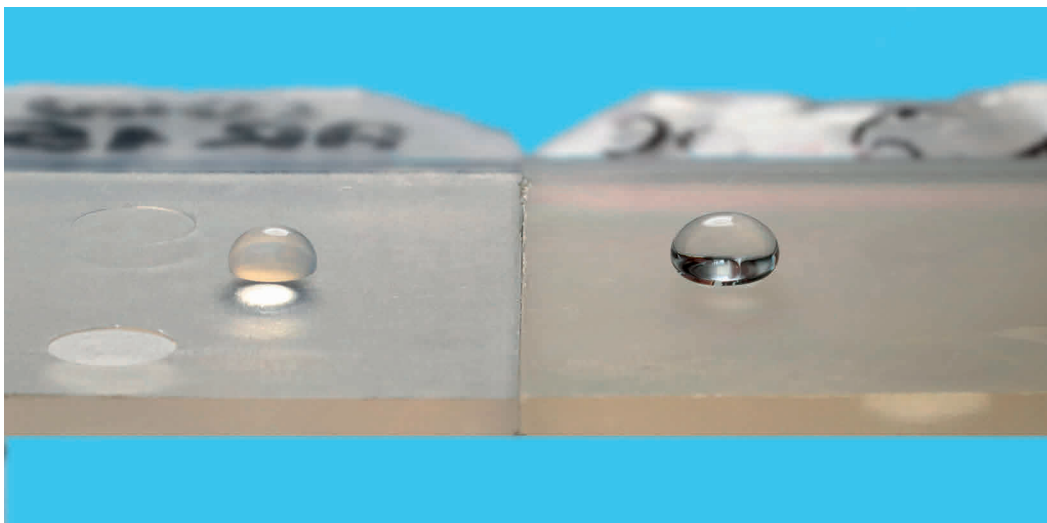


# Biofilmbildung prüfen und vermeiden

## Strukturierte Kunststoffoberflächen vermindern Anhaftung von Bakterien

Biofilme sind enorm widerstandsfähige Konglomerate von Keimen auf Materialoberflächen, die besonders in medizintechnischen Anwendungen häufig zum Problem werden. Die Reduzierung der primären Anhaftung der Keime sowie die Messung und Bewertung der Biofilmbildung auf Kunststoffoberflächen ist daher ein wesentliches Problem, das es zu lösen gilt.



Wassertropfen auf Silikonmaterialien. Links: ohne Struktur (hydrophob), rechts: mit periodischer Oberflächenstruktur (superabweisend) © TITK

Aktuell werden beispielsweise bei Dauerkathetern Arzneimittelwirkstoffe, wie Antibiotika oder Silber, in die Kathetermatrix oder eine Außenschicht eingearbeitet, um während der mehrwöchigen Applikation die Ausbildung eines Biofilms zu inhibieren und damit eine Infektion zu vermeiden [1, 2]. Auch werden Katheter mit gerinnungshemmenden Mitteln, wie Heparinen, beschichtet, um Katheterthrombosen zu verhindern. Dennoch kommt es bei derartigen Anwendungen immer wieder zu mit Biofilmen assoziierten Infektionen und oft auch zu Thrombosen. Eine Lösung zur Überwindung dieser Probleme – ganz ohne den Einsatz von Arzneiwirkstoffen – könnte eine spezifische Strukturierung der Materialoberflächen sein [3].

Vor diesem Hintergrund erprobte das Thüringische Institut für Textil- und Kunststoff-Forschung (TITK), Rudolstadt, im Rahmen eines vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWi) geförderten FuE-Projekts eine Technologie, die

