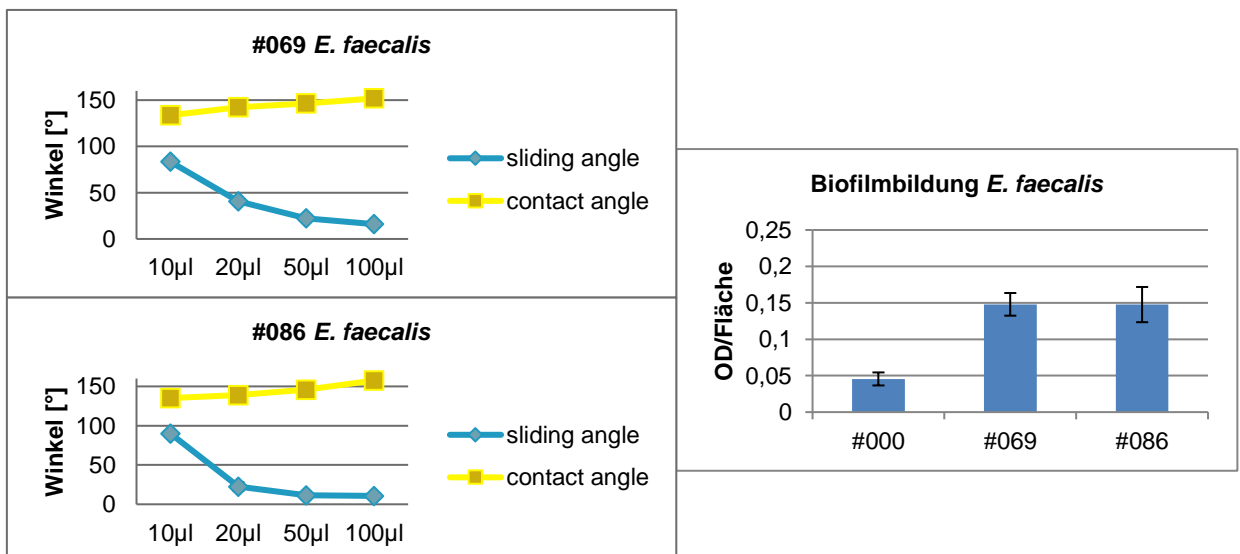
**Abbildung 53:** Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #009 und #012 bei *E. faecalis*

Die letzten betrachteten Samples #069 und #089 zeigen ebenfalls hydrophobe Werte für die Kontakt-/und Abperlwinkel (siehe Abbildung 54). Die Biofilmbildung ist auf #086 deutlich höher als auf #069. Auf beiden Samples bildet sich mehr Biofilm als auf der Kontrolle #000.



**Abbildung 54:** Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #069 und #086 bei *E. coli*

Auch bei *E. faecalis* zeigten sich die getesteten Samples #069 und #086 mit hydrophoben Kontakt-/bzw. Abperlwinkeln (siehe Abbildung 55). Die Bildung von Biofilm auf den Samples ist höher als beim Kontrollsample #000.



**Abbildung 55:** Vergleich zwischen Kontaktwinkel, Abperlwinkel und Biofilmbildung auf den Samples #069 und #086 bei *E. faecalis*

## 4. Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, die Auswirkungen des Lotus Effektes auf hydrophoben Oberflächen auf die Adhäsion von Bakterien zu untersuchen. Dies wurde mit Hilfe der gut charakterisierten Biofilmbildner *Escherichia coli* und *Enterococcus faecalis* untersucht [39, 86].

Die getesteten Samples wurden aus Polydimethylsiloxan (PDMS) gefertigt, einem Silikon, welches durch seine hohe Biokompatibilität oft im medizinischen Bereich eingesetzt wird [77]. Dabei unterscheiden sich die einzelnen Oberflächenstrukturen sowohl in der Form der Strukturen, rund oder eckig, als auch in Höhe und im Abstand der Oberflächenmerkmale zueinander.

Um die Hydrophobizität der unterschiedlich mikrostrukturierten Samples zu bestimmen, wurden zunächst die Kontaktwinkel gemessen. Ein Kontaktwinkel  $>90^\circ$  zeigt eine hydrophobe Oberfläche, ein Kontaktwinkel von  $0^\circ$  bis  $90^\circ$  spricht eher für eine hydrophile Oberfläche [87] [2]. Alle Kontaktwinkel zeigen auf den getesteten Oberflächen hydrophobes Verhalten, was für eine gute Hydrophobie sowohl bei Bakteriensuspensionen als auch bei Wasser spricht. Insbesondere die Samples mit den Nummern #002, #006, #007, #012, #069 und #086 ergaben für alle getesteten Medien die höchsten Kontaktwinkel und die niedrigsten Abperlwinkel, was auf das stärkste hydrophobe Verhalten hinweist. #002, #006, #007, #069 und #086 besitzen jeweils runde, #012 quadratische Oberflächenmerkmale. #086 und #069 besitzen darüber hinaus raue Oberflächen an den Seitenwänden der Erhebungen, welche zusätzlich zur Hydrophobizität beitragen.

Allerdings unterscheiden sich die Kontaktwinkel auf dem jeweiligen Sample bei den verschiedenen getesteten Substanzen. Dies kann mehrere verschiedene Ursachen haben. Zum einen besteht die Möglichkeit, dass die unterschiedliche Konsistenz der Medien eine Rolle spielt. *Escherichia coli* wurde in LB – Medium bebrütet, *Enterococcus faecalis* in TSB – Medium. Beide Medien enthalten Nährstoffe und Salze für die Bakterien, sodass sie eine höhere Viskosität als Wasser aufweisen [79] [88]. Um diese Vermutung zu überprüfen, wurden zusätzlich die Kontaktwinkel der beiden Medien überprüft, die annähernd mit den Kontaktwinkeln von destilliertem Wasser übereinstimmen (siehe Diagramme im Anhang). Hieraus konnte geschlussfolgert werden, dass die Bakterien und deren Metabolite Ursache für die Änderung des Kontaktwinkels sein müssen.

Die nächste Beobachtung war, dass *E. faecalis* und *E. coli* auf dem Sample mit der jeweils gleichen mikrostrukturierten Oberfläche zu unterschiedlichen Kontaktwinkeln



führen. Demzufolge muss die Morphologie bzw. das Verhalten des Bakteriums den Kontaktwinkels beeinflussen. Zum einen verändern die Ausscheidungsprodukte der Bakterien den pH – Wert der Lösung. Dadurch verändert sich auch die Ladung der einzelnen Moleküle, was wiederum Auswirkungen auf die Oberflächenspannungen hat und damit zu einer Änderung des Kontaktwinkels führt [89]. Zum anderen unterscheiden sich die beiden untersuchten Bakterienarten in Ihrem Aussehen: *E. coli* ist stäbchenförmig und weist ein gramnegatives Färbeverhalten auf, wohingegen *E. faecalis* zu den Kokken gehört und ein grampositives Färbeverhalten aufweist [34] [39]. Es ist wahrscheinlich, dass diese unterschiedlichen Eigenschaften eine Rolle bei der Adhäsion der Bakterien spielen. Zum anderen produzieren verschiedene Bakterienarten unterschiedlich zusammengesetzte extrazelluläre polymere Substanzen (EPS) [90]. Diese bestehen unter anderem aus Kationen, welche dafür sorgen, dass die Bakterien von einer Hydrathülle umgeben sind [91]. Die Ladung, Größe und der Durchmesser der Hydrathülle der Kationen der EPS bestimmt deren „Bindevermögen“. Wenn die Größe der Ionen der EPS zunimmt, nimmt die Dicke der Hydrathülle ab. Große Ionen mit hoher Ladung und damit dünner Hydrathülle können leichter die negativ geladenen Oberflächen der Mikroorganismen mit den negativ geladenen Enden der EPS verbinden als kleine Ionen mit niedriger Ladung und dicker Hydrathülle.[91] Dieser Unterschied in der Größe der Hydrathülle hat wiederum Auswirkungen auf die Spannungsverhältnisse an der Tropfenoberfläche. Obwohl zu erwarten wäre, dass mehr elektronegative Zellen eine größere Hydrophilie aufweisen würden, wurde berichtet, dass das Vorhandensein einer erhöhten Menge an EPS dazu führt, dass die Zellen hydrophobe Eigenschaften aufweisen, hauptsächlich aufgrund der dynamischen Bewegung der Proteine der äußeren Oberfläche, welche die Polarität oder Ladung der Zelle verändern können [92] und damit Auswirkungen auf die Höhe des Kontaktwinkel haben.

Als zweiter Parameter zur Bestimmung der Hydrophobizität wurde der Abperlwinkel auf den mikrostrukturierten Oberflächen gemessen. Je kleiner der Abperlwinkel auf einer Oberfläche ist, desto hydrophober ist diese [2] [93]. Auch hier zeigte sich sowohl ein Unterschied zwischen den einzelnen Oberflächen als auch bei den getesteten Medien. Um auszuschließen, dass die Viskosität des Mediums eine entscheidende Rolle spielt, wurden die beiden Medien einzeln getestet, wobei die Abperlwinkel nahezu identisch mit denen von destilliertem Wasser waren (siehe Abbildungen im Anhang). Demnach scheinen auch hier die Bakterien selbst einen signifikanten Einfluss auf den Abperlwinkel zu haben. Allerdings konnte auf allen Samples und bei jedem Medium beobachtet werden, dass die Abperlwinkel kleiner werden, je größer der Tropfen mit der zu betrachtenden Suspension ist. Die kleineren Abperlwinkel bei größerer Tropfengröße lassen sich durch das höhere Gewicht der einzelnen Tropfen erklären [94]: Bei kleinen

Tropfen-Volumina sind die polaren Kräfte, die am Material der Strukturen festhaften größer als das Gewicht der Tropfen, wodurch die Abperlwinkel höher sind. Ab ca. 100µl übersteigt allerdings das Tropfengewicht die polaren Kräfte, weshalb der Tropfen früher abperlt [95] [94]. Bei der Messung der Abperlwinkel zeigten sich die Samples mit den Nummern #002, #006, #008, #012, #069 und #086 als diejenigen mit den hydrophobsten Oberflächen, was größtenteils mit den Versuchen zur Messung der Kontaktwinkel übereinstimmt.

Im Anschluss erfolgte die Messung der Biofilmbildung auf den einzelnen Oberflächen. Es wurde erwartet, dass die Hydrophobizität der Oberflächen eine geringere Adhäsion der Bakterien bewirkt und dadurch zu weniger Biofilmbildung führt. Die Bebrütungszeit auf den Samples betrug 18h im Shaker bei 60rpm und 37°C. Im Anschluss wurden die Bakterien mit einer Kristallviolett-Lösung angefärbt und die optische Dichte pro Samplefläche gemessen. Diese diente als Vergleichsgröße zur Beurteilung der Stärke der Biofilmbildung.

Auf allen Samples zeigte sich jeweils deutlich mehr Biofilmbildung als auf der Kontrolle ohne Oberflächenstruktur. Die einzige Ausnahme hierbei bildete #004, auf dem es sowohl bei *E. coli* als auch bei *Symbioflor* die Biofilmbildung ähnlich zu der des Kontrollsamples war.

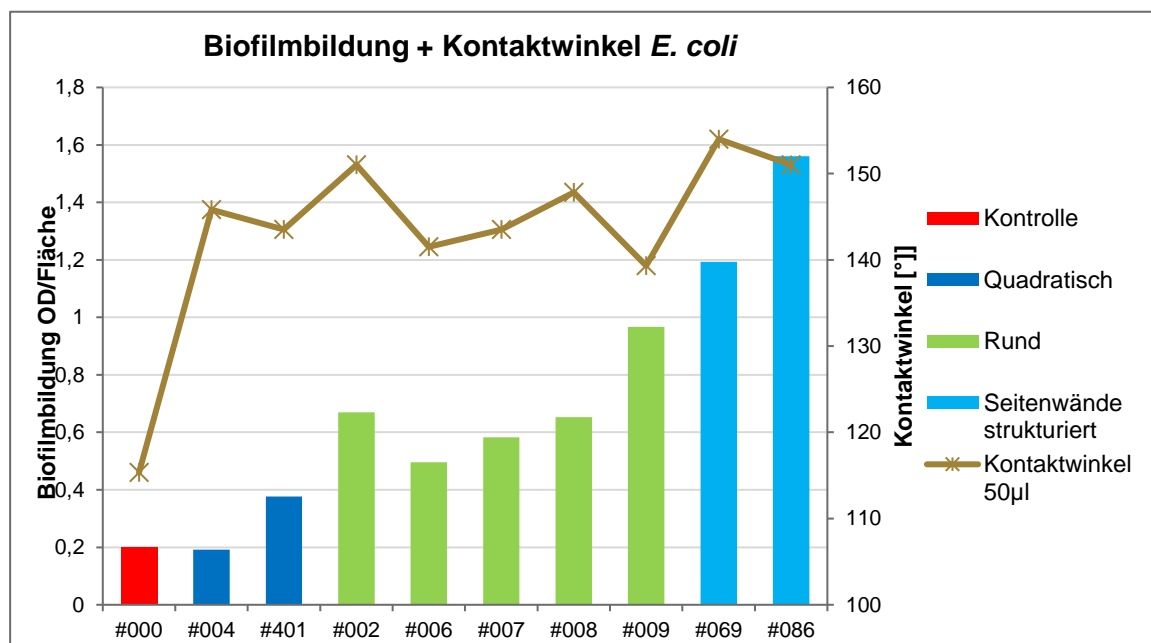
Wahrscheinlich gelangen die Bakterien aufgrund ihrer geringeren Größe in die Strukturen und können sich dann dort besser festsetzen. Darüber hinaus kommt es zu einem Übergang vom Cassie – Baxter- in den Wenzel – Zustand, wenn eine PDMS-Oberfläche mit mikroskopischer Struktur in eine Lösung überführt wird [96], [97], [98]. Im Cassie-Baxter-Zustand steht nur der Bereich auf den Erhöhungen für die Bakterienanhaftung zur Verfügung, da die zwischen den hervorstehenden Merkmalen eingeschlossene Luftblase verhindert, dass Bakterien diesen Ort erreichen. Dieser Effekt verliert jedoch mit der Zeit an Wirkung, insbesondere durch die von *E. coli* ausgebildeten Flagellen. Diese ermöglichen dem Bakterium eine gesteigerte Motilität, wodurch die Oberfläche vom Cassie-Baxter- in den Wenzel-Zustand übergeht. Nach Erreichen des Wenzel-Zustandes werden die vertikalen Seiten der Oberflächenmuster für die bakterielle Adhäsion zugänglich. Durch die Anheftung an den Seiten der hervorstehenden Oberflächenstruktur wäre es auch denkbar, dass die Bakterien besser vor lokalen Strömungen geschützt sind, was wiederum eine Erklärung für die vermehrte Biofilmbildung wäre. [96] Frielander et al. testeten ebenfalls PDMS – Oberflächen mit hexagonalen Oberflächenstrukturen mit 3µm Durchmesser und einer Höhe von 2,7µm im Abstand von 440nm[96]. Dabei stellten sie fest, dass zu Beginn die Bakterien durch den Cassie-Baxter-Zustand die Zwischenräume nicht erreichen können. Dieser Effekt lässt allerdings nach ca. 4h nach,

da nach diesem Zeitraum die Oberfläche in den Wenzel – Zustand übergeht und die Bakterien somit die Möglichkeit bekommen, auch in die Zwischenräume der Strukturen zu gelangen.[96]. Dies gilt insbesondere für *E. coli*, da es, im Gegensatz zu Enterokokken, über Oberflächenstrukturen verfügt, die es motil machen [99] [100].

