(19) Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 10 2008 036 923 B4** 2010.09.02

(12) # Patentschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2008 036 923.3**
(22) Anmeldetag: **08.08.2008**
(43) Offenlegungstag: **18.02.2010**
(45) Veröffentlichungstag der Patenterteilung: **02.09.2010**

(51) Int Cl.[8]: ***C12N 11/14*** (2006.01)
B81C 1/00 (2006.01)
C04B 41/87 (2006.01)

Innerhalb von drei Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten(§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(73) Patentinhaber:
Universität Bremen, 28359 Bremen, DE

(74) Vertreter:
BOEHMERT & BOEHMERT, 28209 Bremen

(72) Erfinder:
Treccani, Laura, 28205 Bremen, DE; Rezwan, Kurosch, 28357 Bremen, DE

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:

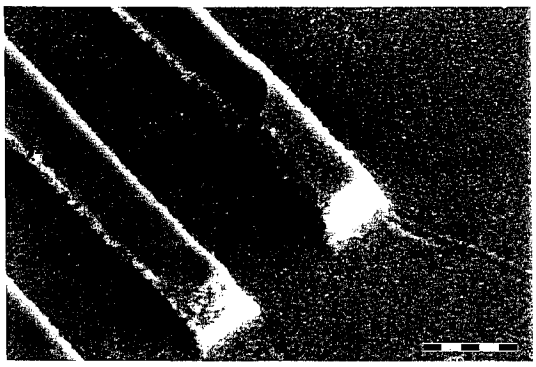
WO 99/53 379 A1

Key Engineering Materials Vols. 317-318, 2006, S. 533-538

Internet Eintrag der Universität Bremen v. 25.4.2008

(54) Bezeichnung: **Mit Keramik beschichteter Träger, Verfahren zu dessen Herstellung und Verwendung desselben**

(57) Hauptanspruch: Mit Keramik beschichteter Träger, wobei die Keramik eine auf den Träger aufgetragene mikrostrukturierte Keramikschicht umfasst, die mit einem antibakterielle Aktivität aufweisenden Enzym funktionalisiert ist.



Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft einen mit einer Keramik beschichteten Träger, ein Verfahren zu dessen Herstellung sowie Verwendungsmöglichkeiten desselben.

[0002] Materialoberflächen, die mit Fluiden in Kontakt sind, leiden typischerweise unter Abnutzung, Korrosion und Biofouling, die durch abrasive Teilchen, aggressive Medien und Mikroorganismen, die natürlicherweise in wässrigen Umgebungen vorhanden sind, verursacht werden. Die synergistische Wirkung dieser drei Faktoren ist der Hauptgrund eines Systemeffizienzverlustes, der Notwendigkeit für eine häufige Wartung und schließlich eines Systemversagens.

[0003] Biofouling wird durch das Wachstum von Bakterien oder anderen Mikroorganismen auf gegenüber Wasser exponierten Oberflächen bewirkt. Die erhöhte Konzentration von Nährstoffen nahe der festen Oberflächen schafft die Grundlage für eine solche Oberflächenbesiedelung und schließlich einer Biofilmbildung. Biofilme sind komplexe heterogene Strukturen, die aus Mikroorganismen bestehen, die in einer selbst erzeugten, extrazellulären Matrix eingebettet sind. Diese Matrix liefert eine schützende und günstige Umgebung für das Wachstum von Mikroben. Biofilme bestehen hauptsächlich aus Polysacchariden und Proteinen. Wesentliches Merkmal von Biofilmen ist ihre hohe Beständigkeit gegenüber umweltbedingten Stressfaktoren und gegen die weitläufig verwendeten Biozide und Antibiotika.

[0004] Oberflächenmerkmale beeinflussen die Biofilmbildung direkt, obwohl Mikroorganismen in der Lage sind, sowohl glatte als auch raue Oberfläche zu besiedeln. Eine höhere Oberflächenrauhigkeit erhöht typischerweise eine anfängliche mikrobielle Adhäsion und eine anschließende Oberflächenbesiedelung.

[0005] Biofilme sind der Hauptgrund für ein Biofouling und eine Korrosion von Wasserrohren oder eine Verstopfung von Leitungen. Eine Oberflächenkorrosion kann durch die Freisetzung von bakteriellen metabolischen Produkten direkt auf den Oberflächen verursacht werden.