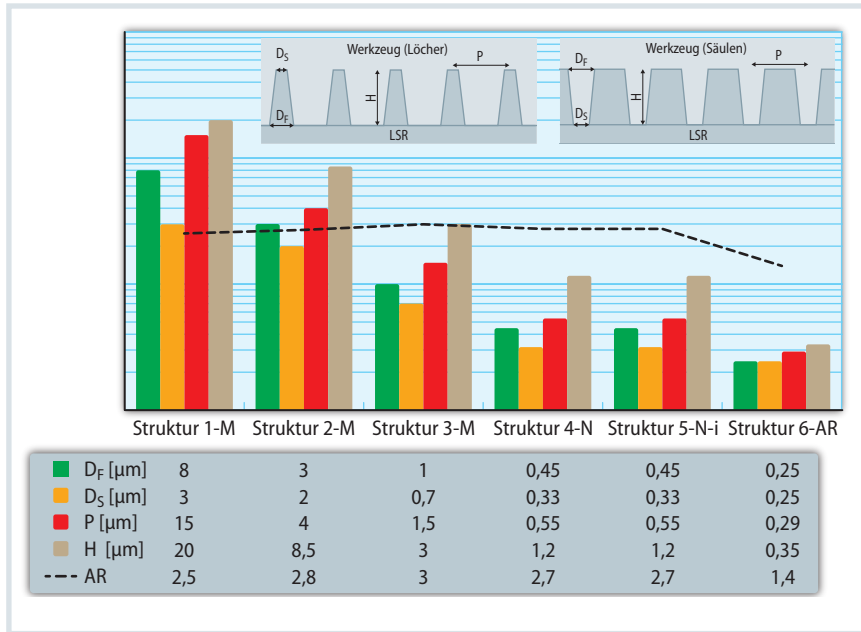
es ermöglicht, verschiedene periodische Oberflächenstrukturen beim Spritzgießen von 2K-Flüssigsilikon zu erzeugen. Diese Polymerklasse spielt bei medizintechnischen Applikationen und Implantaten häufig eine wichtige Rolle.

### Oberflächendesign – Abbildung periodischer Säulenstrukturen

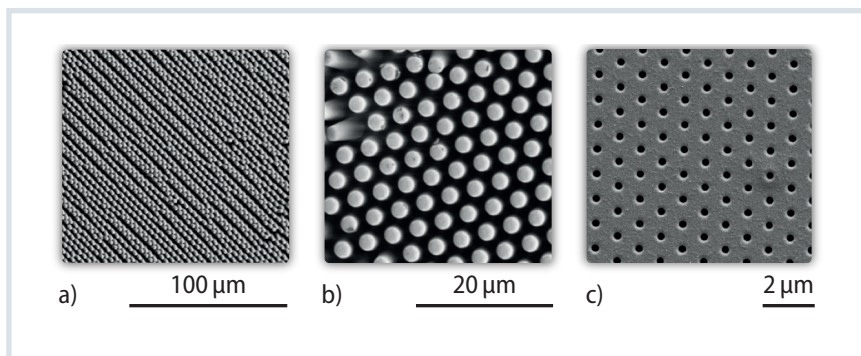
Für die Untersuchungen kamen strukturierte Metallbleche (Shims) bzw. Spritzgüsseinleger aus Nickel zum Einsatz. Diese Masterwerkzeuge mit der Negativstruktur der später auf der Polymeroberfläche abzubildenden Struktur wurden von der temicon GmbH, Dortmund, hergestellt. Erzeugt wurden die mikro- bis nanostrukturierten Master durch Plasmaätzen und/oder lithographische Verfahren, die das Unternehmen seit Jahren weiterentwickelt hat. Im Rahmen der Untersuchungen wurden systematisch kleiner werdende Säulenstrukturen zur Oberflächenmodifizierung erprobt (Bild 1).

Die Abformungsversuche wurden sämtlich bei isothermer Temperaturführung (25°C Massetemperatur in der Spritzeinheit, 140 – 160°C Werkzeugtemperatur) durchgeführt, auf einer vollelektrischen Spritzgießmaschine (Typ: Eco Power 180/350; Hersteller: Wittmann Battenfeld GmbH, Meinerzhagen), die mit einer LSR-Fasspresse ausgestattet ist (für 20 kg Paillkits, Typ: SilcoStar 902E; Hersteller: 2 Komponenten Maschinenbau GmbH, Marienheide). In dem zuvor evakuierten (rund 500 mbar) Tauchkantenwerkzeug befand sich senkrecht zur Anspritzrichtung (Filmanguss) das jeweilige Strukturierungswerkzeug. Nach einer fünfminütigen Vulkanisationszeit im Werkzeug wurden die Bauteile per Hand entformt.