Um genauere Betrachtungen der Biofilmbildung zu vereinfachen, wurde die OD/Fläche der Kontrolle #000 auf 0,2/cm<sup>2</sup> normiert und die Biofilmbildungen der Samples rechnerisch angepasst (siehe Abbildung 56 und Abbildung 57).

Betrachtet man Abbildung 56 und Abbildung 57, so ist das einzige Sample mit annähernd gleich hoher Biofilmbildung wie auf der Kontrolle bei beiden Bakterienarten #004. Diese Oberflächenstruktur zeigte bei der Messung von Kontakt-/und Abperlwinkel zwar hydrophobe Eigenschaften, diese waren allerdings nicht so stark wie bei anderen Samples. Demzufolge scheint die Hydrophobizität zur Minimierung der bakteriellen Adhäsion und Biofilmbildung nur eine untergeordnete Rolle zu spielen.

**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** zeigt die Biofilmbildung von *E. coli* auf allen getesteten Samples im Vergleich.



**Abbildung 56: Biofilmbildung von *E. coli***, Vergleich der Samples untereinander bei auf eine OD von 0,2/cm<sup>2</sup> normierten Werten, Vergleich des Aussehens der Oberflächenstruktur

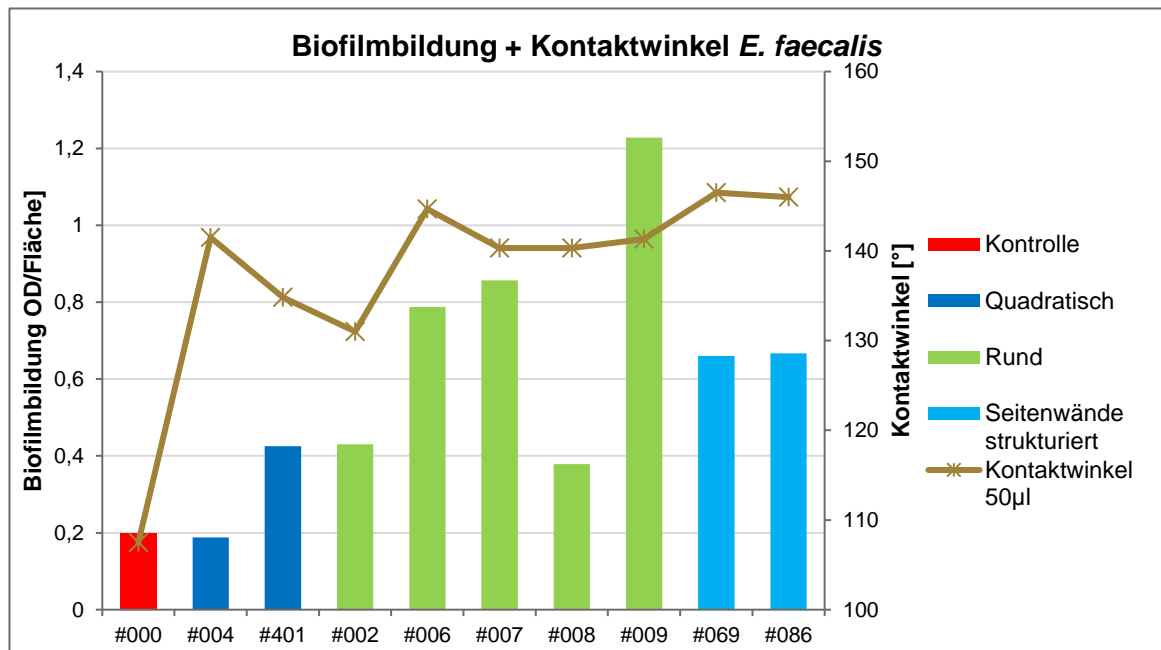
Auffällig hierbei sind die niedrigen Werte für #000 (Kontrolle ganz ohne Oberflächenstruktur), für #004 und für #401. Im Gegensatz zu den anderen Oberflächen besitzen diese beiden Samples jeweils quadratische Strukturen mit einer Höhe von 25µm. Bei Sample #004 von jeweils 10x10µm in einem dreieckigen Gitter mit Abstand

von 20µm. Gu et. al. zeigten, dass quadratische topographische Strukturen mit einer Seitenlänge von 20µm, 50µm und 100µm und einem Abstand zwischen den Mustern von größer oder gleich 10µm die Biofilmbildung bei *E. coli* im Vergleich zur glatten Kontrolle fördern [101]. Dabei bewirkten 10µm hohe hexagonale Muster mit einer Seitenlänge von 15µm und einem Abstand von 2µm zwischen den Mustern eine Reduktion der Biofilmbildung von 85% bzw. 46% im Vergleich zur glatten Kontrolloberfläche, da hierdurch insbesondere die Biofilmbildung auf den Seiten der Muster reduziert werden konnte [101]. Ähnlich dieser Beschreibung von Gu et. al. ist Sample #006 aufgebaut, welches eine Strukturhöhe von 6µm sowie zirkuläre Strukturen mit 3µm Durchmesser im Abstand von 6µm besitzt. Hier zeigte sich bei *E. coli* zwar im Vergleich zu anderen Samples weniger Biofilmbildung, jedoch keine besseren Ergebnisse im Vergleich zum Kontrollsample #000 mit einer glatten PDMS - Oberfläche.

Die höchste Biofilmbildung von *E. coli* zeigte sich auf Sample #069 und #086 (siehe Abbildung 56). Diese beiden zeigten bei allen getesteten Medien sowohl bei der Messung des Kontaktwinkels als auch bei der Messung des Abperlwinkels die besten Ergebnisse bezüglich der Hydrophobizität. Demnach wurde vermutet, dass hier auch eine geringere Biofilmbildung zu beobachten ist, was sich allerdings nicht bestätigt hat.

Der größte Unterschied von #069 und #086 zu den anderen mikrostrukturierten Oberflächen ist der, dass diese beiden Samples zusätzlich an den Seiten der Merkmale „Einkerbungen“, also eine Strukturierung, besitzen. Vergleicht man nun die Biofilmbildung von *E. coli* und *E. faecalis* auf diesen beiden Samples miteinander, ist auffällig, dass *E. coli* deutlich mehr Biofilm bildet, wohingegen bei *E. faecalis* vergleichbar wenig Biofilm auf #069 und #086 entsteht. Eine Ursache hierfür könnte die Flagellenbildung von *E. coli* [99] [100] sein. Durch die flagellare Motilität kann sich das Bakterium auch an den mikrostrukturierten Seitenflächen der Merkmale festzusetzen, wodurch dem Bakterium auf dem Sample eine insgesamt größere Kontaktfläche geboten wird. Dies würde die vermehrte Biofilmbildung von *E. coli* auf #069 und #086 erklären. Auch Gu et. al. testeten *E. coli* und insbesondere dessen Konjugationsmechanismen [101], welche sich vom Verhalten der Enterokokken unterscheiden [40]. Wichtig für die Konjugation in Biofilmen ist vor allem die Motilität der Zellen [102], welche bei *E. coli* aufgrund der Flagellen besteht [99] [100]. Die Abschaffung der flagellaren Motilität kann die bakterielle Konjugation an den Seiten topographischer Oberflächenstrukturen signifikant reduzieren, was darauf hindeutet, dass diese wichtig für die anfängliche Anhaftung von Empfängerzellen an modifizierte PDMS-Oberflächen ist. [102] Gu et. al. zeigten außerdem, dass die Strukturen auf der PDMS Oberfläche mindestens 10µm oder höher sein müssen, um die Auswirkungen der Flagellen zu überwinden [86].

Im Vergleich dazu zeigt Abbildung 57 die Biofilmbildung von *E. faecalis* auf allen getesteten Samples.



**Abbildung 57: Biofilmbildung von *E. faecalis*,** Vergleich der Samples untereinander bei auf eine OD von 0,2/cm<sup>2</sup> normierten Werten, Vergleich des Aussehens der Oberflächenstruktur

Auch hier zeigt #004 im Vergleich jeweils die geringste Biofilmbildung, gefolgt von der Kontrolle #000 ohne Oberflächenstruktur. Im Gegensatz zu *E. coli* war bei *E. faecalis* auf Sample #401 mehr Biofilmbildung, dementsprechend scheint bei *E. faecalis* die quadratische Struktur zur Reduktion von Biofilmbildung keinen wesentlichen Vorteil zu bringen. Im Gegensatz zu *E. coli* wurde auch auf #069 und #086 weniger Biofilmbildung beobachtet. Wie bereits erwähnt, ist dies mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit auf die Flagellenbildung und die dadurch gesteigerte Motilität von *E. coli* zurückzuführen, welche dem Bakterium (im Gegensatz zu *E. faecalis*) die zusätzliche Adhäsion an den Seitenflächen dieser Samples ermöglicht [99] [100].

Darüber hinaus sind mögliche Fehlerquellen im Rahmen der Versuche zu evaluieren. Die Samples wurden zwar genau nach dem Reinigungsprotokoll der Firma Hoowaki gesäubert und im Anschluss unter dem Mikroskop überprüft, dennoch können Staub-/oder Bakterienpartikeln im Nanobereich eine Verunreinigung des Samples verursachen, die unter dem konventionellen Lichtmikroskop nicht erkennbar war. Darüber hinaus war bei der Biofilmbildung die Bakterienwachstumsrate sehr unterschiedlich. Dies könnte an Unterschieden in der Luftfeuchtigkeit der Laborräume oder des Shakers gelegen haben.

Möglicherweise war der Shaker auch mit Bakterienresten von vorherigen Versuchen verunreinigt, was zu einer veränderten Stärke der Biofilmbildung geführt haben könnte.

Um weiteren Aufschluss über das Verhalten der Bakterien auf den mikrostrukturierten PDMS – Flächen und im weiteren Verlauf über den möglichen Einsatz *in vivo* zu erhalten, müssten die Oberflächen in ein fließendes System eingebracht werden. Da im Körper kaum stehende Flüssigkeiten, sondern durch den Blutstrom ein zirkulierendes System vorherrscht, wäre es interessant zu sehen, wie sich die bakterielle Adhäsion und Biofilmbildung in einem solchen System verhält. Hierfür könnten die Samples beispielsweise mit einer Pumpe von einer Bakteriensuspension mit einer konstanten Konzentration umspült werden. Nach 18h Inkubationsdauer könnte man die Versuche mit den oben gezeigten Werten vergleichen, um zu sehen, ob der Fluss bzw. die Flussgeschwindigkeit eine Auswirkung auf die bakterielle Adhäsion hat.

## 5. Zusammenfassung

Nosokomiale Infektionen stellen ein gravierendes Problem in der modernen Medizin dar. Durch die bakterielle Besiedelung nicht-körpereigener Materialien *in vivo* steigen Mortalität sowie Morbidität, was zu gravierenden Mehrkosten im Gesundheitssystem führt. Es existieren bereits zahlreiche Versuche, die implantierbaren Materialien in irgendeiner Form antimikrobiell zu gestalten, jedoch aktuell wenig erfolgreich. Aus diesem Grund wurde im Rahmen dieser Arbeit versucht, die zu implantierenden Materialien mit einer hydrophoben mikrostrukturierten Oberfläche zu versehen, welche die bakterielle Anhaftung verhindert.

Aufgrund der guten Biokompatibilität wurde Polydimethylsiloxan (PDMS), ein Silikon, verwendet und mit verschiedenen Oberflächenstrukturen versehen. Zunächst wurden die verschiedenen Samples bezüglich ihres Hydrophobie – Verhaltens kategorisiert. Hierzu wurden Kontakt-/und Abperlwinkel gemessen und untereinander verglichen. Bei diesen Messungen zeigten alle Samples ein hydrophobes Verhalten. Allerdings zeigten die Messungen für die Bakteriensuspensionen bei den jeweiligen Bakterienarten unterschiedliches Verhalten, sodass scheinbar die Morphologie des jeweiligen Bakteriums eine entscheidende Rolle spielt.

Im Anschluss wurden Nährlösungen, welche mit Bakterien versetzt waren (*Escherichia coli* und *Enterococcus faecalis*) auf die Samples gegeben und bei 37° unter ständiger Bewegung inkubiert. Nach 18h Inkubationszeit wurden die Samples untersucht, die Biofilmbildung gemessen und die verschiedenen Oberflächenstrukturen verglichen. Auch hier zeigten die beiden Bakterienarten unterschiedliches Verhalten, wobei die geringste Biofilmbildung auf einer 10x10µm quadratischen Struktur gemessen wurde. Vergleicht man die Messungen zur Hydrophobizität der Samples mit der Biofilmbildung konnte gezeigt werden, dass die Hydrophobizität keine entscheidende Rolle zur Minimierung der Biofilmbildung spielt, dass aber das Aussehen der Oberflächenstrukturen durchaus einen Einfluss haben könnte.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass es durchaus möglich ist, eine Oberfläche so zu modifizieren, dass die bakterielle Adhäsion zwar nicht verhindert, aber minimiert werden kann. Allerdings ist die Art der Struktur vom jeweiligen Bakterium und dessen Morphologie und Verhalten abhängig. Hier wäre es denkbar, spezielle Oberflächen je nach Fragestellung zu designen. In der Urologie beispielsweise wären Urinkatheter mit einer Oberflächenstruktur vorstellbar, die v.a. *Escherichia coli* an der Adhäsion hindert. Dies erfordert allerdings noch weitere Versuche, unter anderem auch mit weiteren häufig vorkommenden Erregern.

Auf diese Weise könnten nosokomiale Infektionen in Krankenhäusern deutlich minimiert werden und damit nicht nur Behandlungskosten gesenkt, sondern vor allem auch die Gesundheit der Patienten verbessert werden.