[0006] Das Wachstum von pathogenen Mikroorganismen, zum Beispiel in Wasserverteilungssystemen oder in Heiz/Kühlvorrichtungen, stellt eine Gefährdungsquelle einer epidemischen Massenvermehrung dar. In Biofilmen vorliegende Bakterien zeigen eine erhöhte Resistenz gegenüber vielen üblicherweise eingesetzten antimikrobiellen Agentien. Eine hohe und/oder langdauernde Dosierung von Bioziden ist häufig erforderlich, um mit Biofilmen in Beziehung stehende Infektionen auszurotten.

[0007] Um einer Biofilmbildung entgegenzuwirken, sind antimikrobielle Agentien direkt in Materialien integriert oder auf Oberflächen abgeschieden worden. Weitläufig verwendete antibakterielle Agentien sind beispielsweise kationische oberflächenaktive Mittel, Antibiotika oder Metallionen. Jedoch hat sich für diese antimikrobiellen Substanzen gezeigt, für die vollständige Ausrottung von Biofilmen nicht adäquat zu sein. Eine intensive und lang dauernde Verwendung von Bioziden induziert die Freisetzung von gefährlichen Schadstoffen in die Umwelt, die Bildung von toxischen Nebenprodukten oder bewirkt die Resistenz gegenüber Bakterienstämmen.

[0008] Lysozym ist ein natürliches antimikrobielles Biomolekül, das bereits breite Anwendung findet. Es ist ein globuläres Enzym, das in Eiweiß, Tränenflüssigkeit und anderen Körpersekreten vorhanden ist und bemerkenswerte antibakterielle Eigenschaften zeigt. Natives Lysozym ist in der Lage, die strukturelle Integrität der Zellwand bestimmter Arten von Bakterien (Gram-positive Bakterien) zu schädigen, und nach einer speziellen biochemischen Modifikation ist entsprechendes Lysozym dann in der Lage, gegen Gram-negative Bakterien aktiv zu sein, siehe Wu, Y. und M. A. Daeschel, Lytic antimicrobial activity of hen egg white lysozyme immobilized to polystyrene beads. Journal of Food Science, 2007, 72(9): S. M369–M374; Williams, T. J., R. P. Schneider und M. D. P. Willcox, The effect of Protein-coated contact lenses an the adhesion and viability of gram negative bacteria, Current Eye Research, 2003, 27(4); Pellegrini, A., et al., Bactericidal Activities of Lysozyme and Aprotinin against Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria Related to Their Basic Character, Journal of Applied Bacteriology, 1992. 72(3): S. 180–187. Lysozym ist in der Lage, Bakterien durch eine spezifische Spaltung der Polysaccharidzellwandkomponenten abzutöten, oder durch Induzierung einer Zellmembranschädigung.

[0009] Sowohl natives als auch modifiziertes Lysozym gilt gemeinhin als nicht-toxisch für höhere Organismen oder für die Umwelt und induzieren keine Resistenz in Bakterien.

[0010] Eine Oberflächenabnutzung, die dadurch bewirkt wird, dass harte Teilchen auf die Oberfläche auftreffen, ist mit einem konstanten Materialabtrag von der Oberfläche verbunden und führt zu einem Verlust an Systemeffizienz und schließlich einem Materialversagen.

[0011] Es ist eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Materialoberfläche, die mit Fluiden in Kontakt kommt, bereitzustellen, die die Nachteile des Standes der Technik überwindet, insbesondere die Abnutzung, Korrosion und das Biofouling bei einem Kontakt mit Fluiden vermeidet. Des weiteren soll ein Verfahren zur Herstellung einer solchen Oberfläche

bereitgestellt und Verwendungsmöglichkeiten angegeben werden.

[0012] Die erste Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch einen mit einer Keramik beschichteten Träger, wobei die Keramik eine auf den Träger aufgetragene mikrostrukturierte Keramikschicht umfasst, die mit einem antibakterielle Aktivität aufweisenden Enzym funktionalisiert ist. Die verwendete Keramik ist bevorzugt eine harte Keramik mit einer Harte von 2000 Vickers. Ebenfalls können oxidische oder nicht oxidische Keramiken oder Mischungen derselben eingesetzt werden.

[0013] Dabei ist bevorzugt vorgesehen, dass der Träger aus Metall, Kunststoff und/oder Keramik ist.

[0014] Ferner ist bevorzugt vorgesehen, dass die mikrostrukturierte Keramikschicht aus alpha-Aluminiumoxid, Titanoxid, Zirkoniumoxid, Siliziumcarbid und Mischungen derselben ausgewählt ist.

[0015] Eine weitere Ausführungsform der Erfindung sieht vor, dass die mikrostrukturierte Keramikschicht aus Nanoteilchen mit einem Durchmesser von 1 bis 1.000 nm, bevorzugt 100 bis 500 nm, aufgebaut ist.