Die Überprüfung mit einem digitalen 3D-Lichtmikroskop sowie REM-Aufnahmen bestätigen, dass die feinen Oberflächentopographien der Strukturierungswerkzeuge bis zu einem Lochdurchmesser von 0,7 µm (entspricht dem Durchmesser der Säulenspitzen  $D_5$  auf der »



**Bild 1.** Erprobte periodische Oberflächenstrukturen und Kennwerte der dafür eingesetzten Werkzeuge. AR = Aspektverhältnis Quelle: TITK, Grafik: © Hanser



**Bild 2.** Ausgewählte exemplarische REM-Aufnahmen der auf den Polymeroberflächen erzeugten periodischen Strukturen: Säulenstruktur = Struktur 2-M (a, b), inverse Struktur = Struktur 5-N-i (c)

Quelle: TITK, Grafik: © Hanser

Silikonoberfläche) auf der Polymeroberfläche abgeformt werden (**Bild 2**). Mit einem Abstand ( $P$  für engl. Pitch) von rund  $1,5 \mu\text{m}$  zwischen den Säulen geschieht dies weitgehend mit hoher Genauigkeit und ausgeprägter Tiefenwirkung (effektiv abgebildetes Aspektverhältnis von bis zu rund 2,5).

### Wann die Abformqualität abnimmt

Weiterhin zeigte sich tendenziell, dass bei einem Aspektverhältnis von  $\geq 2,5$  sowohl mit einer weiteren Verkleinerung der Säulenstrukturen (Struktur 4-N: Lochdurchmesser  $D_s = 0,33$ ,  $P = 0,55 \mu\text{m}$ ) als auch mit abnehmender Härte des Silikonmate-

rials die Qualität der Abformung unter ansonsten konstanten Bedingungen unverkennbar abnimmt (**Tabelle 1**).

Die winzigen Hohlräume der Werkzeuge werden nicht mehr vom Material ausgefüllt bzw. die Säulen „verkleben“ nach der Entformung. Das Resultat sind unvollständige und/oder fehlerhafte Strukturen. Zum Vergleich wurde auch eine inverse Struktur erprobt (Struktur 5-N-i). Diese konnte trotz des hohen Aspektverhältnisses von 2,7 mit sehr hoher Genauigkeit abgebildet werden (**Bild 2**).

Als eine weitere nanoskalige Struktur wurde auch eine sogenannte Mottenaugenstruktur (Struktur 6-AR) getestet (**Bild 1**). Diese weist ein geringeres Aspektverhältnis als die anderen Strukturen auf und lässt sich ebenfalls mit hoher Genauigkeit auf der Materialoberfläche abbilden. Diese Art von Struktur hat sich u. a. für optische Anwendungen bewährt, um die Lichttransmission im Spektralbereich des sichtbaren Lichts zu erhöhen [4].

### Charakteristik der strukturierten Oberflächen

Makroskopisch ist die mikro- bis nanometerfeine Strukturierung der so modifizierten Silikonoberflächen nicht zu erkennen. Einzig die Farbauffächerung des reflektierten Lichts lässt auf eine Strukturierung schließen (**Bild 3**). Durch Messung des Benetzungsverhaltens (Drop Shape Analyzer Typ: DSA 100; Hersteller: Krüss GmbH, Hamburg) erfolgte eine erste quantitative Beurteilung der Funktion der erfolgreich abgebildeten Strukturen (**Tabelle 2**).

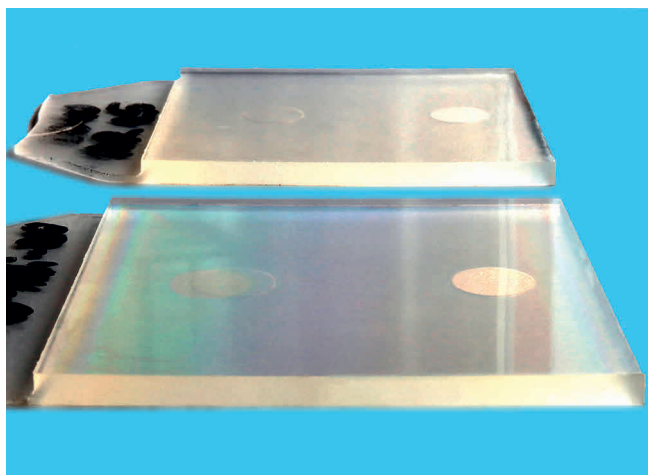
Dabei zeigte sich u. a. ein stark verändertes Benetzungsverhalten der erzeugten funktionalen Oberflächen im Vergleich zu einer glatten Oberfläche des gleichen Materials. So sinken vor allem die dispersen Wechselwirkungen ( $\sigma_{\text{dispers}}$ ) durch die Säulenstrukturen mit hohem Aspektverhältnis signifikant ab, weshalb