## 6. Literaturverzeichnis

1. Hall-Stoodley, L., J.W. Costerton, and P. Stoodley, *Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases*. Nat Rev Microbiol, 2004. **2**(2): p. 95-108.
2. Latthe, S.S., et al., *Superhydrophobic surfaces developed by mimicking hierarchical surface morphology of lotus leaf*. Molecules, 2014. **19**(4): p. 4256-83.
3. Williams, D.F., *Definitions in biomaterials: proceedings of a consensus conference of the European Society for Biomaterials, Chester, England, March 3-5, 1986*. Vol. 4. 1987: Elsevier Science Limited.
4. Wintermantel, E. and S.-W. Ha, *Medizintechnik mit biokompatiblen Werkstoffen und Verfahren*. 2002: Springer.
5. Bolle, T., et al., *[Materials/Biomaterials in Clinical Practice - a Short Review and Current Trends]*. Zentralbl Chir, 2017. **142**(2): p. 216-225.
6. Liang, H., et al., *Applications of plasma coatings in artificial joints: an overview*. Vacuum, 2004. **73**(3-4): p. 317-326.
7. Tacconelli, E., et al., *Epidemiology, medical outcomes and costs of catheter-related bloodstream infections in intensive care units of four European countries: literature- and registry-based estimates*. J Hosp Infect, 2009. **72**(2): p. 97-103.
8. Busscher, H.J., et al., *Biomaterial-associated infection: locating the finish line in the race for the surface*. Sci Transl Med, 2012. **4**(153): p. 153rv10.
9. Levering, V., et al., *Urinary catheter capable of repeated on-demand removal of infectious biofilms via active deformation*. Biomaterials, 2016. **77**: p. 77-86.
10. Gristina, A.G., *Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration*. Science, 1987. **237**(4822): p. 1588-1595.
11. Kurtz, S.M., et al., *Prosthetic joint infection risk after TKA in the Medicare population*. Clin Orthop Relat Res, 2010. **468**(1): p. 52-6.
12. Lewis, K., *Riddle of biofilm resistance*. Antimicrob Agents Chemother, 2001. **45**(4): p. 999-1007.
13. Epa, V., et al., *Modelling and prediction of bacterial attachment to polymers*. Advanced Functional Materials, 2014. **24**(14): p. 2085-2093.
14. Epstein, A.K., et al., *Liquid-infused structured surfaces with exceptional anti-biofouling performance*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012. **109**(33): p. 13182-7.
15. Flemming, H.C. and J. Wingender, *The biofilm matrix*. Nat Rev Microbiol, 2010. **8**(9): p. 623-33.
16. Corbin, A., et al., *Antimicrobial penetration and efficacy in an in vitro oral biofilm model*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2011. **55**(7): p. 3338-3344.
17. J. W. Costerton, P.S.S., E. P. Greenberg, *Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections*. 1999.
18. Donlan, R.M., *Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process*. Clinical Infectious Diseases, 2001. **33**(8): p. 1387-1392.
19. Epa, V.C., et al., *Modelling and Prediction of Bacterial Attachment to Polymers*. Advanced Functional Materials, 2014. **24**(14): p. 2085-2093.
20. Lo, E., et al., *Strategies to prevent catheter-associated urinary tract infections in acute care hospitals: 2014 update*. Infection Control & Hospital Epidemiology, 2014. **35**(5): p. 464-479.
21. München, S.A., *Die Krankenhäuser in München zum Jahresende 2015*. 1. Quartalsheft, Jahrgang 2017.
22. Crusz, S.A., et al., *Bursting the bubble on bacterial biofilms: a flow cell methodology*. Biofouling, 2012. **28**(8): p. 835-42.
23. Vu, B., et al., *Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation*. Molecules, 2009. **14**(7): p. 2535-54.
24. Francolini, I. and G. Donelli, *Prevention and control of biofilm-based medical-device-related infections*. FEMS Immunol Med Microbiol, 2010. **59**(3): p. 227-38.
25. Phillips P.L., et al., *Biofilme - einfach erklärt.pdf*. Wounds International 2010.

26. Guiot, E., Georges, P. , *Heterogeneity of Diffusion Inside Microbial Biofilms Determined by Fluorescence Correlation Spectroscopy Under Two-photon Excitation*. Photochemistry and Photobiology, 2002.
27. Goulter, R.M., I.R. Gentle, and G.A. Dykes, *Issues in determining factors influencing bacterial attachment: a review using the attachment of Escherichia coli to abiotic surfaces as an example*. Lett Appl Microbiol, 2009. **49**(1): p. 1-7.
28. Bürgers, R., et al., *Biofilmbildung auf dentalen Implantatoberflächen*. ZWR, 2010. **119**(05).
29. Gallo, J., M. Holinka, and C.S. Moucha, *Antibacterial surface treatment for orthopaedic implants*. Int J Mol Sci, 2014. **15**(8): p. 13849-80.
30. Lai, N.M., et al., *Catheter impregnation, coating or bonding for reducing central venous catheter-related infections in adults*. 2016.
31. Beyersmann, J., et al., *Use of Multistate Models to Assess Prolongation of Intensive Care Unit Stay Due to Nosocomial Infection*. Infection Control & Hospital Epidemiology, 2006. **27**(5): p. 493-499.
32. Feng, G., et al., *Alumina surfaces with nanoscale topography reduce attachment and biofilm formation by Escherichia coli and Listeria spp*. Biofouling, 2014. **30**(10): p. 1253-68.
33. Lynch, A.S. and G.T. Robertson, *Bacterial and fungal biofilm infections*. Annu Rev Med, 2008. **59**: p. 415-28.
34. Hof, H. and R. Dörries, *Medizinische Mikrobiologie.pdf*. Duale Reihe Mikrobiologie. 2009.
35. Percival, S.L., et al., *Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control*. J Med Microbiol, 2015. **64**(Pt 4): p. 323-34.
36. Kaye, D. and M.T. Hesson, *Infections associated with foreign bodies in the urinary tract*. 2nd ed. American Society for Microbiology, 1994: p. p. 291–307.
37. Donlan, R.M. and J.W. Costerton, *Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms*. Clinical Microbiology Reviews, 2002. **15**(2): p. 167-193.
38. Fritzenwanker, M., *Genomsequenz des probiotischen Enterococcus faecalis Symbioflor 1 (DSM 16431) und vergleichende Genomanalyse mit den Stämmen E. faecalis V583, E. faecalis OG1RF und E. faecalis 62*. 2012: Gießen.
39. Nallapareddy, S.R., et al., *Endocarditis and biofilm-associated pili of Enterococcus faecalis*. J Clin Invest, 2006. **116**(10): p. 2799-807.
40. Institut, R.K. *Enterococcus faecalis und Enterococcus faecium*. [webpage] 2017 16.11.2017; Available from: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Antibiotikaresistenz/Uebersichtsbeitraege/nosokomiale\\_Erreger/Enterococcus.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Antibiotikaresistenz/Uebersichtsbeitraege/nosokomiale_Erreger/Enterococcus.html)
41. WHO, *WHO Model List of Essential Medicines*. 2017.
42. Daniels, R., *Alte Aktivsubstanz in neuem Gewand*, in *Pharmazeutische Zeitung*. 2009.
43. Furno, F., et al., *Silver nanoparticles and polymeric medical devices: a new approach to prevention of infection?* J Antimicrob Chemother, 2004. **54**(6): p. 1019-24.
44. Walder, B., D. Pittet, and M.R. Tramer, *Prevention of bloodstream infections with central venous catheters treated with anti-infective agents depends on catheter type and insertion time: evidence from a meta-analysis*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2002. **23**(12): p. 748-56.
45. Oda, T., et al., *Anaphylactic shock induced by an antiseptic-coated central nervous catheter*. Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists, 1997. **87**(5): p. 1242-1244.
46. Sivaji, Y., A. Mandal, and D. Agarwal, *Disinfectant induced changes in the antibiotic sensitivity and phage typing pattern in Staphylococcus aureus*. Journal of Hospital Infection, 1986. **7**(3): p. 236-243.
47. Wong, T.S., et al., *Bioinspired self-repairing slippery surfaces with pressure-stable omniphobicity*. Nature, 2011. **477**(7365): p. 443-7.

48. Smith, R.S., et al., *Vascular catheters with a nonleaching poly-sulfobetaine surface modification reduce thrombus formation and microbial attachment*. *Sci Transl Med*, 2012. **4**(153): p. 153ra132.
49. Lebeaux, D., J.M. Ghigo, and C. Beloin, *Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics*. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2014. **78**(3): p. 510-43.
50. Goodman, S.B., et al., *The future of biologic coatings for orthopaedic implants*. *Biomaterials*, 2013. **34**(13): p. 3174-83.
51. Jung, S., *Der Lotuseffekt*. *Gesundheitsökonomie & Qualitätsmanagement*, 2014. **19**(05): p. 195-195.
52. Barthlott, W. and C. Neinhuis, *Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces*. *Planta*, 1997. **202**(1): p. 1-8.
53. Neinhuis, C. and W. Barthlott, *Characterization and Distribution of Water-repellent, Self-cleaning Plant Surfaces*. *Annals of Botany*, 1997. **79**(6): p. 667-677.
54. Barthlott, W., et al., *Plant surfaces: structures and functions for biomimetic innovations*. *Nano-Micro Letters*, 2017. **9**(2): p. 23.
55. Extrand, C.W., et al., *Superwetting of Structured Surface*. *Langmuir*, 2007.
56. Drelich, J., et al., *Hydrophilic and superhydrophilic surfaces and materials*. *Soft Matter*, 2011. **7**(21): p. 9804-9828.
57. Bocquet, L. and E. Lauga, *A smooth future?* *Nature Materials* 2011. **10**.
58. Jennissen, H.P., *ULtra-hydrophiLe metaLLische Biomaterialien*. *BIOMaterialien* 2001. **2** (1).
59. Blossey, R., *Self-cleaning surfaces—virtual realities*. *Nature materials*, 2003. **2**(5): p. 301.
60. A., N., *Design of a transparent hydrophobic coating*. *Journal of the Ceramic Society of Japan (日本セラミックス協会学術論文誌)*, 2004. **112**(1310): p. 533-540.
61. Quéré, D., *Non-sticking drops*. *Reports on Progress in Physics*, 2005. **68**(11): p. 2495.
62. Nakajima, A., K. Hashimoto, and T. Watanabe, *Recent studies on super-hydrophobic films*. *Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly*, 2001. **132**(1): p. 31-41.
63. Wenzel, R.N., *Surface roughness and contact angle*. *The Journal of Physical Chemistry*, 1949. **53**(9): p. 1466-1467.
64. Hensel, R., C. Neinhuis, and C. Werner, *The springtail cuticle as a blueprint for omniphobic surfaces*. *Chemical Society Reviews*, 2016. **45**(2): p. 323-341.
65. Sun, T., et al., *Bioinspired surfaces with special wettability*. *Accounts of chemical research*, 2005. **38**(8): p. 644-652.
66. Quéré, D., A. Lafuma, and J. Bico, *Slippy and sticky microtextured solids*. *Nanotechnology*, 2003. **14**(10): p. 1109.
67. McHale, G., N. Shirtcliffe, and M. Newton, *Super-hydrophobic and super-wetting surfaces: analytical potential?* *Analyst*, 2004. **129**(4): p. 284-287.
68. Feng, X. and L. Jiang, *Design and creation of superwetting/antiwetting surfaces*. *Advanced Materials*, 2006. **18**(23): p. 3063-3078.
69. Li, X.-M., D. Reinhoudt, and M. Crego-Calama, *What do we need for a superhydrophobic surface? A review on the recent progress in the preparation of superhydrophobic surfaces*. *Chemical Society Reviews*, 2007. **36**(8): p. 1350-1368.
70. Erbil, H.Y., et al., *Transformation of a simple plastic into a superhydrophobic surface*. *Science*, 2003. **299**(5611): p. 1377-1380.
71. Callies, M. and D. Quéré, *On water repellency*. *Soft matter*, 2005. **1**(1): p. 55-61.
72. Richardson, J.J., M. Björnmalm, and F. Caruso, *Technology-driven layer-by-layer assembly of nanofilms*. *Science*, 2015. **348**(6233): p. aaa2491.
73. Yost, A.L., et al., *Layer-by-layer functionalized nanotube arrays: A versatile microfluidic platform for biodetection*. *Microsystems & Nanoengineering*, 2015. **1**(1).
74. Rubner, M.F. and R.E. Cohen, *Layer-by-Layer Processed Multilayers: Challenges and Opportunities*, in *Multilayer Thin Films: Sequential Assembly of Nanocomposite Materials*. 2012.

75. Unfallversicherung, I.f.A.d.d.G., *Stoffdatenblatt PDMS*, I.f.A.d.d.G. Unfallversicherung, Editor. 2017.
76. Colas, A. and J. Curtis, *Silicone Biomaterials: History and Chemistry & Medical Applications of Silicones*, in *An Introduction to Materials in Medicine*.
77. Kim, S.H., et al., *Flexible, stretchable and implantable PDMS encapsulated cable for implantable medical device*. Biomedical Engineering Letters, 2011. **1**(3): p. 199.
78. Bertani, G., *STUDIES ON LYSOGENESIS I.: The Mode of Phage Liberation by Lysogenic Escherichia coli1*. Journal of bacteriology, 1951. **62**(3): p. 293.
79. Chong, L., *Molecular Cloning - A Laboratory Manual*. Science 2001. **3rd Edition**.
80. Dulbecco, R. and M. Vogt, *Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses*. Journal of Experimental Medicine, 1954. **99**(2): p. 167-182.
81. Rubner, M.F., R. Polak, and T.B. Taketa, *Sample Report - DiallyFlux Micro-textured samples*. Jan. 2015.
82. Rasband, W.S., *ImageJ*. 1997-2016.: U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. p. <https://imagej.nih.gov/ij/>
83. Fritzenwanker, M., et al., *Complete genome sequence of the probiotic Enterococcus faecalis Symbioflor 1 clone DSM 16431*. Genome Announc., 2013. **1**(1): p. e00165-12.
84. Aaij, C. and P. Borst, *The gel electrophoresis of DNA*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Nucleic Acids and Protein Synthesis, 1972. **269**(2): p. 192-200.
85. Feoktistova, M., P. Geserick, and M. Leverkus, *Crystal violet assay for determining viability of cultured cells*. Cold Spring Harbor Protocols, 2016. **2016**(4): p. pdb.prot087379.
86. Gu, H., et al., *How Escherichia coli lands and forms cell clusters on a surface: a new role of surface topography*. Sci Rep, 2016. **6**: p. 29516.
87. Feng, L., et al., *Super-hydrophobic surfaces: from natural to artificial*. Advanced materials, 2002. **14**(24): p. 1857-1860.
88. Bertani, G., *Studies on lysogenesis I.: the mode of phage liberation by lysogenic Escherichia coli*. Journal of bacteriology, 1951. **62**(3): p. 293-300.
89. Burghardt, W., *Bestimmung der Benetzungseigenschaften von Moorbodenlosungen durch Kontaktwinkelmessung*. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde, 1985.
90. Flemming, H.C., T.R. Neu, and D.J. Wozniak, *The EPS matrix: the "house of biofilm cells"*. J Bacteriol, 2007. **189**(22): p. 7945-7.
91. Kara, F., G.C. Gurakan, and F.D. Sanin, *Monovalent cations and their influence on activated sludge floc chemistry, structure, and physical characteristics*. Biotechnol Bioeng, 2008. **100**(2): p. 231-9.
92. Mitik-Dineva, N., et al., *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, and Staphylococcus aureus attachment patterns on glass surfaces with nanoscale roughness*. Curr Microbiol, 2009. **58**(3): p. 268-73.
93. Extrand, C. and S.I. Moon, *Repellency of the lotus leaf: contact angles, drop retention, and sliding angles*. Langmuir, 2014. **30**(29): p. 8791-8797.
94. Miwa, M., et al., *Effects of the surface roughness on sliding angles of water droplets on superhydrophobic surfaces*. Langmuir, 2000. **16**(13): p. 5754-5760.
95. Van Oss, C.J., *Interfacial forces in aqueous media*. 2006: CRC press.
96. Friedlander, R.S., et al., *Bacterial flagella explore microscale hummocks and hollows to increase adhesion*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013. **110**(14): p. 5624-9.
97. Yang, Z.H., et al., *Hybrid contact and interfacial adhesion on well-defined periodic hierarchical pillars*. Nanoscale, 2013. **5**(3): p. 1018-25.
98. Yen, T.H. and C.Y. Soong, *Hybrid Cassie-Wenzel model for droplets on surfaces with nanoscale roughness*. Phys Rev E, 2016. **93**(2): p. 022805.
99. Marhova, M., S. Kostadinova, and S. Stoitsova, *Biofilm-Forming Capabilities of Urinary Escherichia Coli Isolates*. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2014. **24**(sup1): p. 589-593.
100. Belas, R., *Biofilms, flagella, and mechanosensing of surfaces by bacteria*. Trends Microbiol, 2014. **22**(9): p. 517-27.