[0016] Auch kann vorgesehen sein, dass die mikrostrukturierte Keramikschicht ein Muster aus Bergen und Tälern aufweist, mit einer Höhendifferenz zwischen Berg und Tal von 1 bis 20 µm, bevorzugt 5 bis 15 µm.

[0017] Außerdem ist bevorzugt, dass das Enzym kovalent an die mikrostrukturierte Keramikschicht angebunden ist, optional mittels einer Verknüpfungsverbindung, wie einer Siloxanverbindung.

[0018] Noch bevorzugter ist das Enzym ein natives, modifiziertes Lysozym und/oder Lactoferrin.

[0019] Erfindungsgemäß ist ebenfalls ein Verfahren zur Herstellung des Trägers, welches die Schritte umfasst: i) Auftragen einer mikrostrukturierten Keramikschicht auf den Träger; ii) Sintern der Keramikschicht; iii) Funktionalisieren der Keramikschicht mit einem antibakterielle Aktivität aufweisenden Enzym.

[0020] Dabei kann bevorzugt vorgesehen sein, dass das Auftragen der mikrostrukturierten Keramikschicht mittels Aufsprühen einer Keramiknanoteilchen enthaltenden Slurry auf den Träger erfolgt.

[0021] Noch bevorzugter ist vorgesehen, dass die Keramikschicht durch eine Mikrostrukturierung durch Softlithographie erhalten wird.

[0022] Am bevorzugtesten sieht die Ausführungsform vor, dass das Sintern bei einer Temperatur von 1.000 bis 2.000°C, bevorzugt 1.300 bis 2.000°C erfolgt. Es ist selbstredend, dass solche Temperaturen bei Verwendung von Kunststoff oder Metall als Träger nicht eingesetzt werden können.

[0023] Schließlich sieht die Erfindung eine Verwendung eines erfindungsgemäßen Trägers in bzw. als Wasserleitungssystem, Heiz/Kühlvorrichtung, Rohr, Leitung und/oder Reaktormaterial, insbesondere in der pharmazeutischen, medizinischen oder Lebensmittel verarbeitenden Industrie, in Krankenhäusern oder Pflegeeinrichtungen vor.

[0024] Die vorliegende Erfindung offenbart einen Träger mit sehr vielseitig einsetzbarer und effizienter Materialoberfläche bzw. ein Verfahren zu dessen Herstellung, um Oberflächenbeschichtungen bereitzustellen, die gleichzeitig gegen Abnutzung, bakterielle Besiedelung und Korrosion schützen.

[0025] Die hier vorgestellten Oberflächenbeschichtungen auf einem Träger bestehen aus einer harten, vorzugsweise regelmäßig strukturierten, dünnen Keramikschicht, die mit Enzymen funktionalisiert ist, die intrinsische antibakterielle Eigenschaften zeigen.

[0026] Die gemusterte bzw. strukturierte Keramikschicht wird bspw. mit Hilfe von Keramiknanoteilchen hergestellt, die direkt auf die zu beschichtende Oberfläche aufgebracht werden. Die Oberflächenschicht wird dabei so hergestellt, dass bevorzugt ein regelmäßiges Muster mit Erhebungen in der Größenordnung von wenigen Mikrometern gebildet wird. Die strukturierte Keramikschicht schützt die darunter liegende Oberfläche des Trägers gegenüber einer mechanischen Abnutzung und Korrosion, und schützt die abgeschiedenen antibakteriellen Enzyme gegenüber einem Aktivitätsverlust. Antibakterielle Enyzme, die an die strukturierte Keramikschicht angebunden sind, töten Bakterien bei Kontakt mit diesen ab und verhindern die Ausbildung eines Biofilms und einer möglichen Biokorrosion.

[0027] Erfindungsgemäß wurde überraschend festgestellt, dass die Kombination aus mikrostrukturierter Keramikschicht und daran kovalent angebundenen Enzymen mit antibakterieller Aktivität wesentlich ist. Die mikrostrukturierte Keramikschicht mit ihren Erhebungen verhindert, dass angebundene Enzyme, zumindest in größerem Umfang, von der Keramikschicht abgelöst werden. Die mikrostrukturierte Keramik bietet somit einen Schutz für die daran angebundenen Enzyme und bewahrt deren Aktivität.

[0028] Bei Verwendung des erfindungsgemäßen Trägers wurde festgestellt, dass zum einen die Abnutzung und Korrosion des Trägers drastisch reduziert wird, zum anderen wird eine bakterielle Besiedelung unter Ausbildung eines Biofilms vermieden.

