

Evaluation von Nährmedien für in-vitro Langzeitstudien mit Candida Mischbiofilmen auf medizinisch verwendetem Silikon

M. Leonhard, B. Zatorska, D. Moser, B. Schneider-Stickler

Universitätsklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkrankheiten Wien, Währinger gürtel 18-20, 1090 Wien, Österreich

Einleitung:

Candida Mischbiofilme verkürzen die Verweildauer von Stimmprothesen bei laryngektomierten Patienten durch makroskopische Überwucherung und Zerstörung der Kunststoffmaterialien auf durchschnittlich 3-4 Monate. Zur Identifizierung und Vergleich neuer biofilmresistenter Werkstoffe werden in vitro Studien verwendet, die jedoch aufgrund Anwendung verschiedener Nährmedien und Inkubationsprotokolle nicht vergleichbare Ergebnisse erzielen. Ziel der Studie ist die in vitro Evaluation von 7 in der Literatur empfohlenen Standard Nährmedien für Langzeitsimulation von Candida Mischbiofilmen auf medizinischem Silikon.

Abb. 1: Material und Methoden:

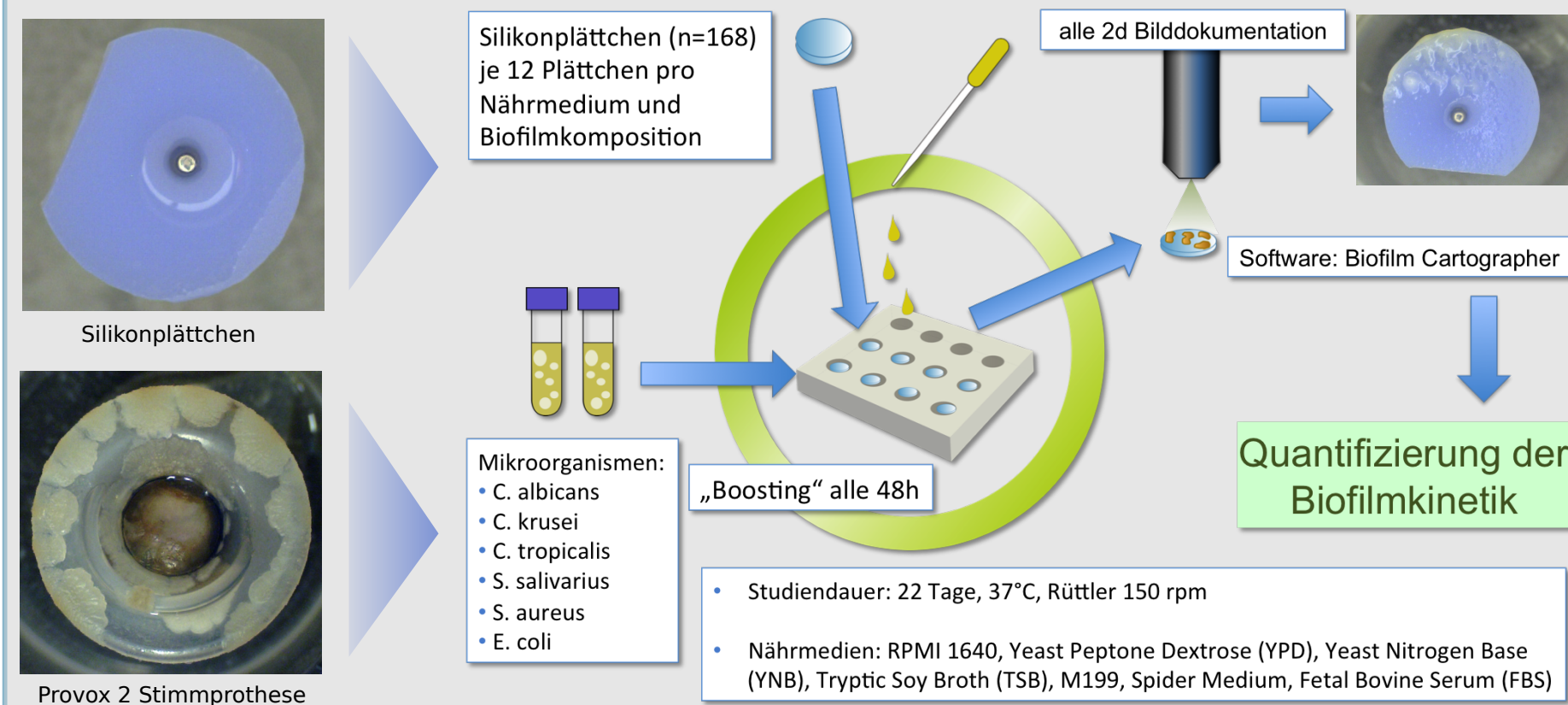


Abb. 1: Candida spezie und Bakterien wurden von explantierten Stimmprothesen laryngektomierter Patienten isoliert. Biofilme mit 2 verschiedenen mikrobiellen Zusammensetzungen (reiner Candida Biofilm aus C. albicans, C. tropicalis, C.krusei (CCC) und Mischiofilm mit C. albicans, E. coli, S. salivarius, S. aureus (CESS)) wurden in 7 verschiedenen Nährmedien Alle 2 Tage wurde das oberflächliche Biofilmwachstum standardisiert fotografiert und mittels Bildanalyse (Biofilm Cartographer Version 3.29) quantifiziert (Abb. 2). Nach 22 Tagen wurden die Plättchen fixiert und die Biofilmstrukturen mittels Rasterelektronenmikroskopie untersucht (Abb. 3).

Schlussfolgerung:

Zur Simulation mehrwöchiger mikrobieller Kolonisierung von prothetischem Silikon in Form von Mischbiofilmen zeigen die untersuchten Standardnährmedien für Candida spezie abweichende Ergebnisse in der Wachstumskinetik und den mikroskopischen Morphologien der in vitro generierten Biofilme. Nur fetal bovines Serum zeigte eine ähnliche Wachstumskinetik für reine Candida und für bakterielle Mischbiofilme sowie eine mikroskopische Ähnlichkeit zu in vivo Biofilmen. Die Ergebnisse verdeutlichen die Notwendigkeit einer Standardisierung von in vitro Studien zur Testung von neuen biofilminhibierenden prothetischen Materialien. Zur Untersuchung von potentiell biofilmresistenten Materialentwicklungen für Stimmprothesen sollten längere Inkubationsmodelle als 48h und optimierte Nährmedien für Candida Mischbiofilme zur Anwendung kommen.