Material	Härte (Shore A)	Struktur 1-M	Struktur 2-M	Struktur 3-M	Struktur 4-N	Struktur 5-N-i	Struktur 6-AR
LSR 2020	20	o	o	–	–	++	+
LSR 2040	40	+	o	o	–	++	+
LSR 2060	60	++	+	+	–	++	+
LSR 4655SL	55	++	(+) <sup>1</sup>	(+) <sup>1</sup>	–	++	(+) <sup>1</sup>

<sup>1</sup> wegen des Ölfilms REM nicht möglich, per Lichtmikroskopie nicht eindeutig zu bewerten

**Tabelle 1.** Qualitative Bewertung der Auswirkung unterschiedlich harter 2K-Silikonformmassen auf die Qualität der Abformung.

Legende: ++ sehr gut; + gut, vereinzelte Fehler; o noch befriedigend, mit systematischen Fehlern; – mangelhaft Quelle: TITK



**Bild 3.** Farbauffächerungseffekt an einer der strukturierten Polymeroberflächen im Vergleich zu einer Probe ohne Oberflächenstruktur aus dem gleichen Material © TITK

sich die Benetzung insgesamt reduziert bzw. der Kontaktwinkel gegenüber Wasser stark ansteigt. Mit einem Kontaktwinkel gegenüber Wasser von bis zu 150° weisen die so strukturierten Oberflächen (Strukturen 1-M bis 3-M) ein superabweisendes Verhalten auf.

Beim Vergleich aller angefertigten Strukturen fällt jedoch auf, dass der Kontaktwinkel sowohl bei der inversen Struktur (Struktur 5-N-i) mit  $117^\circ \pm 2^\circ$  als auch bei der Mottenaugenstruktur (Struktur 6-AR) mit  $108^\circ \pm 3^\circ$  wiederum sehr ähnlich der unstrukturierten Materialoberfläche ( $112^\circ \pm 1^\circ$ ) ist. Diese Oberflächen verfügen somit über ein geringeres wasserabweisendes Verhalten, das aber rein physikalisch immer noch dem von Teflon ähnelt (**Tabelle 2**). Teflon hat von allen Polymermaterialien einen der größten Kontaktwinkel zwischen Wasser und einer glatten Oberfläche [5].

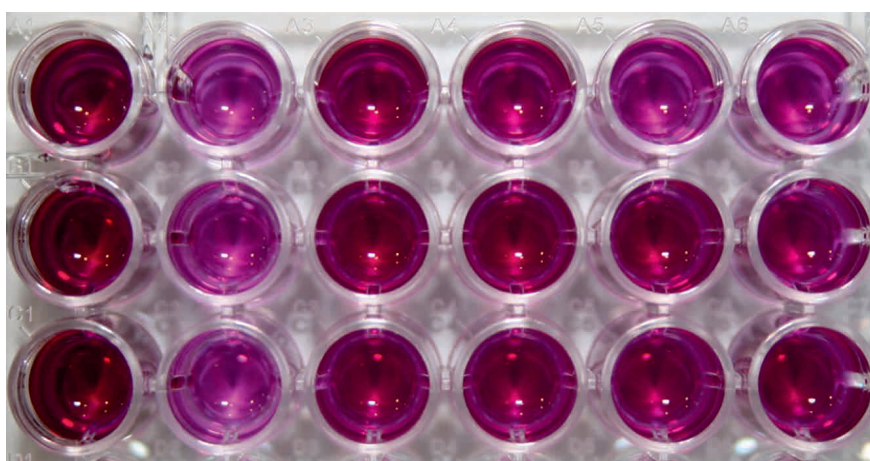
Auffällig war bei den Untersuchungen der Materialproben, dass die struktu-

rierten Siliconmaterialien generell relativ robust sind, während beispielsweise vergleichbar strukturierte Oberflächen auf Polypropylen [6] oder durch Nanopartikel auf Oberflächen erzeugte superhydrophobe Strukturen [7] hochempfindlich auf mechanische Belastungen reagieren. Dies ist ein wesentlicher Anwendungsvorteil.