[0029] Eine Abscheidung der keramischen Nano-

teilchen auf der Trägeroberfläche wird bevorzugt unter Verwendung eines Mikrokontaktprägeverfahrens erreicht. Eine Mikrokontaktprägung wird eingesetzt, um direkt Keramikschichten auf entsprechenden Oberflächen unter Verwendung von wässrigen Suspensionen, die die Keramiknanoteilchen enthalten, herzustellen. Dadurch können Oberflächenbeschichtungen mit genau definierten Merkmalen, beispielsweise Erhebungen in einer Größenordnung von wenigen Mikrometern, direkt auf großen Flächen, sogar auf gekrümmten Oberflächen, hergestellt werden.

[0030] Der entsprechend beschichtete Träger der vorliegenden Erfindung stellt einen praktikablen Weg dar, um jegliche Oberflächen gegenüber Abnutzung, Bakterien und chemischer sowie biologischer Korrosion zu schützen. Ein entsprechender Träger kann in irgendwelchen Systemen eingesetzt werden, die in feuchten und wässrigen Umgebungen eingesetzt werden, wo abrasive Mittel, Bakterien und aggressive Medien gleichzeitig vorhanden sein können.

[0031] Weitere Merkmale und Vorteile der Erfindung ergeben sich aus der nachstehenden Beschreibung, in der Erfindung von Beispielen unter Bezugnahme auf die Zeichnungen erläutert wird.

[0032] Dabei zeigt

[0033] Fig. 1 eine elektronenmikroskopische Aufnahme eines erfindungsgemäßen Trägers; und

[0034] Fig. 2 eine schematische Darstellung eines erfindungsgemäßen Trägers mit mikrostrukturierter Keramikschicht und daran angefügten Enzymen;

Beispiel 1

[0035] Erfindungsgemäß wird in einer Ausführungsform der Träger mit einer strukturierten, nur wenige Mikrometer dicken Keramikschicht, die bevorzugt durch eine Mikrostrukturierung durch Softlitographie hergestellt wird, beschichtet. In einer wässrigen Suspension dispergierte Keramiknanoteilchen werden verwendet, um direkt Mikromuster auf der Oberfläche des Trägers herzustellen. Zur Mikrostrukturierung wird ein flexibler Silikonstempel durch Giessen eines Präpolymers aus Polydimethylsiloxan gegen einen vorstrukturierten Siliciumwafer hergestellt. Der Stempel wird anschließend mit einem dünnen Film einer Suspension beschichtet, in der Keramiknanoteilchen dispergiert worden sind. Der Stempel wird dann gegen die zu beschichtende Oberfläche gepresst. Das Mikromuster wird dann kompaktiert und durch Sintern bei hohen Temperaturen gehärtet. Ein mit Aluminiumoxidnanoteilchen hergestelltes Mikromuster ist beispielhaft in Fig. 1. gezeigt.

[0036] In einem zweiten Schritt wird die strukturierte Oberfläche mit Enzym funktionalisiert, wie es schematisch in Fig. 2 gezeigt ist. An eine mikrostrukturierte Keramik **1** wird über ein Verknüpfungsmolekül **2** sowohl natives Lysozym **3** als auch modifiziertes Lysozym **4** angefügt. Eine Abscheidung von Enzym **3**, **4** wird die mikrostrukturierte Oberfläche des Trägers gegenüber einer bakteriellen Adhäsion schützen. Dabei werden die Enzyme **4**, **5** kovalent an der strukturierten Oberfläche **1**, bevorzugt unter Verwendung von Verknüpfermolekülen **2**, kovalent gebunden. Die Art der verwendeten Verknüpfungsmoleküle **2** gewährleistet eine enge Bindung der Enzymmoleküle **4**, **5** an der Oberfläche und beeinträchtigt nicht deren antibakterielle Aktivität.

[0037] Überraschend wurde erfindungsgemäß festgestellt, dass der bereitgestellte, mit einer mikrostrukturierten Keramik beschichtete Träger aus unterschiedlichstem Material sein kann, jedoch die Oberfläche desselben gegenüber einer mechanischen Abnutzung und einer chemischen Korrosion geschützt wird. Ferner ist es durch die Mikrostrukturierung möglich, eine schützende keramische Oxidschicht auf irgendeinem Träger variabler Größe und Geometrie herzustellen. Die an der mikrostrukturierten Keramikschicht angefügten Enzyme schützen die Materialoberflächen gegenüber einer Biofilmbildung, und diese verlieren über einen langen Zeitraum ihre spezifischen antibakteriellen Eigenschaften nicht.