101. Gu, H., K.W. Kolewe, and D. Ren, *Conjugation in Escherichia coli Biofilms on Poly(dimethylsiloxane) Surfaces with Microtopographic Patterns*. Langmuir, 2017. **33**(12): p. 3142-3150.
102. Gu, H., K.W. Kolewe, and D. Ren, *Conjugation in Escherichia coli biofilms on poly (dimethylsiloxane) surfaces with microtopographic patterns*. Langmuir, 2017. **33**(12): p. 3142-3150.

## 7. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Johannes Hübner und meinen Betreuer Christian Pfeffer für die Möglichkeit, meine Promotionsarbeit mit einem für mich vielseitigen und spannenden Thema durchzuführen. Vielen Dank für die zahlreichen wissenschaftlichen Ratschläge, Diskussionen und die ausführlichen Feedback-Gespräche während den letzten Jahren. Insbesondere bedanke ich mich für die Unterstützung und Chance meine eigenen Ideen und Vorstellungen bei der Planung der weiteren Vorgehensweise mit einfließen zu lassen.

Herzlichen Dank auch an Prof. Olivier Gires für die Möglichkeit, meine Versuche in seinem Labor durchzuführen und für die vielen wissenschaftlichen Ratschläge und die Unterstützung über die ganze Zeit der Dissertation hinweg.

Vielen, vielen Dank an das Team der HNO – Forschung in Großhadern, an Elisabeth Pfrogner, Gabriele Berr, Gisela Kranz, Brigitte Mack, Elke Luxenburger, Darko Libl und den Rest der HNO-Forschung für eure Hilfsbereitschaft, euren wissenschaftlichen Rat und das wundervolle Arbeitsklima. Ein besonderes Dankeschön geht auch an Franziska Lindner, für die guten Ratschläge und mit der die gemeinsame Laborzeit umso abwechslungsreicher und spannender war.

Danke auch an George „Buzz“ Kenney, für die gemeinsame Forschungszeit am MIT in Boston und für die vielen hilfreichen Kommentare und Ratschläge.

Ein großes Dankeschön an Friederike Rossmann für die Bereitstellung der Bakterienstämme, die hilfreichen Diskussionen und deine ausführlichen Erklärungen.

Vielen Dank auch an Herrn Prof. Dr. Renner von der Fakultät 05 der Hochschule München für die guten Ratschläge zur Realisierung des Strömungsversuches.

Insbesondere möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mich nicht nur während der Zeit der Doktorarbeit, sondern schon mein ganzes Leben unterstützen und ausnahmslos immer für mich da sind. Ohne euch wäre dieses Studium nicht möglich gewesen.

Ein besonderer Dank geht an meinen Mann Simon Hötscher, für deine Unterstützung, deinen Beistand und dein Verständnis in den letzten Jahren.

# IV. Anhang

## 1. Abperlwinkel

### 1.1. destilliertes Wasser

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#000	90	90	38	28	18	12
	90	90	38	28	19	12
	90	90	40	28	19	13
Mittelwert	90	90	38,66666667	28	18,66666667	12,33333333
Stabwa	0	0	0,942809042	0	0,471404521	0,471404521

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#001	90	90	62	36	32	6
	90	90	62	36	28	9
	90	90	62	36	25	9
Mittelwert	90	90	62	36	28,33333333	8
Stabwa	0	0	0	0	2,867441756	1,414213562

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#002	26	22	12	8	4	4
	26	22	12	8	4	4
	30	22	12	12	4	4
Mittelwert	27,33333333	22	12	9,33333333	4	4
Stabwa	1,885618083	0	0	1,885618083	0	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#004	50	110	59	26	16	9
	50	112	73	28	11	9
	51	90	65	30	12	8
Mittelwert	50,33333333	104	65,66666667	28	13	8,666666667
Stabwa	0,471404521	9,933109617	5,734883511	1,632993162	2,160246899	0,471404521

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#006	13	17	9	11	7	6
	10	10	8	6	6	6
	16	17	9	10	6	5
Mittelwert	13	14,66666667	8,666666667	9	6,333333333	5,666666667
Stabwa	2,449489743	3,299831646	0,471404521	2,160246899	0,471404521	0,471404521

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#007	22	28	41	8	10	5
	32	46	20	11	8	6
	32	48	14	16	6	8
Mittelwert	28,66666667	40,66666667	25	11,66666667	8	6,333333333
Stabwa	4,714045208	8,993825042	11,5758369	3,299831646	1,632993162	1,247219129

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#008	62	24	19	14	10	6
	62	24	18	14	13	8
	57	26	20	18	12	7
Mittelwert	60,33333333	24,66666667	19	15,33333333	11,66666667	7
Stabwa	2,357022604	0,942809042	0,816496581	1,885618083	1,247219129	0,816496581

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#009	60	36	20	16	10	9
	58	34	20	14	10	8
	56	34	28	14	11	8
Mittelwert	58	34,66666667	22,66666667	14,66666667	10,33333333	8,333333333
Stabwa	1,632993162	0,942809042	3,771236166	0,942809042	0,471404521	0,471404521

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#012	32	24	14	9	4	4
	32	24	14	9	4	4
	32	20	13	8	4	5
Mittelwert	32	22,66666667	13,66666667	8,666666667	4	4,333333333
Stabwa	0	1,885618083	0,471404521	0,471404521	0	0,471404521

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#069	48	44	24	16	9	6
	50	44	24	16	9	6
	50	50	26	20	10	6
Mittelwert	49,33333333	46	24,66666667	17,33333333	9,333333333	6
Stabwa	0,942809042	2,828427125	0,942809042	1,885618083	0,471404521	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#086	20	20	10	8	3	3
	22	20	10	9	3	3
	22	20	11	11	3	4
Mittelwert	21,33333333	20	10,33333333	9,333333333	3	3,333333333
Stabwa	0,942809042	0	0,471404521	1,247219129	0	0,471404521

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#401	90	58	34	21	14	12
	90	58	34	21	14	12
	90	58	34	21	14	12
Mittelwert	90	58	34	21	14	12
Stabwa	0	0	0	0	0	0

## 1.2. LB – Medium

#000	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
	78	46	43	24	14	10
	78	48	46	33	18,5	12
	78	46	45	28	15	10
<b>Mittelwert</b>	78	46,66666667	44,66666667	28,33333333	15,83333333	10,66666667
<b>Stabwa</b>	0	0,942809042	1,247219129	3,681787006	1,92930615	0,942809042

#002	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
	24	20	14	12	6	5
	23	20	14	12	6	4
	24	20	14	12	7	6
<b>Mittelwert</b>	23,66666667	20	14	12	6,333333333	5
<b>Stabwa</b>	0,471404521	0	0	0	0,471404521	0,816496581

#006	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
	90	22	39	18	10	6
	90	23	26	10	10	4
	32	90	28	23	8	10
<b>Mittelwert</b>	70,66666667	45	31	17	9,333333333	6,666666667
<b>Stabwa</b>	27,34146221	31,82242396	5,715476066	5,354126135	0,942809042	2,494438258

#008	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
	42	24	25	14	11	6
	40	24	29	13	10	7
	48	24	28	18	7	9
<b>Mittelwert</b>	43,33333333	24	27,33333333	15	9,333333333	7,333333333
<b>Stabwa</b>	3,399346342	0	1,699673171	2,160246899	1,699673171	1,247219129

#012	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
	30	26	19	13	9	8
	33	24	18	13	10	8
	33	25	19	12	10	8
<b>Mittelwert</b>	32	25	18,66666667	12,66666667	9,666666667	8
<b>Stabwa</b>	1,414213562	0,816496581	0,471404521	0,471404521	0,471404521	0

#086	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
	21	20	14	12	8	8
	27	20	14	10	8	8
	27	15	14	10	6	6
<b>Mittelwert</b>	25	18,33333333	14	10,66666667	7,333333333	7,333333333
<b>Stabwa</b>	3,464101615	2,886751346	0	1,154700538	1,154700538	1,154700538

#001	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
	90	90	56	23	13	8,5
	90	90	58	17,5	15	10,5
	90	90	64	18	10,5	9,5
<b>Mittelwert</b>	90	90	59,33333333	19,5	12,83333333	9,5
<b>Stabwa</b>	0	0	3,399346342	2,483277404	1,840893503	0,816496581

#004	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
	24	24	18	14	8	6
	22	20	15	12	8	5
	28	22	18	13	9	6
<b>Mittelwert</b>	24,66666667	22	17	13	8,333333333	5,666666667
<b>Stabwa</b>	2,494438258	1,632993162	1,414213562	0,816496581	0,471404521	0,471404521

#007	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
	90	90	62	38	19	14
	90	90	64	38	20	14
	90	90	64	38	20	14
<b>Mittelwert</b>	90	90	63,33333333	38	19,66666667	14
<b>Stabwa</b>	0	0	1,154700538	0	0,577350269	0

#009	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
	26	20	16	11	8	5
	25	20	17	13	9	6
	24	22	17	12	7	6
<b>Mittelwert</b>	25	20,66666667	16,66666667	12	8	5,666666667
<b>Stabwa</b>	0,816496581	0,942809042	0,471404521	0,816496581	0,816496581	0,471404521

#069	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
	78	55	25	20	10	9
	78	43	29	20	10	9
	80	43	30	22	10	9
<b>Mittelwert</b>	78,66666667	47	28	20,66666667	10	9
<b>Stabwa</b>	0,942809042	5,656854249	2,160246899	0,942809042	0	0

#401	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
	37	46	23	20	10	6
	90	63	42	26	15	6
	90	32	33	15	6	5
<b>Mittelwert</b>	72,33333333	47	32,66666667	20,33333333	10,33333333	5,666666667
<b>Stabwa</b>	24,9844396	12,67543556	7,760297818	4,496912521	3,681787006	0,471404521



### 1.3. E. coli

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#000	90	90	38	28	19	13
	90	90	38	28	19	12
	90	90	50	28	18	12
Mittelwert	90	90	42	28	18,666667	12,333333
Stabwa	0	0	5,6568542	0	0,4714045	0,4714045

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#001	90	90	62	36	25	9
	90	90	62	36	28	6
	90	90	62	36	32	9
Mittelwert	90	90	62	36	28,333333	8
Stabwa	0	0	0	0	2,8674418	1,4142136

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#002	20	18	13	10	8	5
	20	18	13	10	8	5
	20	18	15	10	8	5
Mittelwert	20	18	13,666667	10	8	5
Stabwa	0	0	0,942809	0	0	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#004	50	133	59	30	12	8
	50	112	73	28	14	9
	51	90	87	26	16	9
Mittelwert	50,333333	111,666667	73	28	14	8,6666667
Stabwa	0,4714045	17,556259	11,430952	1,6329932	1,6329932	0,4714045

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#006	90	77	20	30	18	17
	90	65	50	28	18	14
	90	53	50	26	20	14
Mittelwert	90	65	40	28	18,666667	15
Stabwa	0	9,797959	14,142136	1,6329932	0,942809	1,4142136

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#007	90	90	76	36	18	14
	90	90	76	36	18	14
	90	90	76	38	16	14
Mittelwert	90	90	76	36,666667	17,333333	14
Stabwa	0	0	0	0,942809	0,942809	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#008	26	22	22	18	10	8
	26	22	21	20	10	8
	28	22	21	22	10	8
Mittelwert	26,666667	22	21,333333	20	10	8
Stabwa	0,942809	0	0,4714045	1,6329932	0	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#009	60	90	20	14	11	8
	58	34	20	14	10	8
	56	34	28	40	10	9
Mittelwert	58	52,666667	22,666667	22,666667	10,333333	8,333333
Stabwa	1,6329932	26,398653	3,7712362	12,256518	0,4714045	0,4714045

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#012	22	20	16	13	9	6
	22	20	16	13	9	6
	22	20	16	13	9	6
Mittelwert	22	20	16	13	9	6
Stabwa	0	0	0	0	0	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#069	90	44	22	20	8	7
	90	44	23	20	8	7
	90	42	25	15	8	7
Mittelwert	90	43,333333	23,333333	18,333333	8	7
Stabwa	0	0,942809	1,2472191	2,3570226	0	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#086	64	20	15	10	12	9
	90	20	13	11	10	8
	90	20	12	11	10	8
Mittelwert	81,333333	20	13,333333	10,666667	10,666667	8,333333
Stabwa	12,256518	0	1,2472191	0,4714045	0,942809	0,4714045

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#401	90	58	34	21	14	12
	90	58	34	21	14	12
	90	58	34	21	14	12
Mittelwert	90	58	34	21	14	12
Stabwa	0	0	0	0	0	0

## 1.4. TSB – Medium

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#000	90	90	42	32	15	12
	90	90	42	30	15	10
	90	90	42	30	15	10
	90	90	42	30	15	10
<b>Mittelwert</b>	90	90	42	30,666667	15	10,666667
<b>Stabwa</b>	0	0	0	1,1547005	0	1,1547005