Abb. 2: Ergebnisse: Wachstumskinetik

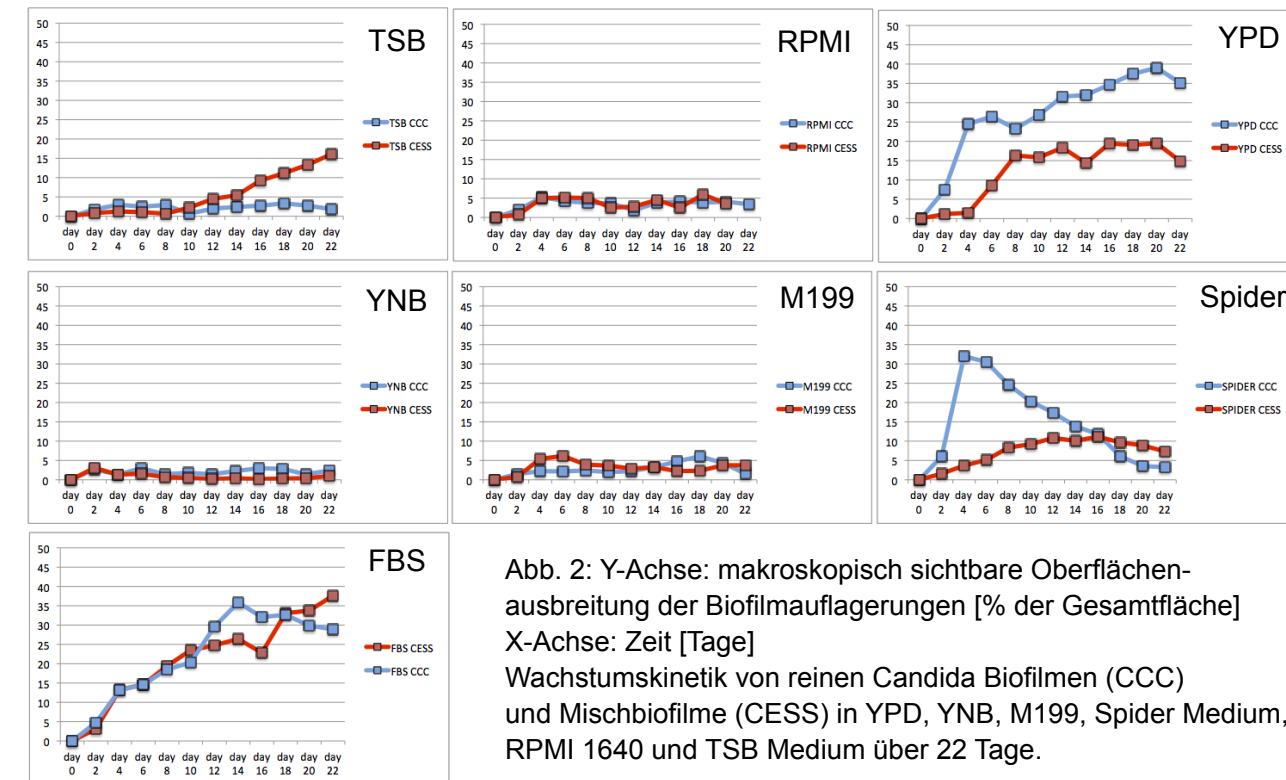


Abb. 2: Y-Achse: makroskopisch sichtbare Oberflächenausbreitung der Biofilmauflagerungen [% der Gesamtfläche] X-Achse: Zeit [Tage] Wachstumskinetik von reinen Candida Biofilmen (CCC) und Mischbiofilme (CESS) in YPD, YNB, M199, Spider Medium, RPMI 1640 und TSB Medium über 22 Tage.