[0038] Die erfindungsgemäßen Träger stellen daher eine hoch interessante Alternative bereit, um Systeme, die beispielsweise beim Wassertransport eingesetzt werden und abrasive Mittel, aggressive Medien und Mikroorganismen enthalten, zu verbessern. Die Verwendung antibakterieller Enzyme auf einem entsprechenden Träger verhindert ein Biofouling auf den Materialoberflächen und stellt eine nachhaltige Alternative gegenüber herkömmlichen synthetischen Bioziden dar.

Beispiel 2

[0039] Ein erfindungsgemäßer Träger wurde bezüglich der bakteriellen Beständigkeit und der Abnutzungsbeständigkeit unter Flussbedingungen unter Verwendung von lebensfähigen Bakterien, abrasiven Mitteln und stark sauren Lösungen getestet. Die mit Enzym funktionalisierte Keramikbeschichtung zeigte eine bemerkenswerte antibakterielle Aktivität. Insbesondere hat sich die hergestellte Keramikmikrostruktur als effizienter physikalischer und chemischer Schutz für das abgeschiedene antibakterielle Enzym gezeigt, sogar unter abrasiven und sauren Bedingungen, was potentiell eine lang anhaltende antimikrobielle Aktivität ermöglicht.

[0040] Die Abnutzungsbeständigkeit des mit einer mikrostrukturierten Keramikschicht beschichteten Trägers wurde unter Flussbedingungen unter Verwendung von Siliciumdioxidpulver, dispergiert in dop-

pelt deionisiertem Wasser, als abrasivem Mittel getestet. Silicateilchen (Teilchengrößenverteilung zwischen 75 und 150 µm) wurden als Modellsandteilchen ausgewählt, eines der am häufigsten vorkommenden Abrasivmittel in Fluidtransportsystemen. Ein erfindungsgemäß hergestellter Träger wurde mit einer Silica-Suspension von 10 Gew.-% an Silica bei einer Flussgeschwindigkeit von 500 µl/Minute für 4 Tage gespült. Das Mikromuster wurde durch das Abrasivmittel nicht beschädigt. Vielmehr zeigte der erfindungsgemäße Träger eine hohe Abnutzungsbeständigkeit und wurde daher für eine weitere Biofunktionalisierung und antibakterielle Tests verwendet.

[0041] Um die antibakterielle Effizienz des mit einem Enzym (Lysozym) funktionalisierten Trägers der Erfindung zu untersuchen, wurde eine bakterielle Besiedelung und Zelllebensfähigkeit auf den Keramikoberflächen untersucht. Da eine Biofilmentwicklung und eine bakterielle Reaktion gegenüber antimikrobiellen Agentien stark von den Flussbedingungen abhängt, wurden biofunktionalisierte Aluminiumoxidoberflächen unter kontrollierten dynamischen Bedingungen für ein bestimmtes Zeitintervall getestet.

[0042] Als ein bakterielles Modellsystem wurden Micrococcus luteus-Zellen eingesetzt. M. luteus ist ein Gram-positives, nicht-pathogenes Bakterium der Hautflora und wird gemeinhin in der Umwelt gefunden. M. luteus wird durch seine runden Zellen charakterisiert, die spezifische Zellaggregate bilden. Insbesondere ist M. luteus hoch empfindlich gegenüber Lysozym und ein übliches Substrat, um die Lysozymaktivität zu bestimmen.

[0043] Zur Findung der Biofilmentwicklung, und zur Unterscheidung zwischen lebensfähigen und toten Bakterien, wurde eine Zweifarb-Fluoreszenz-Lebensfähigkeitsuntersuchung mittels Fluoreszenzmikroskopie verwendet. Lebende Bakterienzellen fluoreszieren dabei grün, während tote Bakterien oder Bakterien mit beeinträchtigten Zellmembranen rot fluoreszieren. Fluoreszenzfärbung und Mikroskopieanalysen wurden hier spezifisch als nicht-invasive und nicht-zerstörende Methode für eine in-situ-Analyse der Biofilmstruktur und der Bildung sowie der bakteriolytischen Lysozymaktivität verwendet.

[0044] Antibakterielle Merkmale eines erfindungsgemäßen Trägers wurden unter dynamischen Flussbedingungen getestet. Nach einer Lysozym-Funktionalisierung wurden die Keramikoberflächen gegenüber lebensfähigen, ggf. modifizierten M-luteus-Zellen (Zellkonzentration: 10^6 Zellen/ml) für 40 Stunden bei einer Flussgeschwindigkeit von 100 µl/Minute exponiert. Als Kontrolle wurde eine Biofilmentwicklung auf mikrostrukturiertem Aluminiumoxid ohne jegliche Funktionalisierung durchgeführt.

