

7. Anhang

7.1 Materialliste

7.1.1 Probekörper

Ceramic Hydroxyapatite Discs (Ø 13 mm, Dicke 1,5 mm)

Lot 240400-01

Clarkson Chromatography Products Inc., 213 Main Street, South
Williamsport, PA 17701, Tel.: 717323-3631, USA

7.1.2 Wachstumsmedium

- Brain Heart Infusion (BHI)

Becton Dickinson and Company, Cockeysville, MD 21030 USA

- Saccharose reinst 1.07653.1000: C₁₂H₂₂O₁₁, M = 342,30 g/mol

Charge/Lot: K27710453 022

Merck KgaA, 64271 Darmstadt, Germany,

Tel.: +49(0)6151 72-2440

- Mucin (nur im Vorversuch) Type II from Porcine Stomach

[84082-64-4]

EC No 282-010-7

Bound sialic, Acids 1%, Desiccate

Sigma Chemical Co., P.O. Box 14508 St Louis, MO 63178 USA

Sigma-Aldrich Chemie GmbH, P.O. 1120, 89552 Steinheim,

Germany

7.1.3 Neutralisationsmittel

- Chlorhexidindigluconat:

NaCl (8,5 g) + Trypt. (1,0 g)

+ 3% Tween 80
0,3% Cystein
0,1% Histidin
3% Saponin

- Polyvidon-Iod:

CSL

+ 3% Tween 80
0,3% Lecithin
0,1% Histidin
0,5% Na-Thiosulfat

- Octenidin:

CSL

+ 3% Tween 80
0,3% Lecithin
0,1% Cystein

7.1.4 Puffer

- Lösung A: di-Natriumhydrogenphosphat-2-hydrat

$(\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O})$ 14,89 g/l

oder

di-Natriumhydrogenphosphat

$(\text{Na}_2\text{HPO}_4)$ 11,88 g/l

- Lösung B: Kaliumdihydrogenphosphat

(K_2HPO_4) 9,07 g/l

für 500 ml Puffer pH 7,2

363 ml Lösung A

137 ml Lösung B

Die Stammlösungen werden in sterilen Gefäßen mit sterilem Aq. dest. angesetzt und im Kühlschrank aufbewahrt. Die eigtl. Pufferlösung wird autoklaviert und ebenfalls im Kühlschrank gelagert.

7.1.5 Fertigplatten für die Kultivierung von Mikroorganismen

Columbia Agar mit 5% Schafblut

BBL Stacker[®] plates

Becton Dickinson Microbiology Europe

38240 Meylan Cedex, France

7.1.6 Elektrische Geräte

- Brutschrank: MLW WS 51

- Peristaltikpumpen:

Sondomat[®] bzw. Sondomat plus[®]

Fresenius AG, D-61343 Bad Homburg, Tel.: 06171 60-0

- Magnetrührer: neo Lab 502

- Vortexmixer: Janke und Kunkel, IKA Labortechnik VF2

- Spiral Plater Model CU

Spiral Systems, Inc., 6740 Clough Pike, Cincinnati, Ohio 45244

USA

- Koloniezählgerät:

Bioblock Scientific 50300

Novodirect GmbH, Am Storchennest 24, 77694 Kehl

7.2 Messwerte Vorversuche

Tabelle 4: Messergebnisse zur Validierung der Ultraschallwirkung auf eine *S. sanguis*-Suspension

		Zeit							
		0 s	10 s	20 s	30 s	1 min	5 min	10 min	
Verdünnung	10 ⁻⁵	Platte 1	2,0x10 ⁸	3,1x10 ⁸	3,3x10 ⁸	2,6x10 ⁸	3,4x10 ⁸	1,9x10 ⁸	2,2x10 ⁸
		Platte 2	1,9x10 ⁷	3,2x10 ⁸	2,9x10 ⁸	3,1x 10 ⁸	3,9x10 ⁸	2,4x10 ⁸	3,0x10 ⁸
	10 ⁻⁶	Platte 1	5,9x10 ⁸	5,4x10 ⁷	2,1x10 ⁸	5,4x10 ⁷	2,9x10 ⁸	2,1x10 ⁸	2,7x10 ⁸
		Platte 2	2,7x10 ⁸	4,0x10 ⁸	1,1x10 ⁸	1,6x10 ⁸	3,2x10 ⁸	2,9x10 ⁸	2,9x10 ⁸
		1	2	3	4	5	6	7	
Reagenzröhrchen									