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#001	90	90	42	26	10	8
	90	90	22	28	10	8
	90	90	54	28	10	8
	90	90	54	28	10	8
<b>Mittelwert</b>	90	90	39,333333	27,333333	10	8
<b>Stabwa</b>	0	0	13,199327	0,942809	0	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#002	90	35	15	14	9	4
	90	30	15	12	9	4
	90	27	15	12	9	4
	90	27	15	12	9	4
<b>Mittelwert</b>	90	30,666667	15	12,666667	9	4
<b>Stabwa</b>	0	3,2998316	0	0,942809	0	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#004	60	44	20	14	7	6
	90	30	19	14	7	5
	90	30	19	12	7	5
	90	30	19	12	7	5
<b>Mittelwert</b>	80	34,666667	19,333333	13,333333	7	5,333333
<b>Stabwa</b>	14,142136	6,5996633	0,4714045	0,942809	0	0,4714045

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#006	90	90	52	28	12	2
	90	90	50	28	5	2
	90	90	50	20	6	2
	90	90	50	20	6	2
<b>Mittelwert</b>	90	90	50,666667	25,333333	7,666667	2
<b>Stabwa</b>	0	0	0,942809	3,7712362	3,0912062	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#007	90	90	50	36	14	10
	90	90	50	36	14	10
	90	90	50	36	14	10
	90	90	50	36	14	10
<b>Mittelwert</b>	90	90	50	36	14	10
<b>Stabwa</b>	0	0	0	0	0	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#008	90	40	18	18	10	8
	90	30	18	14	11	6
	90	30	20	14	11	6
	90	30	20	14	11	6
<b>Mittelwert</b>	90	33,333333	18,666667	15,333333	10,666667	6,666667
<b>Stabwa</b>	0	4,7140452	0,942809	1,8856181	0,4714045	0,942809

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#009	44	26	14	14	6	7
	90	26	14	12	6	5
	90	26	14	16	6	5
	90	26	14	16	6	5
<b>Mittelwert</b>	74,666667	26	14	14	6	5,666667
<b>Stabwa</b>	21,684608	0	0	1,6329932	0	0,942809

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#012	90	26	20	13	8	6
	90	26	19	13	8	6
	90	26	20	13	10	6
	90	26	20	13	10	6
<b>Mittelwert</b>	90	26	19,666667	13	8,666667	6
<b>Stabwa</b>	0	0	0,4714045	0	0,942809	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#069	72	40	24	16	7	6
	72	40	24	16	7	6
	72	40	24	16	7	6
	72	40	24	16	7	6
<b>Mittelwert</b>	72	40	24	16	7	6
<b>Stabwa</b>	0	0	0	0	0	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#086	75	34	10	6	4	2
	78	34	11	6	4	2
	78	14	11	6	4	2
	78	14	11	6	4	2
<b>Mittelwert</b>	77	27,333333	10,666667	6	4	2
<b>Stabwa</b>	1,4142136	9,4280904	0,4714045	0	0	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#401	90	90	28	16	6	6
	90	62	20	16	6	4
	90	62	20	16	6	4
	90	62	20	16	6	4
<b>Mittelwert</b>	90	71,333333	22,666667	16	6	4,666667
<b>Stabwa</b>	0	13,199327	3,7712362	0	0	0,942809

## 1.5. E. faecalis

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#000	90	90	60	34	18	15
	90	90	60	34	20	12
	90	90	60	34	20	12
Mittelwert	90	90	60	34	19,333333	13
Stabwa	0	0	0	0	0,942809	1,4142136

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#001	90	90	60	40	13	12
	90	90	60	20	18	12
	90	90	60	18	18	12
Mittelwert	90	90	60	26	16,333333	12
Stabwa	0	0	0	9,9331096	2,3570226	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#002	90	30	16	18	8	6
	90	28	16	14	9	6
	90	28	16	12	10	5
Mittelwert	90	28,666667	16	14,666667	9	5,6666667
Stabwa	0	0,942809	0	2,4944383	0,8164966	0,4714045

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#004	90	90	38	34	10	10
	90	90	38	24	10	10
	90	90	39	24	12	10
Mittelwert	90	90	38,333333	27,333333	10,666667	10
Stabwa	0	0	0,4714045	4,7140452	0,942809	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#006	90	90	48	30	14	10
	90	90	48	30	14	10
	90	90	50	30	12	10
Mittelwert	90	90	48,666667	30	13,333333	10
Stabwa	0	0	0,942809	0	0,942809	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#007	90	90	48	36	18	16
	90	90	55	36	18	16
	90	90	55	36	20	16
Mittelwert	90	90	52,666667	36	18,666667	16
Stabwa	0	0	3,2998316	0	0,942809	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#008	90	90	20	40	12	13
	90	90	60	40	12	10
	90	90	60	26	12	10
Mittelwert	90	90	46,666667	35,333333	12	11
Stabwa	0	0	18,856181	6,5996633	0	1,4142136

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#009	90	90	18	36	10	8
	90	90	20	20	10	8
	90	90	34	13	10	8
Mittelwert	90	90	24	23	10	8
Stabwa	0	0	7,1180522	9,6263527	0	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#012	90	36	18	16	8	6
	90	36	18	14	8	6
	90	36	19	14	9	6
Mittelwert	90	36	18,333333	14,666667	8,333333	6
Stabwa	0	0	0,4714045	0,942809	0,4714045	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#069	80	41	22	16	9	8
	85	41	22	16	9	8
	85	40	23	16	9	7
	83,333333	40,666667	22,333333	16	9	7,6666667
Mittelwert	83,333333	40,666667	22,333333	16	9	7,6666667
Stabwa	2,3570226	0,4714045	0,4714045	0	0	0,4714045

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#086	90	30	11	15	10	6
	90	20	12	9	12	6
	90	18	12	8	8	6
Mittelwert	90	22,666667	11,666667	10,666667	10	6
Stabwa	0	5,2493386	0,4714045	3,0912062	1,6329932	0

	10µl	20µl	50µl	100µl	300µl	500µl
#401	90	90	54	31	14	11
	90	90	54	30	16	10
	90	90	62	30	18	10
Mittelwert	90	90	56,666667	30,333333	16	10,333333
Stabwa	0	0	3,7712362	0,4714045	1,6329932	0,4714045

## 2. Kontaktwinkel

### 2.1. destilliertes Wasser

Mittelwert aus rechts und links:

#000	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	106	104	108	109	113
rechts	104	107	109	113	111
Mittelwert	104,66667	106	108	110,33333	112,33333
Stabwa	0,942809	1,4142136	0,8164966	1,8856181	0,942809

#000	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	100	108	108	107	109
links	105	104	109	113	114
Mittelwert	104,66667	106	108,33333	110,33333	113,33333
Stabwa	3,681787	1,6329932	0,4714045	2,4944383	3,2998316

#000	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	104,66667	106	108	110,33333	112,33333
links	104,66667	106	108,33333	110,33333	113,33333
Mittelwert	104,66667	106	108,16667	110,33333	112,83333
Stabwa	2,6874182	1,5275252	0,6871843	2,2110832	2,4776781

#001	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	123	123	136	142	146
rechts	128	121	131	141	138
Mittelwert	125,66667	123	134,33333	139,66667	142,66667
Stabwa	2,0548047	1,6329932	2,3570226	2,6246693	3,3993463

#001	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	123	123	129	141	147
links	128	130	132	145	145
Mittelwert	124	126	132,33333	141,33333	146
Stabwa	2,9439203	2,9439203	2,8674418	2,8674418	0,8164966

#001	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	125,66667	123	134,33333	139,66667	142,66667
links	124	126	132,33333	141,33333	146
Mittelwert	124,83333	124,5	133,33333	140,5	144,33333
Stabwa	2,8718699	2,8136572	2,8087166	2,8722813	2,981424

#002	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	126	144	144	149	157
rechts	129	138	134	148	154
Mittelwert	130	139,66667	141,33333	149,66667	154,66667
Stabwa	3,7416574	3,0912062	5,2493386	1,6996732	1,6996732

#002	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	139	143	147	150	155
links	133	138	127	147	155
Mittelwert	135	140,66667	140,33333	148,33333	155,33333
Stabwa	2,8284271	2,0548047	9,4280904	1,2472191	0,4714045

#002	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	130	139,66667	141,33333	149,66667	154,66667
links	135	140,66667	140,33333	148,33333	155,33333
Mittelwert	132,5	140,16667	140,83333	149	155
Stabwa	4,1533119	2,6718699	7,6467132	1,6329932	1,2909944

#004	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	144	138	146	147	152
rechts	133	144	142	141	151
Mittelwert	138,33333	140	143,33333	147	152,66667
Stabwa	4,4969125	2,8284271	1,8856181	4,8989795	1,6996732

#004	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	141	141	144	154	151
links	133	140	147	142	153
Mittelwert	135,66667	140,33333	143,66667	149	152,33333
Stabwa	3,7712362	0,4714045	2,8674418	5,0990195	0,942809

#004	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	138,33333	140	143,33333	147	152,66667
links	135,66667	140,33333	143,66667	149	152,33333
Mittelwert	137	140,16667	143,5	148	152,5
Stabwa	4,3589889	2,0344259	2,4324199	5,0990195	1,3844373

#006	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	141	153	151	150	155
rechts	136	144	150	150	156
Mittelwert	139,33333	147,33333	150	150	155,66667
Stabwa	2,3570226	4,027682	0,8164966	0	0,4714045

#006	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	143	154	153	155	155
links	138	152	152	152	158
Mittelwert	139,33333	150,66667	152	152,66667	157,33333
Stabwa	2,6246693	3,3993463	0,8164966	1,6996732	1,6996732

#006	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	139,33333	147,33333	150	150	155,66667
links	139,33333	150,66667	152	152,66667	157,33333
Mittelwert	139,33333	149	151	151,33333	156,5
Stabwa	2,4944383	4,0824829	1,2909944	1,7950549	1,5

#007	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	137	134	147	148	156
rechts	130	144	145	147	147
Mittelwert	133,33333	140	146,33333	149,33333	149,33333
Stabwa	2,8674418	4,3204938	0,942809	2,6246693	4,7842334

#007	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	137	141	148	146	154
links	134	142	141	148	151
Mittelwert	134,66667	140,33333	144	148,66667	150
Stabwa	1,6996732	1,6996732	2,9439203	2,4944383	3,7416574

#007	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	133,33333	140	146,33333	149,33333	149,33333
links	134,66667	140,33333	144	148,66667	150
Mittelwert	134	140,16667	145,16667	149	149,66667
Stabwa	2,4494897	3,2871805	2,4776781	2,5819889	4,307616

#008	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	137	138	139	145	151
rechts	131	136	139	141	146
Mittelwert	132	138,33333	139	142,66667	147
Stabwa	3,7416574	2,0548047	0	1,6996732	2,9439203

#008	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	134	140	141	140	144
links	132	135	140	140	145
Mittelwert	133,33333	136	139,66667	142	145,33333
Stabwa	0,942809	2,9439203	1,2472191	2,8284271	1,2472191

#008	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	132	138,33333	139	142,66667	147
links	133,33333	136	139,66667	142	145,33333
Mittelwert	132,66667	137,16667	139,33333	142,33333	146,16667
Stabwa	2,8087166	2,7938424	0,942809	2,3570226	2,409472

#009	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	125	132	135	139	138
rechts	122	133	137	140	140
Mittelwert	125,33333	132,33333	136,66667	139	138,66667
Stabwa	2,8674418	0,4714045	1,2472191	0,8164966	0,942809

#009	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	128	134	137	135	126
links	125	136	135	140	144
Mittelwert	127	135	135,66667	137,33333	135,66667
Stabwa	1,4142136	0,8164966	0,942809	2,0548047	7,4087036

#009	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	125,33333	132,33333	136,66667	139	138,66667
links	127	135	135,66667	137,33333	135,66667
Mittelwert	126,16667	133,66667	136,16667	138,16667	137,16667
Stabwa	2,409472	1,490712	1,2133516	1,771691	5,4898997

#012	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	135	147	141	142	144
rechts	134	136	149	140	147
Mittelwert	134,33333	142	144,33333	145,33333	144,66667
Stabwa	0,4714045	4,5460606	3,3993463	6,1824123	1,6996732

#012	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	131	146	148	148	155
links	135	147	136	152	154
Mittelwert	133,66667	145,33333	144,66667	149,66667	155,66667
Stabwa	1,8856181	1,6996732	6,1824123	1,6996732	1,6996732

#012	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	134,33333	142	144,33333	145,33333	144,66667
links	133,66667	145,33333	144,66667	149,66667	155,66667
Mittelwert	134	143,66667	144,5	147,5	150,16667
Stabwa	1,4142136	3,8151744	4,9916597	5,0249378	5,7566387

#069	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	145	152	142	148	156
rechts	144	140	145	153	145
Mittelwert	147	144,33333	144,33333	148	147,66667
Stabwa	3,5590261	5,4365021	1,6996732	4,0824829	6,01849

#069	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	156	153	152	152	160
links	154	143	143	151	159
Mittelwert	154	147,66667	149	148,33333	158,33333
Stabwa	1,6329932	4,1096093	4,2426407	4,4969125	1,6996732

#069	10µl
------	------

## 2.2. LB – Medium

#000	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	97	94	98	108	115
	106	105	102	105	112
<b>rechts</b>	97	104	104	112	114
<b>Mittelwert</b>	100	101	101,33333	108,33333	113,66667
<b>Stabwa</b>	4,2426407	4,9665548	2,4944383	2,8674418	1,2472191

#000	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	100	103	103	101	119
	94	98	107	108	107
<b>links</b>	103	110	105	112	111
<b>Mittelwert</b>	99	103,66667	105	107	112,33333
<b>Stabwa</b>	3,7416574	4,9216077	1,6329332	4,5460606	4,9888785

Mittelwert aus rechts und links:

#000	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	100	101	101,33333	108,33333	113,66667
<b>rechts</b>	99	103,66667	105	107	112,33333
<b>links</b>	99,5	102,33333	103,16667	107,66667	113
<b>Mittelwert</b>	4,0311289	5,1207638	2,7938424	3,8586123	3,6988455

#001	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	116	117	121	145	141
	117	140	138	140	156
<b>rechts</b>	119	135	123	140	133
<b>Mittelwert</b>	117,33333	130,66667	127,33333	141,66667	143
<b>Stabwa</b>	1,2472191	9,8770216	7,5865378	2,3570226	9,0921211

#001	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	117	124	129	143	132
	115	140	142	141	148
<b>links</b>	114	137	127	138	137
<b>Mittelwert</b>	115,33333	133,66667	132,66667	140,66667	139
<b>Stabwa</b>	1,2472191	6,9442222	6,6499791	2,0548047	6,6833126

#001	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	117,33333	130,66667	127,33333	141,66667	143
<b>rechts</b>	115,33333	133,66667	132,66667	140,66667	139
<b>links</b>	116,33333	132,16667	130	141,16667	141
<b>Mittelwert</b>	1,5986105	8,6682691	7,6157731	2,2669118	8,2259751