Abb. 3: Ergebnisse: Elektronenmikroskopie

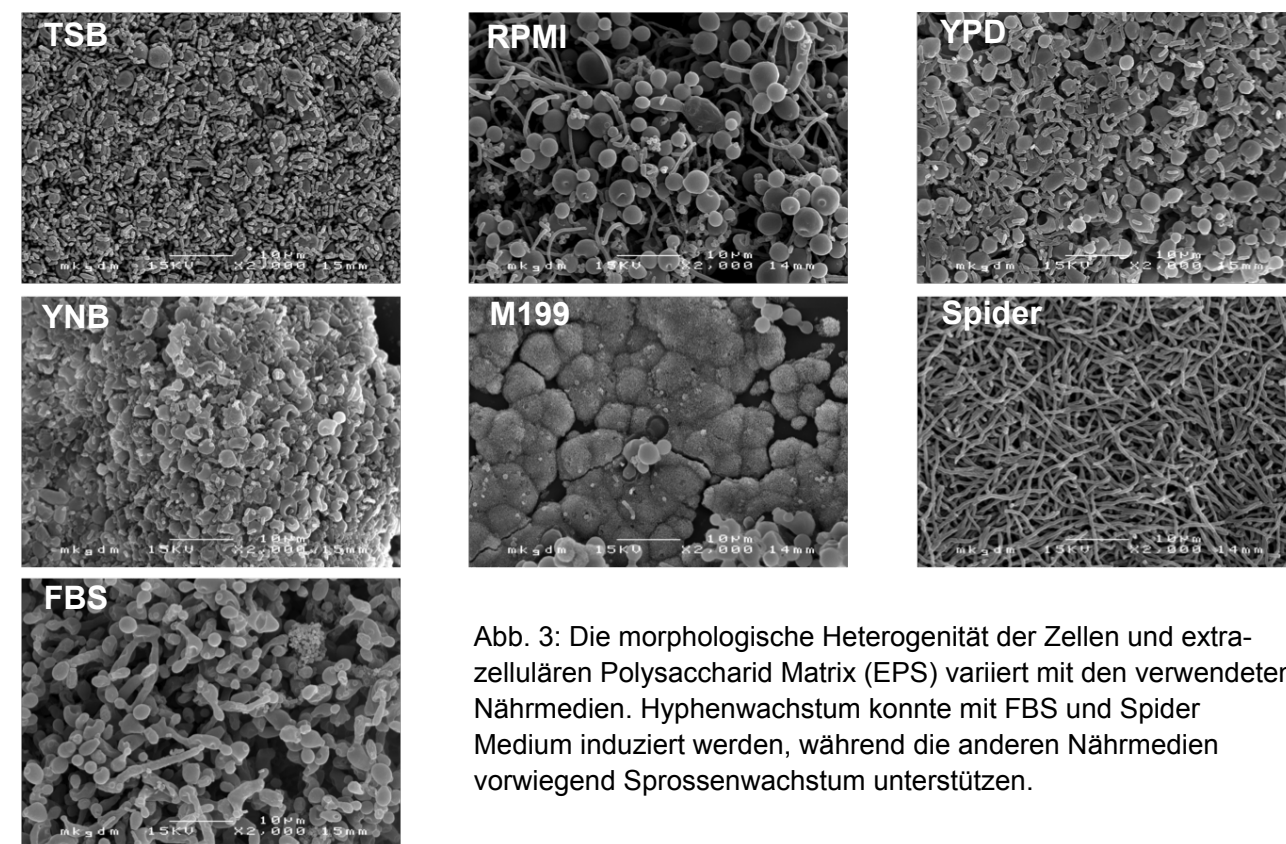


Abb. 3: Die morphologische Heterogenität der Zellen und extrazellulären Polysaccharid Matrix (EPS) variiert mit den verwendeten Nährmedien. Hyphenwachstum konnte mit FBS und Spider Medium induziert werden, während die anderen Nährmedien vorwiegend Sprossenwachstum unterstützen.