Tabelle 5: Messergebnisse zur Vergleichbarkeit der Keimzahlen in den Biofilmen und Auswirkung von Ringerlösung auf die Keimzahlen

		Verdünnung			
		10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	
Plättchen	ohne 3 min Vorbehandlung (Ringer)	1	1,2x10 ⁷	1,1x10 ⁸	0
		2	1,8x10 ⁷	5,4x10 ⁷	0
		3	1,0x10 ⁷	2,7x10 ⁷	0
		4	1,5x10 ⁷	2,7x10 ⁷	0
		5	1,6x10 ⁷	0	0
		6	1,2x10 ⁷	2,7x10 ⁷	0
		7	1,3x10 ⁷	0	2,7x10 ⁸
		8	9,7x10 ⁶	0	0
	mit 3 min Vorbehandlung (Ringer)	9	4,1x10 ⁷	2,7x10 ⁷	0
		10	1,6x10 ⁷	0	2,7x10 ⁸
		11	3,6x10 ⁷	2,7x10 ⁷	5,4x10 ⁸
		12	1,3x10 ⁷	0	0
		13	1,5x10 ⁷	2,7x10 ⁷	0
		14	1,0x10 ⁷	0	0
		15	1,3x10 ⁷	0	0
		16	1,8x10 ⁷	0	0

Tabelle 6: Biofilmwachstum mit mucinhaltigem Nährmedium

			Verdünnung					
			10^0	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
Plättchen	30 s 0,1% CHX	1					$5,4 \times 10^5$	$2,7 \times 10^6$
		2					0	0
		3					0	0
		4					$1,1 \times 10^6$	0
	3 min 0,1% CHX	5					$2,7 \times 10^5$	0
		6					$5,4 \times 10^5$	0
		7					0	0
		8					0	0
	nur Neutralisator	9					0	0
		10					$2,7 \times 10^5$	0
		11					$1,3 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$
		12					0	0
	nur Ringer	13					$8,0 \times 10^5$	0
		14					$5,4 \times 10^5$	0
		15					$1,1 \times 10^6$	0
		16					$1,1 \times 10^6$	0
plankton. Proben	30 s 0,1% CHX	1	$5,0 \times 10^4$	$6,5 \times 10^4$	$6,5 \times 10^4$			
		2	$2,4 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	$6,5 \times 10^4$			
	3 min 0,1% CHX	3	$1,9 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	0			
		4	$1,3 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	$6,5 \times 10^4$			
	N	5	n.a.	n.a.	$1,3 \times 10^5$	0		
	R	6	n.a.	n.a.	$2,2 \times 10^4$	0		

n.a. = nicht auswertbar (Fremdkeim)

Tabelle 7: Biofilmwachstum ohne mucinhaltiges Nährmedium (Parameter vergl. Tabl. 6)