#002	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	141	145	143	147	143
	137	139	137	142	156
<b>rechts</b>	137	141	147	144	145
<b>Mittelwert</b>	138,33333	141,66667	142,33333	144,33333	148
<b>Stabwa</b>	1,8856181	2,4944383	4,1096093	2,0548047	5,7154761

#002	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	139	139	148	143	147
	133	136	142	137	152
<b>links</b>	140	140	142	142	133
<b>Mittelwert</b>	137,33333	138,33333	144	140,66667	144
<b>Stabwa</b>	3,0912062	1,6996732	2,8284271	2,6246693	8,0419587

#002	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	138,33333	141,66667	142,33333	144,33333	148
<b>rechts</b>	137,33333	138,33333	144	140,66667	144
<b>links</b>	137,83333	140	143,16667	142,5	146
<b>Mittelwert</b>	2,608746	2,7080128	3,6247605	2,9860788	7,2571804

#004	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	130	136	140	147	145
	141	140	145	147	150
<b>rechts</b>	136	142	148	142	152
<b>Mittelwert</b>	135,66667	139,33333	144,33333	145,33333	149
<b>Stabwa</b>	4,4969125	2,4944383	3,2998316	2,3570226	2,9439203

#004	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	132	138	147	145	155
	141	148	146	144	153
<b>links</b>	136	138	147	146	157
<b>Mittelwert</b>	136,33333	141,33333	146,66667	145	155
<b>Stabwa</b>	3,681787	4,7140452	4,4714045	0,8164966	1,6329932

#004	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	135,66667	139,33333	144,33333	145,33333	149
<b>rechts</b>	136,33333	141,33333	146,66667	145	155
<b>links</b>	136	140,33333	145,5	145,16667	152
<b>Mittelwert</b>	4,1231056	3,9016566	2,6299556	1,771691	3,8297084

#006	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	134	140	142	153	149
	140	140	149	140	156
<b>rechts</b>	138	139	145	146	148
<b>Mittelwert</b>	137,33333	139,66667	145,33333	146,33333	151
<b>Stabwa</b>	2,4944383	0,4714045	2,8674418	5,3124592	3,5590261

#006	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	135	141	147	146	138
	138	141	142	149	154
<b>links</b>	139	137	144	147	152
<b>Mittelwert</b>	137,33333	139,66667	144,33333	147,33333	148
<b>Stabwa</b>	1,6996732	1,8856181	2,0548047	1,2472191	7,1180522

#006	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	137,33333	139,66667	145,33333	146,33333	151
<b>rechts</b>	137,33333	139,66667	144,33333	147,33333	148
<b>links</b>	137,33333	139,66667	144,83333	146,83333	149,5
<b>Mittelwert</b>	2,1343747	1,3743885	2,5440563	3,8908725	5,8238017

#007	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	141	140	149	159	153
	138	148	149	157	148
<b>rechts</b>	147	140	151	144	158
<b>Mittelwert</b>	142	142,66667	149,66667	153,33333	153
<b>Stabwa</b>	3,7416574	3,7712362	0,942809	6,6499791	4,0824829

#007	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	145	144	145	152	144
	140	148	153	151	158
<b>links</b>	147	145	149	151	145
<b>Mittelwert</b>	145	145,66667	149	151,33333	149
<b>Stabwa</b>	3,5590261	1,6996732	3,2659863	0,4714045	6,3770422

#007	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	142	142,66667	149,66667	153,33333	153
<b>rechts</b>	145	145,66667	149	151,33333	149
<b>links</b>	143,5	144,16667	149,33333	152,33333	151
<b>Mittelwert</b>	3,9475731	3,2871805	2,4267033	4,8189441	5,7154761

#008	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	130	143	143	142	148
	124	139	142	141	132
<b>rechts</b>	124	129	127	135	141
<b>Mittelwert</b>	126	137	137,33333	139,33333	140,33333
<b>Stabwa</b>	2,8284271	5,8878406	7,3181661	3,0912062	6,5498609

#008	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	137	138	138	139	141
	130	138	138	147	133
<b>links</b>	131	129	136	133	143
<b>Mittelwert</b>	132,66667	135	137,33333	139,66667	139
<b>Stabwa</b>	3,0912062	4,2426407	0,942809	5,7348835	4,3204938

#008	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	126	137	137,33333	139,33333	140,33333
<b>rechts</b>	132,66667	135	137,33333	139,66667	139
<b>links</b>	129,33333	136	137,33333	139,5	139,66667
<b>Mittelwert</b>	4,4596961	5,228129	5,2174919	4,6097722	5,5876849

#009	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	123	143	127	147	151
	134	134	137	147	141
<b>rechts</b>	123	131	146	137	148
<b>Mittelwert</b>	126,66667	136	136,66667	143,66667	146,66667
<b>Stabwa</b>	5,1854497	5,0990195	7,7602978	4,7140452	4,189935

#009	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	135	140	128	146	141
	129	131	132	141	147
<b>links</b>	129	135	144	143	146
<b>Mittelwert</b>	131	135,33333	134,66667	143,33333	144,66667
<b>Stabwa</b>	2,8284271	3,681787	6,7986927	2,0548047	2,6246693

#009	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	126,66667	136	136,66667	143,66667	146,66667
<b>rechts</b>	131	135,33333	134,66667	143,33333	144,66667
<b>links</b>	128,83333	135,66667	135,66667	143,5	145,66667
<b>Mittelwert</b>	4,7051891	4,4596961	7,363574	3,6400649	3,6362374

#012	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	138	144	149	149	160
	139	136	145	144	146
<b>rechts</b>	138	148	138	147	149
<b>Mittelwert</b>	138,33333	142,66667	144	146,66667	151,66667
<b>Stabwa</b>	0,4714045	4,9888765	4,5460606	2,0548047	6,01849

#012	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	135	144	148	152	154
	141	138	149	142	158
<b>links</b>	138	148	140	144	161
<b>Mittelwert</b>	138	143,33333	145,66667	146	157,66667
<b>Stabwa</b>	2,4494897	4,1096093	4,027682	4,3204938	2,8674418

### 2.3. E. coli

<b>#000</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	106	114	110	120	123
	111	114	117	124	118
	111	118	119	118	123
<b>rechts</b>					
<b>Mittelwert</b>	109,33333	115,33333	115,33333	120,66667	121,33333
<b>Stabwa</b>	2,3570226	1,8856181	3,8586123	2,4944383	2,3570226

<b>#000</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	110	115	114	119	118
	111	116	114	118	117
	105	115	118	120	124
<b>links</b>					
<b>Mittelwert</b>	108,66667	115,33333	115,33333	119	119,66667
<b>Stabwa</b>	2,6246693	0,4714045	1,8856181	0,8164966	3,0912062

Mittelwert aus rechts und links:

<b>#000</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
<b>rechts</b>	109,33333	115,33333	115,33333	120,66667	121,33333
<b>links</b>	108,66667	115,33333	115,33333	119	119,66667
<b>Mittelwert</b>	109	115,33333	115,33333	119,83333	120,5
<b>Stabwa</b>	2,5166115	1,3743685	3,0368112	2,0344259	2,8722813

<b>#001</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	111	122	136	127	136
	117	120	125	129	129
	117	118	121	128	138
<b>rechts</b>					
<b>Mittelwert</b>	115	120	127,33333	128	134,33333
<b>Stabwa</b>	2,8284271	1,6329932	6,3420992	0,8164966	3,8586123

<b>#001</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	120	118	132	121	126
	115	116	115	129	133
	116	117	120	124	134
<b>links</b>					
<b>Mittelwert</b>	117	117	122,33333	124,66667	131
<b>Stabwa</b>	2,1602469	0,8164966	7,1336449	3,2996316	3,5590261

<b>#001</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
<b>rechts</b>	115	120	127,33333	128	134,33333
<b>links</b>	117	117	122,33333	124,66667	131
<b>Mittelwert</b>	116	118,5	124,83333	126,33333	132,66667
<b>Stabwa</b>	2,7080128	1,979057	7,1976076	2,9249881	4,0688819

<b>#002</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	139	142	155	153	159
	136	148	142	153	160
	137	144	153	150	154
<b>rechts</b>					
<b>Mittelwert</b>	137,33333	144,66667	150	152	157,66667
<b>Stabwa</b>	1,2472191	2,4944383	5,7154761	1,4142136	2,6246693

<b>#002</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	137	140	150	154	159
	138	148	154	152	154
	135	143	152	152	157
<b>links</b>					
<b>Mittelwert</b>	136,66667	143,66667	152	152,66667	156,66667
<b>Stabwa</b>	1,2472191	3,2996316	1,6329932	0,942809	2,0548047

<b>#002</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
<b>rechts</b>	137,33333	144,66667	150	152	157,66667
<b>links</b>	136,66667	143,66667	152	152,66667	156,66667
<b>Mittelwert</b>	137	144,16667	151	152,33333	157,16667
<b>Stabwa</b>	1,2909944	2,9674156	4,3204938	1,2472191	2,409472

<b>#004</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	136	139	144	152	140
	132	137	144	156	152
	126	138	149	150	152
<b>rechts</b>					
<b>Mittelwert</b>	131,33333	138	145,33333	152,66667	149
<b>Stabwa</b>	4,1096093	0,8164966	1,8856181	2,4944383	5,6568542

<b>#004</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	133	136	143	151	152
	130	137	149	155	152
	132	138	147	159	152
<b>links</b>					
<b>Mittelwert</b>	131,66667	137	146,33333	155	152
<b>Stabwa</b>	1,2472191	0,8164966	2,4944383	3,2659863	0

<b>#004</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
<b>rechts</b>	131,33333	138	145,33333	152,66667	149
<b>links</b>	131,66667	137	146,33333	155	152
<b>Mittelwert</b>	131,5	137,5	145,83333	153,83333	150
<b>Stabwa</b>	3,0413813	0,9574271	2,2659118	3,1313824	4,472136

<b>#006</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	134	140	147	147	150
	136	137	140	145	149
	133	142	138	143	145
<b>rechts</b>					
<b>Mittelwert</b>	134,33333	139,66667	141,66667	145	148
<b>Stabwa</b>	1,2472191	2,0548047	3,8586123	1,6329932	2,1602469

<b>#006</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	133	144	147	144	145
	135	132	140	144	148
	128	138	137	143	142
<b>links</b>					
<b>Mittelwert</b>	132	138	141,33333	143,66667	145
<b>Stabwa</b>	2,949203	4,8989795	4,189935	0,4714045	2,4494837

<b>#006</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
<b>rechts</b>	134,33333	139,66667	141,66667	145	148
<b>links</b>	132	138	141,33333	143,66667	145
<b>Mittelwert</b>	133,16667	138,83333	141,5	144,33333	146,5
<b>Stabwa</b>	2,5440563	3,8477988	4,0311289	1,3743685	2,7537893

<b>#007</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	141	145	141	143	147
	134	140	148	149	148
	139	144	145	145	146
<b>rechts</b>					
<b>Mittelwert</b>	138	143	144,66667	145,66667	147
<b>Stabwa</b>	2,949203	2,1602469	2,8674418	2,4944383	0,8164966

<b>#007</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	135	144	135	141	144
	139	134	148	148	145
	139	143	144	144	145
<b>links</b>					
<b>Mittelwert</b>	137,66667	140,33333	142,33333	144,33333	144,66667
<b>Stabwa</b>	1,8856181	4,4963125	5,4365021	2,8674418	0,4714045

<b>#007</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
<b>rechts</b>	138	143	144,66667	145,66667	147
<b>links</b>	137,66667	140,33333	142,33333	144,33333	144,66667
<b>Mittelwert</b>	137,83333	141,66667	143,5	145	145,83333
<b>Stabwa</b>	2,4776781	3,7712362	4,5	2,7688746	1,3437096

<b>#008</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	149	147	147	140	150
	140	149	142	151	148
	142	147	156	151	153
<b>rechts</b>					
<b>Mittelwert</b>	143,66667	147,66667	148,33333	147,33333	150,33333
<b>Stabwa</b>	3,8586123	0,942809	5,7927157	5,1854497	2,0548047

<b>#008</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	147	146	146	140	153
	142	149	142	150	153
	142	145	154	150	149
<b>links</b>					
<b>Mittelwert</b>	143,66667	146,66667	147,33333	146,66667	151,66667
<b>Stabwa</b>	2,3570226	1,6996732	4,9888765	4,7140452	1,8856181

<b>#008</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
<b>rechts</b>	143,66667	147,66667	148,33333	147,33333	150,33333
<b>links</b>	143,66667	146,66667	147,33333	146,66667	151,66667
<b>Mittelwert</b>	143,66667	147,16667	147,83333	147	151
<b>Stabwa</b>	3,197221	1,4624941	5,4288325	4,9665548	2,081666

<b>#009</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	136	133	142	141	146
	124	131	138	145	155
	122	139	138	148	153
<b>rechts</b>					
<b>Mittelwert</b>	127,33333	134,33333	139,33333	144,66667	151,33333
<b>Stabwa</b>	6,1824123	3,3993463	1,8856181	2,8674418	3,8586123

<b>#009</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	129	133	141	144	153
	126	131	141	149	153
	131	131	136	150	155
<b>links</b>					
<b>Mittelwert</b>	128,66667	131,66667	139,33333	147,66667	153,66667
<b>Stabwa</b>	2,0548047	0,942809	2,3570226	2,6246693	0,942809

<b>#009</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
<b>rechts</b>	127,33333	134,33333	139,33333	144,66667	151,33333
<b>links</b>	128,66667	131,66667	139,33333	147,66667	153,66667
<b>Mittelwert</b>	128	133	139,33333	146,16667	152,5
<b>Stabwa</b>	4,6547467	2,8284271	2,1343747	3,1313824	3,0413813

<b>#012</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	138	133	156	155	159
	141	145	152	155	165
	140	149	158	160	160
<b>rechts</b>					
<b>Mittelwert</b>	139,66667	142,33333	155,33333	157	161,33333
<b>Stabwa</b>	1,2472191	6,7986927	2,4944383	2,1602469	2,6246693

<b>#012</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
	137	134	155	155	154
	142	142	150	157	158
	139	147	155	156	168
<b>links</b>					
<b>Mittelwert</b>	139,33333	141	153,66667	156,33333	160
<b>Stabwa</b>	2,0548047	5,3541261	2,6246693	0,4714045	5,8878406

<b>#012</b>	<b>10µl</b>	<b>20µl</b>	<b>50µl</b>	<b>70µl</b>	<b>100µl</b>
<b>rechts</b>	139,66667	142,33333	155,33333	157	161,33

### 2.4. TSB – Medium

#000	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	102	105	109	103	119
rechts	97	116	114	100	109
links	95	99	116	105	115
Mittelwert	98	106,66667	113	102,66667	114,33333
Stabwa	2,9439203	7,0395707	2,9439203	2,0548047	4,1096093