[0045] Eine Fluoreszenzmikroskopieanalyse zeigte, dass auf nicht-funktionalisierten Aluminiumoxidoberflächen M. luteus einen Biofilm aus hauptsächlich lebenden Bakterien bildete. Einige wenige tote Bakterien wurden detektiert. Die Bakterien bilden Zellaggregate aus lebensfähigen Zellen, die sich in unregelmäßigen Cluster anordnen.

[0046] Auf mit Lysozym funktionalisiertem Aluminiumoxid wurde jedoch eine beträchtlich geringere Menge an Zellaggregaten gefunden, die lediglich tote Bakterien enthielten.

[0047] Somit wurde der Bakterientod klar durch auf der Keramikoberfläche absorbierte Lysozymmoleküle induziert, was zeigt, dass absorbierte Lysozymmoleküle ihre antibakterielle Aktivität bewahrten und nicht von der Aluminiumoxidoberfläche während des Tests desorbierten.

[0048] Lysozym-funktionalisierte, mikrostrukturierte Aluminiumoxide wurden dann unter Abrasiv-bedingungen getestet, um zu erkennen, ob die Mikrostrukturierung die enzymatische Aktivität beeinflussen und schützen kann. Biofunktionalisierte Aluminiumoxidsubstrate wurden zunächst mit einer Silikasuspension (Flussgeschwindigkeit: 500 µl/ml, Expositionszeit: 12 Stunden) gespült und anschließend mit einer Lösung, die lebensfähige M. luteus-Zellen enthielt (Zellkonzentration: 10^6 Zellen/ml, Flussgeschwindigkeit: 500 µl/Minute, Expositionszeit: 12 Stunden).

[0049] Auf der Mikrostruktur entwickelte sich kein Biofilm, während Aggregate von lebenden Bakterien auf der Oberfläche außerhalb der Mikrostruktur beobachtet wurden. Dies zeigt, dass auf der Oberfläche um die Mikrostrukturierung Lysozymmoleküle desorbiert wurden und daher die Aluminiumoxidoberfläche nicht mehr gegenüber einer bakteriellen Adhäsion geschützt wurde.

[0050] Schließlich wurden die Eigenschaften des erfindungsgemäßen Trägers unter sauren Bedingungen getestet. Dazu wurde der Träger einer salzsauren Lösung bei pH 2 für 2 Stunden ausgesetzt, dieser pH-Wert liegt deutlich unterhalb des idealen pH-Werts von 7, bei dem Lysozym seine höchste enzymatische Aktivität zeigt. Unter diesen harten pH-Bedingungen ist eine Proteindenaturierung sehr wahrscheinlich. Mit Lysozym funktionalisierte, mit Keramik mikrostrukturierte Träger wurden zunächst mit einer HCl-Lösung (Flussgeschwindigkeit 500 µl/Minute, Expositionszeit: 2 Stunden) gespült, anschließend mit PBS-Lösung gespült und dann mit lebensfähigen M. luteus-Zellen (Zellkonzentration: 10^6 Zellen/ml, Flussgeschwindigkeit: 500 µl/ml, Expositionszeit: 12 Stunden) durchschwemmt. Sogar unter Bedingungen dieser harten Vorbehandlung wurden Aggregate von toten M. luteus-Zellen auf mit Lysozym-funktionalisierten Trägern gefunden. Tote Bakterien wurden auf der Oberfläche innerhalb der Mikro-

struktur gefunden. Auf der Aluminiumoxidoberfläche, die die Mikromuster umgibt, wurden Zellaggregate gefunden, die sowohl tote als auch lebensfähige Bakterien enthielten. Dies zeigt, dass die bakterizide Aktivität von Lysozym ohne Mikrostrukturschutz teilweise verschlechtert wurde.

[0051] Die in der Beschreibung, den Ansprüchen und den beigefügten Zeichnungen offenbarten Merkmale können sowohl einzeln als auch in einer beliebigen Kombination zur Verwirklichung der Erfindung in ihren unterschiedlichen Ausführungsformen wesentlich sein.

Patentansprüche

1. Mit Keramik beschichteter Träger, wobei die Keramik eine auf den Träger aufgetragene mikrostrukturierte Keramikschicht umfasst, die mit einem antibakterielle Aktivität aufweisenden Enzym funktionalisiert ist.