			Verdünnung				
			10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
Plättchen	30 s 0,1% CHX	1		zu viele Kolonien	zu viele Kolonien	$3,0 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$
		2		zu viele Kolonien	zu viele Kolonien	$3,3 \times 10^7$	$2,7 \times 10^7$
		3		zu viele Kolonien	zu viele Kolonien	$3,0 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$
		4		zu viele Kolonien	zu viele Kolonien	$2,7 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$
	3 min 0,1% CHX	5		zu viele Kolonien	zu viele Kolonien	$1,6 \times 10^7$	0
		6		zu viele Kolonien	zu viele Kolonien	$1,1 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$
		7		zu viele Kolonien	zu viele Kolonien	$1,2 \times 10^7$	$2,7 \times 10^6$
		8		zu viele Kolonien	zu viele Kolonien	$1,4 \times 10^7$	$8,0 \times 10^6$
	nur Neutralisator	9			$2,7 \times 10^7$	$3,3 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$
		10			zu viele Kolonien	$3,2 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$
		11			zu viele Kolonien	$1,9 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$
		12			$8,9 \times 10^6$	$3,2 \times 10^7$	$2,7 \times 10^7$
	nur Ringer	13			$1,3 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	$2,4 \times 10^7$
		14			$2,1 \times 10^6$	$2,9 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$
		15			zu viele Kolonien	$2,0 \times 10^7$	$2,7 \times 10^6$
		16			zu viele Kolonien	$1,8 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$
plankton. Proben	30 s 0,1% CHX	1	$1,0 \times 10^6$	0		0	
		2	$8,4 \times 10^4$	0		0	
	3 min 0,1% CHX	3	$5,8 \times 10^4$	0		0	
		4	$2,6 \times 10^4$	0		0	
	N	5		$1,2 \times 10^6$		0	
	R	6		$6,0 \times 10^5$		$1,1 \times 10^6$	

7.3 Messwerte Versuche

Tabelle 8: Wirksamkeit von Chlorhexidin auf Biofilme und planktonische Zellen

			Verdünnung					
			10^0	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
Plättchen	5 min 0,1% CHX	1				n.a.		$3,0 \times 10^7$
		2				$6,5 \times 10^5$		n.a.
		3				$3,2 \times 10^6$		$5,4 \times 10^6$
	30 min 0,1% CHX	4				$1,1 \times 10^6$		$8,0 \times 10^6$
		5				$4,0 \times 10^5$		$2,7 \times 10^6$
		6				$1,0 \times 10^6$		$2,7 \times 10^6$
	5 min 1% CHX	7				$5,4 \times 10^4$		0
		8				$2,7 \times 10^4$		0
		9				$1,1 \times 10^5$		0
	30 min 1% CHX	10			$1,1 \times 10^4$		0	
		11			$2,7 \times 10^3$		0	
		12			$5,4 \times 10^3$		0	
	nur Neutritator	13					$1,3 \times 10^6$	0
		14					$1,1 \times 10^6$	$2,7 \times 10^6$
		15					$1,6 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$
	R	16					$8,0 \times 10^5$	0
plankton. Proben	5 min 0,1% CHX	1		0	0			
		2		0	0			
	30 min 0,1% CHX	3		0	0			
		4		0	0			
	5 min 1% CHX	5		0	0			
		6		0	0			
	30 min 1% CHX	7	0		0			
		8	0		0			
	N	9			$4,4 \times 10^5$		0	0
	R	10			$7,6 \times 10^4$		0	0

n.a. = nicht auswertbar (Fremdkeim)

Tabelle 9: Wirksamkeit von Chlorhexidin auf Biofilme und planktonische Zellen

			Verdünnung					
			10^0	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
Plättchen	5 min 0,1% CHX	1				$1,4 \times 10^7$		$2,7 \times 10^7$
		2				$1,0 \times 10^7$		$1,1 \times 10^7$
		3				$8,3 \times 10^6$		$8,0 \times 10^6$
	30 min 0,1% CHX	4				$1,5 \times 10^7$		$2,1 \times 10^7$
		5				$1,5 \times 10^7$		$3,5 \times 10^7$
		6				$1,1 \times 10^7$		$1,6 \times 10^7$
	5 min 1% CHX	7				$8,0 \times 10^4$		0
		8				$1,6 \times 10^5$		0
		9				$1,3 \times 10^5$		0
	30 min 1% CHX	10			0		0	
		11			$5,4 \times 10^3$		0	
		12			$2,7 \times 10^3$		0	
	nur Neutralisator	13					$2,1 \times 10^8$	$2,7 \times 10^8$
		14					$3,0 \times 10^7$	$2,7 \times 10^7$
		15					$2,3 \times 10^7$	$6,2 \times 10^7$
	R	16					$2,6 \times 10^7$	$4,0 \times 10^7$
plankton. Proben	5 min 0,1% CHX	1		0	0			
		2		$1,1 \times 10^4$	0			
	30 min 0,1% CHX	3		0	0			
		4		$7,6 \times 10^4$	0			
	5 min 1% CHX	5		0	0			
		6		0	0			
	30 min 1% CHX	7	0		0			
		8	0		0			
	N	9			$3,2 \times 10^5$		0	0
	R	10			$6,0 \times 10^6$		$3,2 \times 10^6$	0