#000	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	94	95	107	100	114
rechts	92	98	100	106	108
links	93	114	110	103	118
Mittelwert	93	102,33333	105,66667	103	113,33333
Stabwa	0,8164966	8,3399973	4,189935	2,4494897	4,1096093

#### Mittelwerte rechts links

#000	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	98	106,66667	113	102,66667	114,33333
links	93	102,33333	105,66667	103	113,33333
Mittelwert	95,5	104,5	109,33333	102,83333	114,33333
Stabwa	3,3040379	8,0156098	5,1532083	2,2669118	4,1399141

#001	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	128	126	141	135	143
rechts	125	138	110	134	141
links	128	133	145	139	139
Mittelwert	127	132,33333	132	136	141
Stabwa	1,4142136	4,3216077	15,641824	2,1602469	1,6329932

#001	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	132	124	133	132	133
rechts	123	134	140	142	145
links	124	131	144	136	138
Mittelwert	126,33333	129,66667	139	136,66667	139
Stabwa	4,027682	4,189935	4,5460606	4,1096093	5,3541261

#001	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	127	132,33333	132	136	141
links	126,33333	129,66667	139	136,66667	139
Mittelwert	126,66667	131	135,5	136,33333	140
Stabwa	3,0368112	4,7609523	12,038134	3,2998316	4,0824829

#002	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	120	128	132	140	144
rechts	120	133	132	134	140
links	131	133	138	139	140
Mittelwert	123,66667	131,33333	134	137,66667	141,33333
Stabwa	5,1854497	2,3570226	2,8284271	2,6246693	1,8856181

#002	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	131	122	127	140	143
rechts	133	127	139	137	139
links	118	134	136	133	137
Mittelwert	127,33333	127,66667	134	136,66667	139,66667
Stabwa	6,6499791	4,9216077	5,0990195	2,8674418	2,4944383

#002	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	123,66667	131,33333	134	137,66667	141,33333
links	127,33333	127,66667	134	136,66667	139,66667
Mittelwert	125,5	129,5	134	137,16667	140,5
Stabwa	6,2383224	4,2720019	4,1231056	2,7938424	2,3629078

#004	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	135	145	147	148	149
rechts	139	143	146	140	141
links	141	143	145	144	146
Mittelwert	138,33333	143,66667	146	144	145,33333
Stabwa	2,4944383	0,942809	0,8164966	3,2659863	3,2998316

#004	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	130	141	141	142	145
rechts	136	142	144	144	141
links	139	140	143	146	147
Mittelwert	135	141	142,66667	144	144,33333
Stabwa	3,7416574	0,8164966	1,2472191	1,6329932	2,4944383

#004	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	138,33333	143,66667	146	144	145,33333
links	135	141	142,66667	144	144,33333
Mittelwert	136,66667	142,33333	144,33333	144	144,83333
Stabwa	3,5901099	1,5986105	1,9720266	2,5819889	2,9674156

#006	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	140	148	149	152	153
rechts	144	146	152	150	154
links	143	144	149	152	156
Mittelwert	142,33333	146	150	151,33333	154,33333
Stabwa	1,6996732	1,6329932	1,4142136	0,942809	1,2472191

#006	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	137	145	148	149	150
rechts	140	148	150	150	150
links	142	140	148	148	154
Mittelwert	139,66667	144,33333	148,66667	149	151,33333
Stabwa	2,0548047	3,2998316	0,942809	0,8164966	1,8856181

#006	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	142,33333	146	150	151,33333	154,33333
links	139,66667	144,33333	148,66667	149	151,33333
Mittelwert	141	145,16667	149,33333	150,16667	152,83333
Stabwa	2,3094011	2,7335366	1,3743685	1,4624941	2,1821577

#007	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	137	150	130	148	148
rechts	130	133	147	146	155
links	141	135	145	142	147
Mittelwert	136	139,33333	140,66667	146	150
Stabwa	4,5460606	7,5865378	7,5865378	2,8284271	3,5930261

#007	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	143	142	141	147	145
rechts	144	142	149	146	154
links	139	133	145	142	148
Mittelwert	142	139	145	145	149
Stabwa	2,1602469	4,2426407	3,2659863	2,1602469	3,7416574

#007	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	136	139,33333	140,66667	146	150
links	142	139	145	145	149
Mittelwert	139	139,16667	142,83333	145,5	149,5
Stabwa	4,6547467	6,1486222	6,2294105	2,5858007	3,6855574

#008	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	136	131	139	137	141
rechts	123	138	133	136	142
links	142	136	142	146	140
Mittelwert	133,66667	135	138	139,66667	141
Stabwa	7,9302515	2,9439203	3,7416574	4,4969125	0,8164966

#008	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	124	135	136	143	136
rechts	126	133	135	135	140
links	141	138	137	140	141
Mittelwert	130,33333	135,33333	136	139,33333	139
Stabwa	7,5865378	2,0548047	0,8164966	3,2998316	2,1602469

#008	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	133,66667	135	138	139,66667	141
links	130,33333	135,33333	136	139,33333	139
Mittelwert	132	135,16667	137	139,5	140
Stabwa	7,9327539	2,5440563	2,8867513	3,9475731	1,9148542

#009	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	126	136	137	142	139
rechts	129	132	138	144	146
links	130	129	132	146	140
Mittelwert	128,33333	132,33333	135,66667	144	141,66667
Stabwa	1,6996732	2,8674418	2,6246693	1,6329932	3,0912062

#009	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	131	135	132	132	135
rechts	122	129	132	137	143
links	124	131	137	132	144
Mittelwert	125,66667	131,66667	133,66667	133,66667	140,66667
Stabwa	3,8586123	2,4944383	2,3570226	2,3570226	4,027682

#009	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	128,33333	132,33333	135,66667	144	141,66667
links	125,66667	131,66667	133,66667	133,66667	140,66667
Mittelwert	127	132	134,66667	138,83333	141,16667
Stabwa	3,2659863	2,7080128	2,6874192	5,502753	3,6247605

#012	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	129	145	142	148	149
rechts	136	139	143	144	140
links	141	140	140	135	148
Mittelwert	135,33333	141,33333	141,66667	142,33333	145,66667
Stabwa	4,3216077	2,6246693	1,2472191	5,4365021	4,027682

#012	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	139	139	143	142	142
rechts	136	133	134	142	142
links	139	135	137	141	150
Mittelwert	138	135,66667	138	141,66667	144,66667
Stabwa	1,4142136	2,4944383	3,7416574	0,4714045	3,7712362

#012	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	135,33333	141,33333	141,66667	142,33333	145,66667
links	138	135,66667	138	141,66667	144,66667
Mittelwert	136,66667	138,5	139,83333	142	145,16667
Stabwa	3,8586123	3,8188131	3,3374974	3,8729833	3,9334746

#069	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	137	142	141	145	150
rechts	133	148	149	147	152
links	137	138	146	145	152
Mittelwert	135,66667	142,66667	145,33333	145,66667	151,33333
Stabwa	1,8856181	4,1096093	3,2998316	0,942809	0,942809

#069	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	143	149	150	153	148
rechts	142	148	147	140	150
links	145	150	148	151	149
Mittelwert	143,33333	149	148,33333	148	149
Stabwa	1,2472191	0,8164966	1,2472191	5,7154761	0,8164966

#069	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	135,66667	142,66667	145,33333	145,66667	151,33333
links	143,33333	149	148,33333	148	149
Mittelwert	139,5	145,83333	146,83333	146,83333	150,16667
Stabwa	4,1533119	4,3365373	2,9107082	4,2589774	1,4624941

#086	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
	143	145	141	145	159

## 2.5. E. faecalis

#000	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	102	92	113	97	109
	92	100	104	100	107
	93	101	96	115	85
Mittelwert	95,666667	97,666667	104,333333	104	100,333333
Stabwa	4,4969125	4,027682	6,9442222	7,8740079	10,873004

#001	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	119	122	128	126	129
	117	121	128	126	125
	122	122	121	128	134
Mittelwert	119,333333	121,666667	125,666667	126,666667	129,333333
Stabwa	2,0548047	0,4714045	3,2998316	0,942809	3,681787

#002	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	120	126	131	144	137
	138	132	128	138	144
	130	131	134	137	139
Mittelwert	129,333333	129,666667	131	139,666667	140
Stabwa	7,363574	2,6246693	2,4494897	3,0912062	2,9439203

#004	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	126	132	143	145	146
	137	139	139	140	141
	133	137	139	144	147
Mittelwert	132	136	140,333333	143	144,666667
Stabwa	4,5460606	2,9439203	1,8856181	2,1602469	2,6246693

#006	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	129	136	143	144	151
	146	143	148	148	155
	141	148	146	147	147
Mittelwert	138,666667	142,333333	145,666667	146,333333	151
Stabwa	7,1336449	4,9216077	2,0548047	1,6396732	3,2659863

#007	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	128	131	135	137	145
	134	133	142	143	138
	133	141	143	146	143
Mittelwert	131,666667	135	140	142	142
Stabwa	2,6246693	4,3204938	3,5590261	3,7416574	2,9439203

#008	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	132	130	143	144	143
	133	134	143	146	143
	134	134	137	147	145
Mittelwert	133	132,666667	141	145,666667	143,666667
Stabwa	0,8164966	1,8856181	2,8284271	1,2472191	0,942809

#009	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	128	128	142	140	148
	131	130	146	145	136
	134	138	140	145	149
Mittelwert	131	132	142,666667	143,666667	144,333333
Stabwa	2,4494897	4,3204938	2,4944383	2,6246693	5,3066817

#012	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	132	123	135	143	140
	127	148	145	142	144
	133	136	149	145	144
Mittelwert	130,666667	135,666667	143	143,333333	142,666667
Stabwa	2,6246693	10,208929	5,8878406	1,2472191	1,8856181

#069	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	133	141	146	139	160
	135	143	150	150	147
	135	143	147	150	149
Mittelwert	134,333333	142,333333	147,666667	146,333333	152
Stabwa	0,942809	0,942809	1,6396732	5,1854437	5,7154761

#086	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	136	130	142	143	159
	139	137	146	141	157
	138	148	144	149	157
Mittelwert	137,666667	138,333333	144	144,333333	157,666667
Stabwa	1,2472191	7,4087036	1,6329932	3,3993463	0,942809

#401	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
rechts	120	135	135	129	143
	126	127	135	140	142
	123	126	127	135	139
Mittelwert	123	129,333333	132,333333	134,666667	141,333333
Stabwa	2,4494897	4,027682	3,7712362	4,4969125	1,6396732

#000	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
links	98	91	110	98	116
	98	98	110	109	109
	93	103	112	114	106
Mittelwert	96,333333	97,333333	110,666667	107	110,333333
Stabwa	2,3570226	4,9216077	0,942809	6,6833126	4,189935

#001	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
links	113	127	127	124	126
	118	110	126	123	127
	115	118	121	137	130
Mittelwert	115,333333	118,333333	124,666667	128	127,666667
Stabwa	2,0548047	6,9442222	2,6246693	6,3770422	1,6396732

#002	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
links	133	135	131	143	136
	127	128	129	141	141
	129	131	133	135	142
Mittelwert	129,666667	131,333333	131	139,666667	139,666667
Stabwa	2,4944383	2,8674418	1,6329932	3,3993463	2,6246693

#004	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
links	125	140	143	140	147
	132	138	143	145	142
	129	137	142	145	144
Mittelwert	128,666667	138,333333	142,666667	143,333333	144,333333
Stabwa	2,8674418	1,2472191	0,4714045	2,3570226	2,0548047

#006	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
links	130	136	141	144	144
	144	140	144	145	150
	142	148	146	145	148
Mittelwert	138,666667	141,333333	143,666667	144,666667	147,333333
Stabwa	6,1824123	4,9888765	2,0548047	0,4714045	2,4944383

#007	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
links	124	131	138	145	141
	133	135	140	140	140
	132	140	144	141	143
Mittelwert	129,666667	135,333333	140,666667	142	141,333333
Stabwa	4,027682	3,681787	2,4944383	2,1602469	1,2472191

#008	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
links	129	138	140	147	147
	131	138	141	142	148
	134	137	138	145	149
Mittelwert	131,333333	137,666667	139,666667	144,666667	148
Stabwa	2,0548047	0,4714045	1,2472191	2,0548047	0,8164966

#009	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
links	134	126	139	139	146
	129	134	140	147	132
	131	135	141	144	145
Mittelwert	131,333333	131,666667	140	143,333333	141
Stabwa	2,0548047	4,027682	0,8164966	3,2998316	6,3770422

#012	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
links	134	125	140	142	143
	124	146	146	145	147
	129	129	145	146	145
Mittelwert	129	133,333333	143,666667	144,333333	145
Stabwa	4,0824829	9,1043335	2,6246693	1,6396732	1,6329932

#069	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
links	132	140	148	140	155
	132	144	146	145	148
	135	142	142	150	152
Mittelwert	133	142	145,333333	145	151,666667
Stabwa	1,4142136	1,6329932	2,4944383	4,0824829	2,8674418

#086	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
links	131	137	147	142	157
	135	138	150	140	160
	132	144	147	150	155
Mittelwert	132,666667	139,666667	148	144	157,333333
Stabwa	1,6396732	3,0912062	1,4142136	4,3204938	2,0548047

#401	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
links	121	136	142	130	142
	122	134	135	137	149
	118	120	135	140	141
Mittelwert	120,333333	130	137,333333	135,666667	142,666667
Stabwa	1,6396732	7,1180522	3,2998316	4,189935	3,5590261

Mittelwert aus rechts und links:

	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
#000	95,666667	97,666667	104,333333	104	100,333333
	96,333333	97,333333	110,666667	107	110,333333
	96	97,5	107,5	106,5	105,333333
Mittelwert	96	97,5	107,5	106,5	105,333333
Stabwa	3,6055513	4,5	5,8807596	7,4554231	9,6378882

	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
#001	119,333333	121,666667	125,666667	126,666667	129,333333
	115,333333	118,333333	124,666667	128	127,666667
	117,333333	120	125,666667	127,333333	128,5
Mittelwert	119,333333	121,666667	125,666667	126,666667	129,333333
Stabwa	2,8674418	5,1961524	3,0230595	4,6067583	2,9860788

	10µl	20µl	50µl	70µl	100µl
#002	129,333				



### 3. Biofilmbildung

		E coli	#000	#069	#086
OD / Fläche	V1	0,021052632	0,080280791	0,129250654	
	V2	0,020341615	0,150820985	0,16194332	
	V3	0,01869831	0,110350383	0,151631786	
	V4	0,017632752	0,122041607	0,163652729	
Fehler	Mittelwert	0,019431327	0,115873442	0,151619622	
Indikatoren	Stabwa	0,001344381	0,025282	0,013708987	

		E. faecalis	#000	#069	#086
OD / Fläche	V1	0,055882353	0,141513944	0,10547619	
	V2	0,041654572	0,12932526	0,135317997	
	V3	0,039153994	0,139478889	0,165562914	
	V4	0,034646605	0,154989919	0,164609053	
Fehler	Mittelwert	0,042834381	0,141327003	0,142741539	
Indikatoren	Stabwa	0,007940819	0,009140126	0,024712439	