2. Träger nach Anspruch 1, wobei der Träger aus Metall, Kunststoff und/oder Keramik ist.

3. Träger nach Anspruch 1 oder 2, wobei die mikrostrukturierte Keramikschicht ausgewählt ist aus alpha-Aluminiumoxid, Titanoxid, Zirkoniumoxid, Siliziumcarbid und Mischungen derselben.

4. Träger nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die mikrostrukturierte Keramikschicht aus Nanoteilchen mit einem Durchmesser von 1 bis 1.000 nm, bevorzugt 100 bis 500 nm, aufgebaut ist.

5. Träger nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die mikrostrukturierte Keramikschicht ein Muster aus Bergen und Tälern aufweist, mit einer Höhendifferenz zwischen Berg und Tal von 1 bis 20 µm, bevorzugt 5 bis 15 µm.

6. Träger nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei das Enzym kovalent an die mikrostrukturierte Keramikschicht angebunden ist, optional mittels einer Verknüpfungsverbindung, wie einer Siloxanverbindung.

7. Träger nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei das Enzym ein natives, modifiziertes Lysozym ist.

8. Verfahren zur Herstellung eines Trägers nach Anspruch 1, welches die Schritte umfasst:
i) Auftragen einer mikrostrukturierten Keramikschicht auf den Träger;
ii) Sintern der Keramikschicht;
iii) Funktionalisieren der Keramikschicht mit einem antibakterielle Aktivität aufweisenden Enzym.

9. Verfahren nach Anspruch 8, wobei das Auftragen der mikrostrukturierten Keramikschicht mittels Aufsprühen einer Keramiknanoteilchen enthaltenden Slurry auf den Träger erfolgt.

10. Verfahren nach Anspruch 8 oder 9, wobei die Keramikschicht durch eine Mikrostrukturierung durch Softlitographie erhalten wird.

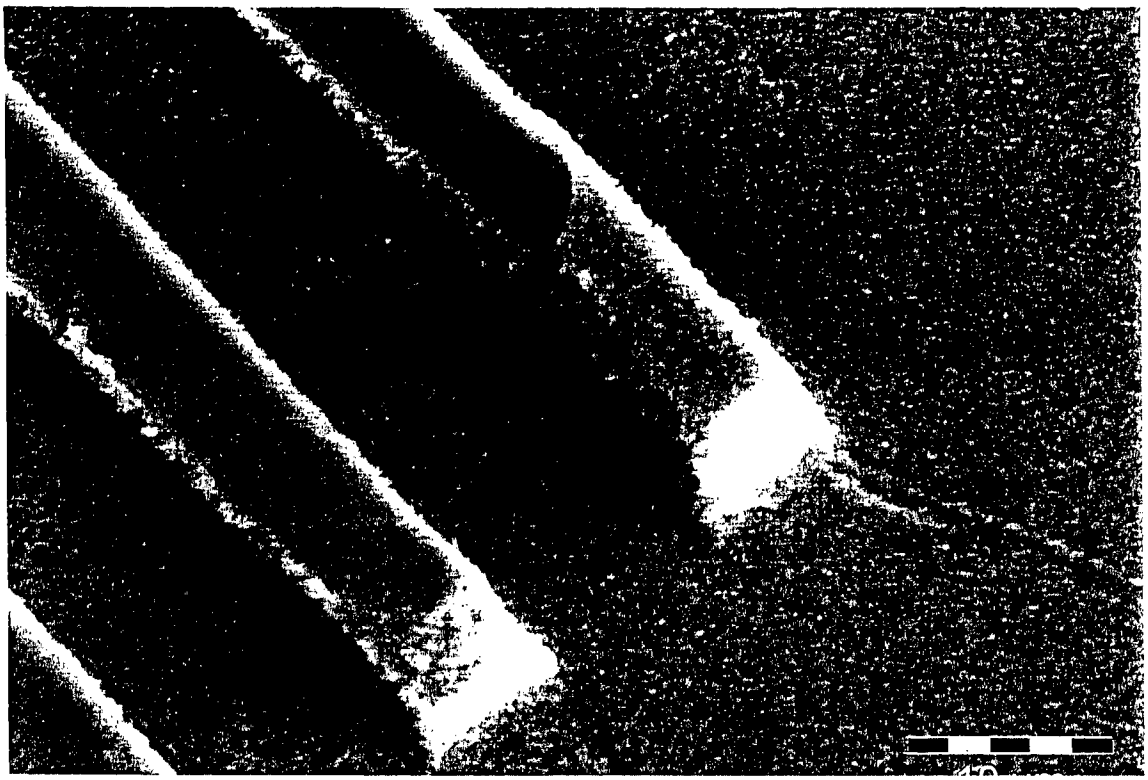
11. Verfahren nach einem der Ansprüche 8 bis 10, wobei das Sintern bei einer Temperatur von 1.000 bis 2.000°C, bevorzugt 1.300 bis 2.000°C erfolgt.