Tabelle 10: Wirksamkeit von PVP-Iod 1,5% und Octenidin 0,05% auf Biofilme und planktonische Zellen

		Verdünnung						
		10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	
Plättchen	5 min 1,5% PVP-Iod	1				4,3x10 ⁵		0
		2				3,5x10 ⁵		0
		3				2,7x10 ⁴		0
	30 min 1,5% PVP-Iod	4				2,7x10 ⁴		0
		5				2,7x10 ⁴		0
		6				2,4x10 ⁵		0
	5 min 0,05% Octenidin	7				8,0x10 ⁵		0
		8				1,0x10 ⁶		0
		9				1,7x10 ⁶		0
	30 min 0,05% Octenidin	10				3,2x10 ⁵		0
		11				8,4x10 ⁵		0
		12				3,8x10 ⁵		0
	N PVP	13				3,4x10 ⁶		2,7x10 ⁶
	N O	14				3,0x10 ⁶		8,0x10 ⁶
	Ringer	15				1,3x10 ⁷		1,6x10 ⁷
		16				3,5x10 ⁶		2,7x10 ⁶
plankton. Proben	5min 1,5% PVP-Iod	1	0		0			
		2	0		0			
	30 min 1,5% PVP-Iod	3	0		0			
		4	0		0			
	5 min 0,05% Octenidin	5	0		0			
		6	0		0			
	30 min 0,05% Octenidin	7	0		0			
		8	0		0			
	N PVP	9	3,1x10 ⁵		2,2x10 ⁵			
	N O	10	2,5x10 ⁵		3,2x10 ⁵			
	Ringer	11	2,5x10 ⁵		2,4x10 ⁵			
		12	2,7x10 ⁵		3,9x10 ⁵			

Tabelle 11: Wirksamkeit von PVP-Iod 1,5% und Octenidin 0,05% auf Biofilme und planktonische Zellen

		Verdünnung						
		10^0	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	
Plättchen	5 min 1,5% PVP-Iod	1			$1,7 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$		
		2			$1,0 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$		
		3			$1,8 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6$		
	30 min 1,5% PVP-Iod	4			$1,1 \times 10^6$	$8,8 \times 10^5$		
		5			$1,0 \times 10^6$	$7,5 \times 10^5$		
		6			$1,0 \times 10^6$	$8,3 \times 10^5$		
	5 min 0,05% Octenidin	7			$1,2 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$		
		8			$1,2 \times 10^6$	$8,0 \times 10^5$		
		9			$1,7 \times 10^6$	$9,1 \times 10^5$		
	30 min 0,05% Octenidin	10			$9,8 \times 10^5$	$5,4 \times 10^5$		
		11			$8,1 \times 10^5$	$7,5 \times 10^5$		
		12			$2,9 \times 10^5$	$3,2 \times 10^5$		
	N PVP	13				$5,4 \times 10^6$		$8,0 \times 10^6$
	N O	14				$4,2 \times 10^6$		$5,4 \times 10^6$
	Ringer	15				$7,9 \times 10^6$		$8,0 \times 10^6$
		16				$4,5 \times 10^6$		$2,7 \times 10^6$
plankton. Proben	5 min 1,5% PVP-Iod	1	0		0			
		2	0		0			
	30 min 1,5% PVP-Iod	3	0		0			
		4	0		0			
	5 min 0,05% Octenidin	5	0		0			
		6	0		0			
	30 min 0,05% Octenidin	7	0		0			
		8	0		0			
	N PVP	9	$2,3 \times 10^5$		$3,2 \times 10^5$			
	N O	10	$1,8 \times 10^5$		$1,1 \times 10^5$			
	Ringer	11	$1,5 \times 10^5$		$1,3 \times 10^5$			
		12	$1,5 \times 10^5$		$1,5 \times 10^5$			