### Entwicklung eines standardisierbaren Biofilmtests

Zu Untersuchungen mit Biofilmen existieren zahlreiche wissenschaftliche Publikationen, aber keine Normprüfungen oder standardisierte Verfahren, sodass die Ergebnisse in der Regel nicht vergleichbar sind. Daher entwickelte das TITK ein neues, einfaches, robustes und standardisierbares Verfahren zur Überprüfung der Biofilmbildung auf Kunststoffoberflächen.

Damit lässt sich die unterdrückte Adhäsion von Bakterien an Kunststoff- »



**Bild 4.** Biofilmtest mit *Staphylococcus aureus* DSM 346 nach Vitalfärbung mit MTT und Zugabe von i-Propanol © TITK

oberflächen bewerten und für verschiedene Kunststoffe gleichsam quantitativ vergleichen. Neben der Identifikation von geeigneten Testkeimen, Medienkonzentrationen und Inkubationsbedingungen erwies sich hier vor allem das Finden geeigneter Kontrollen (Positiv- und Negativkontrolle) zur Validierung des Tests als große Herausforderung.

Da keines der getesteten und kommerziell verfügbaren Materialien als Positivkontrolle (PK) geeignet war, musste eine eigene Materialkontrolle entwickelt werden. Mit einer Materialkombination aus einem speziellen Polyamid und einem eigens vom TITK entwickelten antibakteriellen Additiv [8] gelang es schließlich, ein geeignetes Material als Positivkontrolle zu etablieren, das keine bis nur eine äußerst geringe Biofilmbildung unter Testbedingungen aufwies. Zum Nachweis des Biofilms wurde der Farbstoff Thiazolylblau (bekannt unter dem Kürzel MTT) eingesetzt, der durch lebende Zellen von gelb nach lila-blau umgesetzt wird (Bild 4).

## Die Autoren

**Dr. Michael Gladitz** ist wissenschaftlicher Mitarbeiter und Projektleiter in der Abteilung Kunststoff-Forschung des Thüringischen Instituts für Textil- und Kunststoff-Forschung (TITK) e. V., Rudolstadt.

**Dr. Janine Bauer** ist wissenschaftliche Mitarbeiterin und Leiterin der biologischen Forschung der Abteilung Kunststoff-Forschung des TITK.

**Stefanie Griesheim** ist wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Abteilung Kunststoff-Forschung des TITK.

**Dr. Stefan Reinemann** ist Leiter der Abteilung Kunststoff-Forschung des TITK; reinemann@titk.de

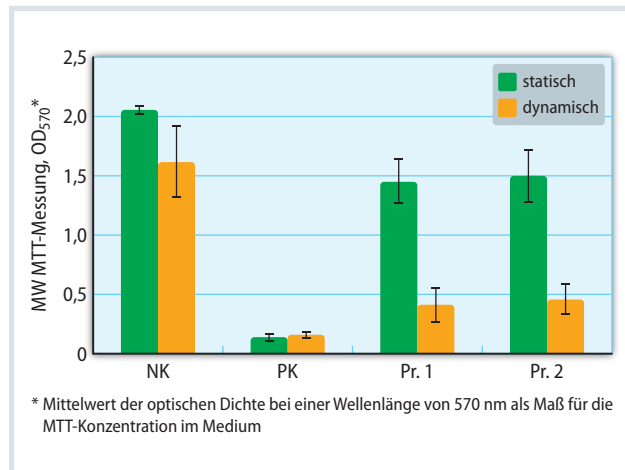
## Dank

Die Autoren danken dem Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWi) für die Förderung des Projekts mit der Reg.-Nr. MF150188.