12. Verwendung eines Trägers nach einem der Ansprüche 1 bis 7 in bzw. als Wasserverteilungssystem, Heiz/Kühlvorrichtung, Rohr, Leitung und/oder Reaktormaterial.

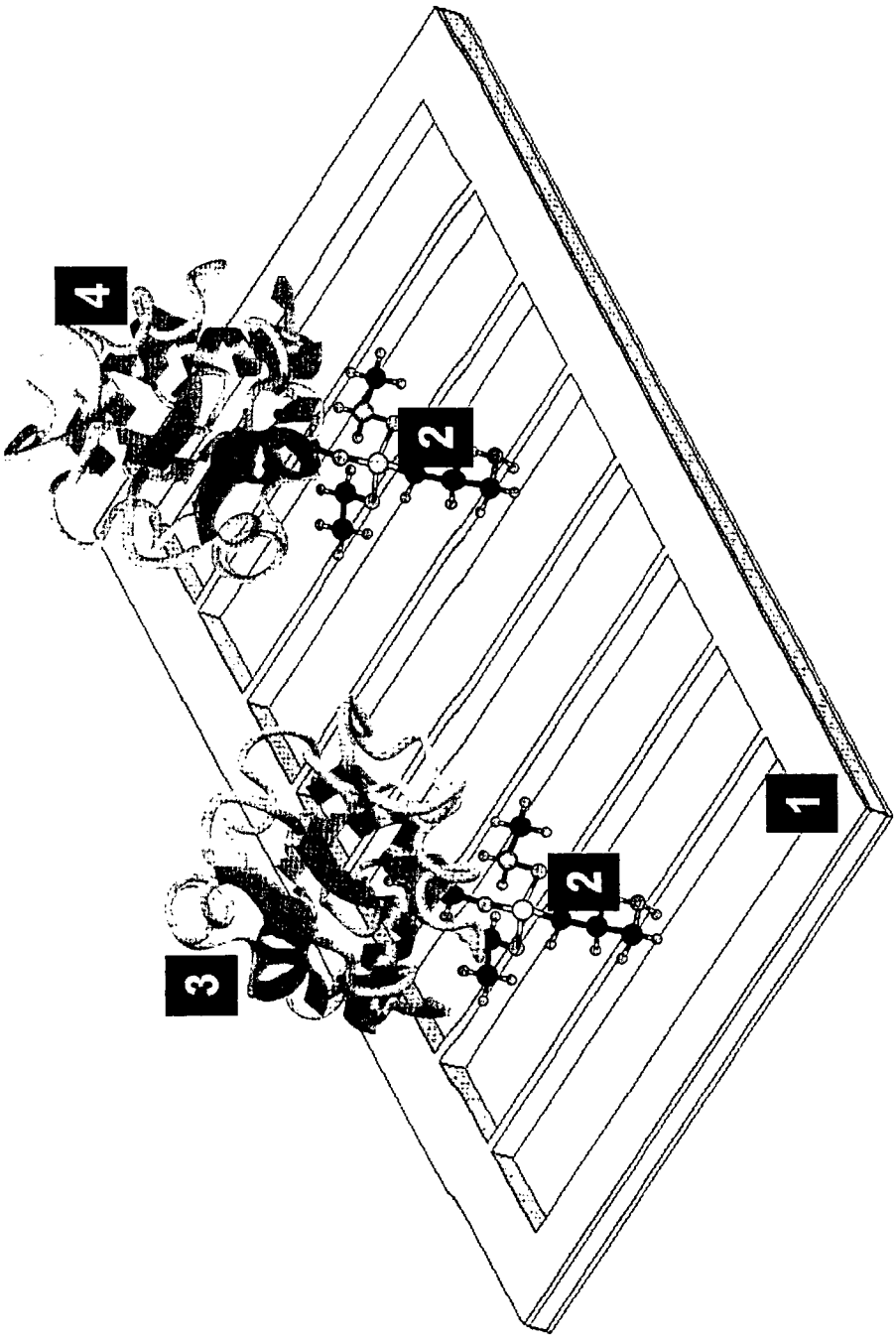
13. Verwendung nach Anspruch 12 in der pharmazeutischen, medizinischen oder Lebensmittel verarbeitenden Industrie, in Krankenhäusern oder Pflegeeinrichtungen.

Es folgen 2 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen



Figur 1



Figur 2