		E coli	#000	#009	#012
OD / Fläche	V1	0,022263868	0,11155303	0,098981324	
	V2	0,025235678	0,187916941	0,155859024	
	V3	0,028462273	0,128313678	0,171262202	
	V4	0,040934235	0,137462236	0,166016436	
Fehler	Mittelwert	0,029224014	0,141311471	0,148029746	
Indikatoren	Stabwa	0,00710739	0,02846662	0,028854433	

		E. faecalis	#000	#009	#012
OD / Fläche	V1	0,03252464	0,179900498	0,165562914	
	V2	0,030503032	0,193236715	0,160128102	
	V3	0,027490602	0,190857906	0,161550889	
	V4	0,03078127	0,181024508	0,160333494	
Fehler	Mittelwert	0,030324886	0,186254907	0,16189385	
Indikatoren	Stabwa	0,001810532	0,005866618	0,00218702	

		E coli	#000	#002	#008
OD / Fläche	V1	0,052726675	0,152288129	0,134880348	
	V2	0,07399878	0,149970006	0,166292509	
	V3	0,031309135	0,141643059	0,157232704	
	V4	0,026698705	0,174764069	0,145094201	
Fehler	Mittelwert	0,046183324	0,154666316	0,150874941	
Indikatoren	Stabwa	0,018824233	0,012260057	0,011909728	

		E. faecalis	#000	#002	#008
OD / Fläche	V1	0,045409868	0,147091868	0,151656107	
	V2	0,131646031	0,120774617	0,160991709	
	V3	0,023170204	0,169491525	0,061340942	
	V4	0,076368159	0,15795293	0,149898717	
Fehler	Mittelwert	0,069148565	0,148827735	0,130971869	
Indikatoren	Stabwa	0,040729569	0,018029504	0,0404219	

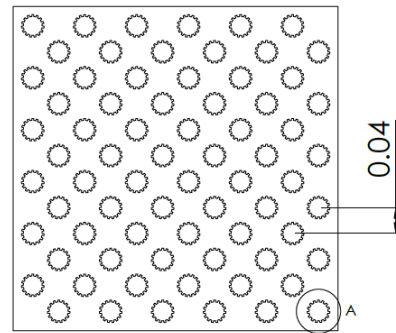
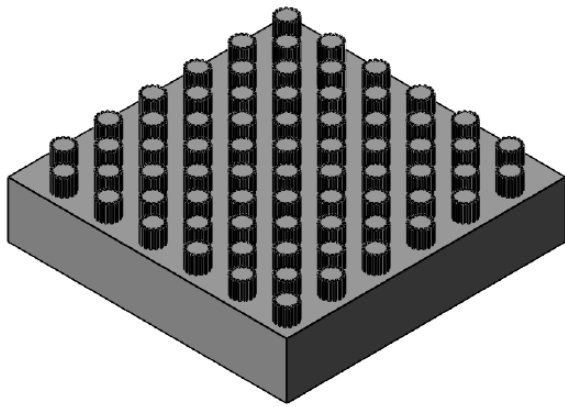
		E. coli	#000	#006	#007
OD / Fläche	V1	0,054107143	0,08976	0,155219247	
	V2	0,02987013	0,067376158	0,080913697	
	V3	0,034937376	0,08826875	0,072702332	
	V4	0,016647082	0,090377014	0,086201427	
Fehler	Mittelwert	0,033890433	0,08394548	0,098759176	
Indikatoren	Stabwa	0,013447188	0,009596957	0,032950178	

		E. faecalis	#000	#006	#007
OD / Fläche	V1	0,037675607	0,150037509	0,155219247	
	V2	0,032307398	0,152905199	0,144367852	
	V3	0,039918117	0,135594586	0,161720822	
	V4	0,036073979	0,136627214	0,164027242	
Fehler	Mittelwert	0,036493775	0,143791127	0,156333791	
Indikatoren	Stabwa	0,002776005	0,007755458	0,007626192	

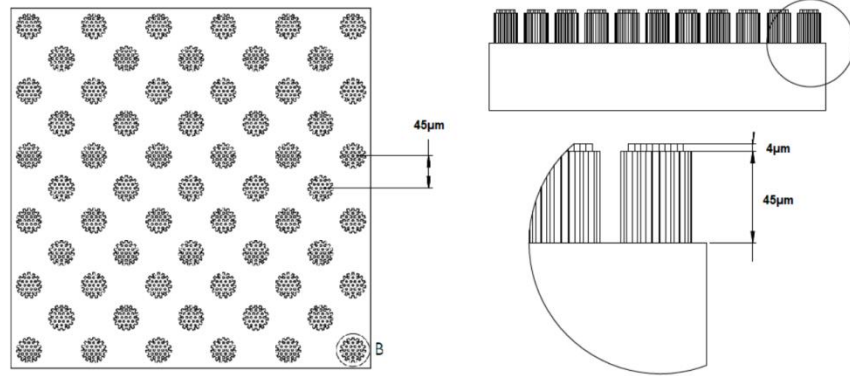
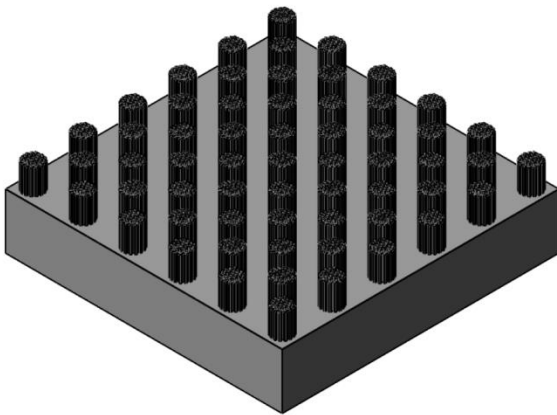
E. coli	Biofilm Mittelwerte			CA 50µl
Sample	Kontrolle	Quadratisch	Rund	Seitenwände strukturiert
#000	0,2			115,3333333
#004		0,192001858		145,8333333
#401		0,376137518		143,5
#002			0,669792916	151
#006			0,495393382	141,5
#007			0,582814488	143,5
#008			0,653374109	147,8333333
#009			0,967091472	139,3333333
#069				1,192645673 154
#086				1,560568875 151

E. faecalis	Biofilmbildung Mittelwerte			CA 50µl
Sample	Kontrolle	Quadratisch	Rund	Seitenwände strukturiert
#000	0,2			107,5
#004		0,188256533		141,5
#401		0,425521385		134,8333333
#002			0,430457911	131
#006			0,78803098	144,6666667
#007			0,856769628	140,3333333
#008			0,378812974	140,3333333
#009			1,228396416	141,3333333
#069				0,659876483 146,5
#086				0,666481158 146

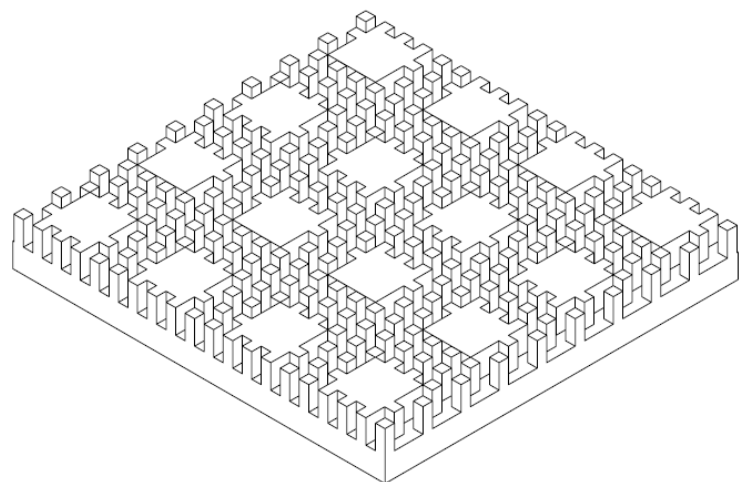
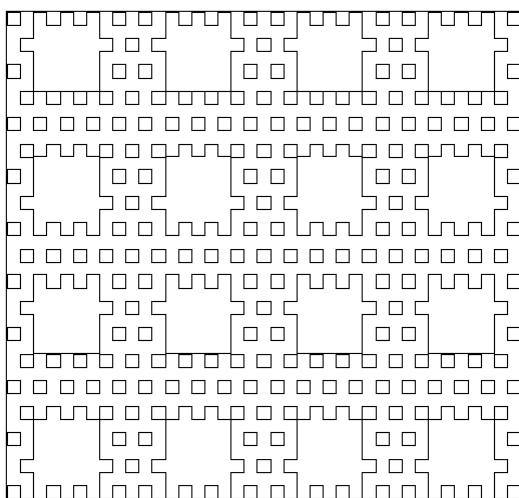
## 4. Übersicht Samples



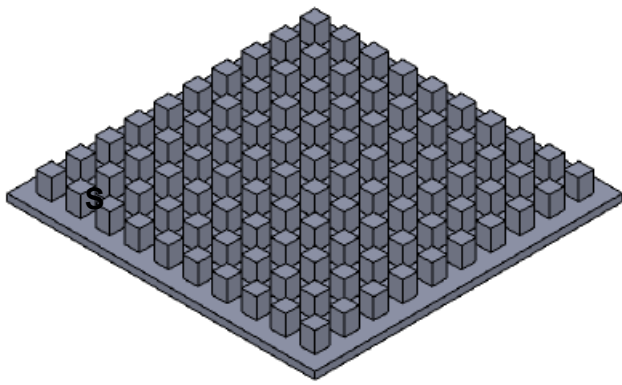
Sample #069



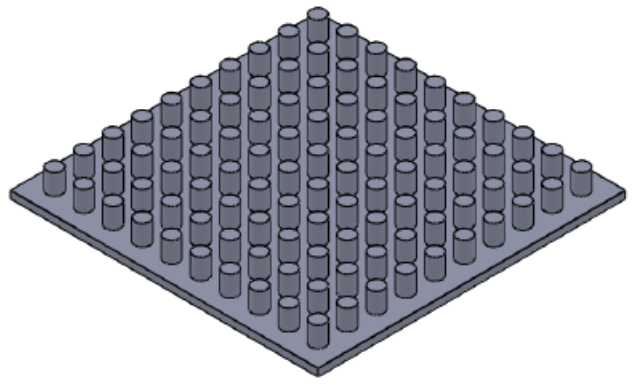
Sample #086



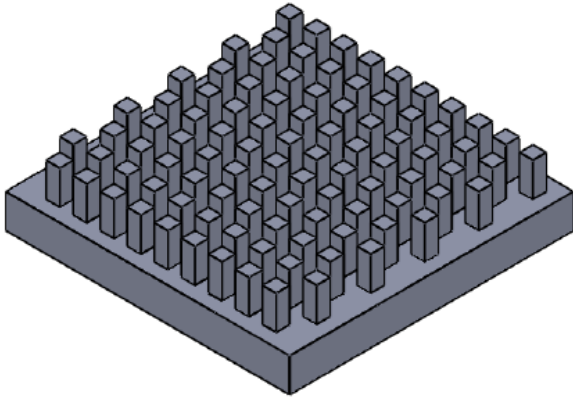
Sample #401



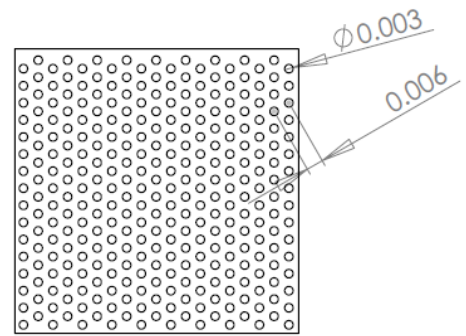
Sample #001



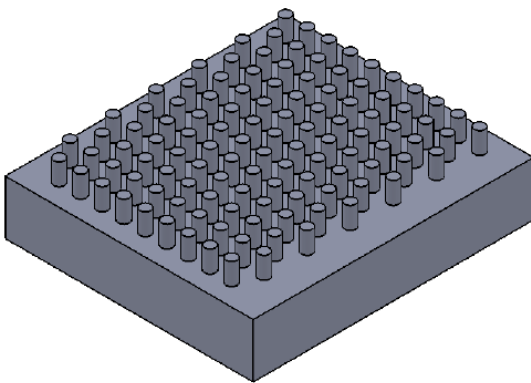
Sample #002



Sample #004

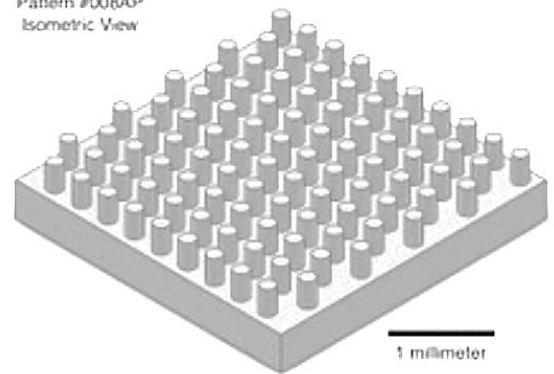


Sample #006



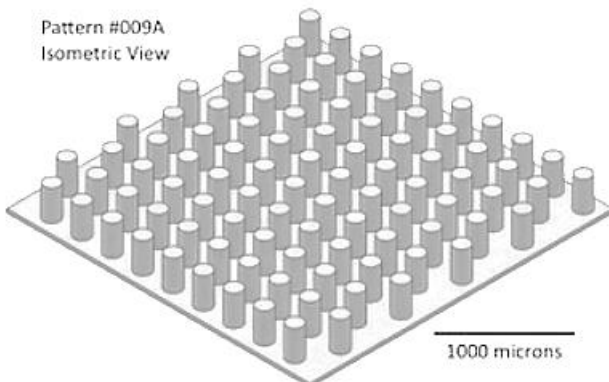
Sample #007

Pattern #008AP  
Isometric View



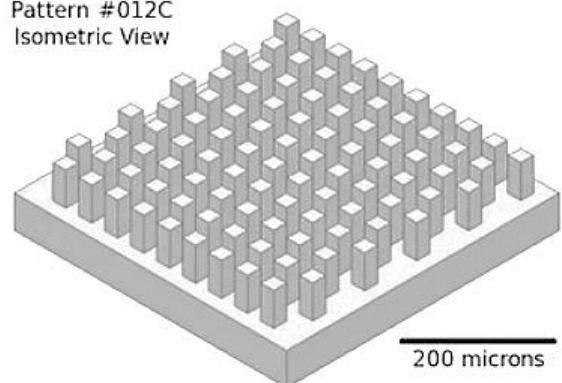
Sample #008

Pattern #009A  
Isometric View



Sample #009

Pattern #012C  
Isometric View



Sample #012