Tabelle 12: Wirksamkeit von PVP-Iod 7,5% und Octenidin 0,1% auf Biofilme und planktonische Zellen

			Verdünnung					
			10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
Plättchen	5 min 7,5% PVP-Iod	1		8,8x10 ⁴	1,4x10 ⁵			
		2		4,0x10 ⁴	4,3x10 ⁴			
		3		1,5x10 ⁵	3,2x10 ⁴			
	30 min 7,5% PVP-Iod	4		1,8x10 ⁴	1,1x10 ⁴			
		5		7,1x10 ⁴	7,5x10 ⁴			
		6		1,7x10 ⁴	1,1x10 ⁴			
	5 min 0,1% Octenidin	7		1,5x10 ⁵	3,0x10 ⁴			
		8		3,1x10 ⁵	3,8x10 ⁴			
		9		1,4x10 ⁵	2,3x10 ⁵			
	30 min 0,1% Octenidin	10		1,2x10 ⁵	1,2x10 ⁵			
		11		2,2x10 ⁵	2,2x10 ⁵			
		12		1,5x10 ⁵	1,5x10 ⁵			
	N PVP	13				4,0x10 ⁶	2,4x10 ⁶	
	N O	14				5,9x10 ⁵	2,1x10 ⁶	
	Ringer	15				8,0x10 ⁵	1,1x10 ⁶	
		16				7,0x10 ⁵	1,6x10 ⁶	
plankton. Proben	5 min 7,5% PVP-Iod	1						
		2						
	30 min 7,5% PVP-Iod	3						
		4						
	5 min 0,1% Octenidin	5						
		6						
	30 min 0,1% Octenidin	7						
		8						
	N PVP	9						
	N O	10						
	Ringer	11	1,3x10 ⁵		1,4x10 ⁵			
		12	1,3x10 ⁵		1,3x10 ⁵			

Tabelle 13: Wirksamkeit von PVP-Iod 7,5% und Octenidin 0,1% auf Biofilme und planktonische Zellen

			Verdünnung					
			10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
Plättchen	5 min 7,5% PVP-Iod	1		6,0x10 ⁴	8,8x10 ⁴			
		2		5,1x10 ⁵	9,2x10 ⁵			
		3		5,4x10 ⁵	7,6x10 ⁵			
	30 min 7,5% PVP-Iod	4		3,7x10 ⁴	3,8x10 ⁴			
		5		2,5x10 ⁴	5,1x10 ⁴			
		6		4,9x10 ⁴	4,6x10 ⁴			
	5 min 0,1% Octenidin	7		zu viele Kolonien	4,3x10 ⁶			
		8		zu viele Kolonien	3,2x10 ⁶			
		9		zu viele Kolonien	3,5x10 ⁶			
	30 min 0,1% Octenidin	10		2,5x10 ⁵	2,2x10 ⁵			
		11		zu viele Kolonien	9,4x10 ⁵			
		12		zu viele Kolonien	2,2x10 ⁶			
	N PVP	13				3,4x10 ⁷	4,8x10 ⁷	
	N O	14				3,7x10 ⁷	5,7x10 ⁷	
	Ringer	15				1,4x10 ⁷	4,8x10 ⁶	
		16				1,9x10 ⁷	4,0x10 ⁷	
plankton. Proben	5 min 7,5% PVP-Iod	1						
		2						
	30 min 7,5% PVP-Iod	3						
		4						
	5 min 0,1% Octenidin	5						
		6						
	30 min 0,1% Octenidin	7						
		8						
	N PVP	9						
	N O	10						
	Ringer	11		4,9x10 ⁵	7,6x10 ⁵			
		12		4,9x10 ⁵	9,6x10 ⁵			