## Service

### Literatur & Digitalversion

Das Literaturverzeichnis und ein PDF des Artikels finden Sie unter [www.kunststoffe.de/2020-04](http://www.kunststoffe.de/2020-04)



**Bild 5.** Biofilmbeweisende Wirkung ausgewählter Silikonmaterialien (Probe 1 = Struktur 3-M, Probe 2 = Struktur 5-N-i) unter statischen und dynamischen Inkubationsbedingungen, mit Teflon als Negativkontrolle (NK) und einem antibakteriellen silberhaltigen Spezialpolymer als Positivkontrolle (PK)

Quelle: TITK, Grafik: © Hanser

Mit dem so etablierten Test wurden alle angefertigten oberflächenstrukturierten Materialproben geprüft. Dabei zeigte sich am Beispiel des LSR 2060 (Hersteller: Momentive Performance Materials Inc.), dass mit zunehmender Feinheit der Oberflächenstrukturen die Ansiedlung eines Biofilms erschwert wird. Mit der ebenfalls erprobten inversen Struktur (Struktur 4-N-i) wird ein in etwa gleich starker Effekt erzielt wie mit der feinsten abformbaren Säulenstruktur (Struktur 3-M) (Bild 5).

Die ebenfalls erprobte Mottenaugenstruktur (Säulenstruktur mit geringerem Aspektverhältnis) führt selbst indessen zu keiner ausgeprägten Reduktion der Biofilmbildung. In Kombination mit dem selbstschmierenden Silikonmaterial LSR 4655SL (Momentive) kann jedoch ein ähnlich starker biofilmbeweisender Effekt nachgewiesen werden. Generell ist der Effekt der Strukturierungen unter dynamischen Bedingungen stärker ausgeprägt als unter statischen Bedingungen.

## Fazit

Die Ergebnisse zeigen, dass eine Oberflächenstrukturierung von Silikon mithilfe

der entsprechenden Werkzeuge mit einer Feinheit von bis zu ca. 0,5 µm im Spritzgießverfahren möglich ist und dabei abweisende bis superabweisende Oberflächeneigenschaften erreicht werden können. Mit Blick auf das Ziel, eine Biofilmbildung zu verhindern, wird mit zunehmender Feinheit der Strukturen ein besserer Effekt erzielt. Aber auch besonders in einer Kombination aus den kleinstmöglichen Strukturen und einem selbstschmierenden, biokompatiblen Silikonmaterial lässt sich ein vielversprechender Lösungsansatz erkennen.

Die prototypisch auf den Materialoberflächen applizierten Strukturen eignen sich unter anderem für optische und mikrofluidische Systeme, aber auch zur Variation der Grenzflächeneigenschaften von Kunststoffteilen im Hinblick auf deren Bioadhäsion. Die etablierte mikrobiologische Prüfmethode zur Bewertung der Bioadhäsion an Kunststoffoberflächen kann generell auch zur Bewertung und zum Vergleich von Oberflächen verschiedenster Materialien für weitere Entwicklungen sowie für kundenspezifische Fragestellungen genutzt werden. ■

Material	$\sigma_{dispers}$ [mN/m]	$\sigma_{polar}$ [mN/m]	$\sigma$ [mN/m]	Kontaktwinkel H <sub>2</sub> O [°]
LSR 2060, Struktur 1-M bis 3-M	2,8	0,3	3,1	146 ± 6
LSR 2060, ohne Struktur (glatt)	18,9	0,2	19,1	112 ± 1
Ref. 1: Teflon, PTFE (glatt)	18,6	0,5	19,1	116 ± 1
Ref. 2: PP (glatt)	30,5	0,7	31,2	107 ± 2
Ref. 3: Glas (glatt)	–	–	≈ 300	28 ± 3

**Tabelle 2.** Oberflächenspannung und Kontaktwinkel exemplarisch ausgewählter strukturierter Silikonoberflächen im Vergleich zu verschiedenen glatten Materialoberflächen. Legende:

$\sigma$  = Oberflächenspannung;  $\sigma_{dispers}$  = disperser Anteil von  $\sigma$ ;  $\sigma_{polar}$  = polarer Anteil von  $\sigma$  Quelle: TITK