Aus dem Institut für Umweltmedizin und Krankenhaushygiene der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br.

# Vergleichende Untersuchung der antimikrobiellen Wirksamkeit von sieben verschiedenen Hölzern

**INAUGURAL - DISSERTATION** 

zur

Erlangung des Medizinischen Doktorgrades der Medizinischen Fakultät der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br.

Vorgelegt 2007
von Denise Fürst
geboren am 19.03.1982 in Offenburg

Dekan Prof. Dr. med. Christoph Peters

1. Gutachter Prof. Dr. Klaus Kümmerer

2. Gutachter Prof. Dr. med. Dipl. Biol. Christoph M. Schempp

Jahr der Promotion 2008

# Inhaltsverzeichnis

Danks	sagu	ng	6
Erklär	ung	über Beteiligung Dritter	7
Abkür	zung	gsverzeichnis	8
1.	Ein	leitung	9
1.1.	Нус	gienische Aspekte von Holz in den letzten Jahrzehnten	9
1.2.	Auf	gabenstellung	11
1.3.	Hol	zaufbau und Holzchemie	12
1.3.1.	Mal	kroskopischer Aufbau	12
1.3.1.	1.	Rinde	13
1.3.1.	2.	Kambium	13
1.3.1.	3.	Splintholz	13
1.3.1.	4.	Kernholz	14
1.3.1.	5.	Mark	14
1.3.2.	Mik	roskopischer Aufbau	14
1.3.2.	1.	Nadelhölzer	15
1.3.2.	2.	Laubhölzer	15
1.3.3.	Hol	zchemie	16
2.	Mat	terial und Methoden	18
2.1.	Übe	erblick über den Versuchsablauf	18
2.2.	Unt	ersuchungsmaterial	18
2.2.1.	Höl	zer	18
2.2.1.	1.	Gemeine Kiefer (Pinus sylvestris)	19
2.2.1.	2.	Weißtanne (Abies alba)	19
2.2.1.	3.	Rotbuche Normal- und Rotkernholz (Fagus sylvatica)	20
2.2.1.	4.	Eiche (Quercus sp.)	21
2.2.1.	5.	Robinie (Robinia pseudoacacia)	21
2.2.2.	Mik	roorganismen	22
2.2.2.	1.	Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus (MRSA 2728)	22
2.2.2.	2.	Vancomycin-resistenter Enterococcus faecium (VRE 860)	23

2.2.2.3	3. Escherichia coli (E. coli 1000)	. 23
2.2.2.4	4. Acinetobacter baumannii (RUH 875)	. 23
2.2.2.5	5. Mycobacterium terrae	. 24
2.2.2.6	6. Candida albicans (C. albicans 40)	. 24
2.3.	Versuchsablauf	. 24
2.3.1.	Herstellung der Keimsuspension	. 24
2.3.2.	Verdünnungsschritte	. 25
2.3.3.	Verdünnungskontrollen	. 27
2.3.4.	Probennahme	. 28
2.3.5.	Auszählung der Kolonien	. 28
2.3.6.	Überblick über den Versuchsablauf	. 29
_		
3.	Ergebnisse	
3.1.	Betrachtung der einzelnen Keime bezogen auf die Hölzer	
	Versuche mit MRSA	
	Versuche mit VRE	
	Versuche mit E. coli	
	Versuche mit A. baumannii	
	Versuche mit M. terrae	
	Versuche mit C. albicans	
3.2.	Betrachtung der einzelnen Hölzer bezogen auf die Keime	
	Kiefer-Splintholz	
	Kiefer-Hygieneholz	
	Weißtanne	
	Rotbuche-Normalkernholz	
	Rotbuche-Rotkernholz	
	Eiche	
3.2.7.	Robinie	. 48
4.	Diskussion	. 50
4.1.	Diskussion über die bisherigen Erkenntnisse in der Thematik	
4.2.	Diskussion über die eigenen Versuchsergebnisse	
5	7usammenfassung	. 61

6.	Anhang	62
6.1.	Versuchstabellen	62
7.	Abbildungs- und Diagrammverzeichnis	74
8.	Literaturverzeichnis	77
9.	Internetverzeichnis	82
10.	Lebenslauf	83

# **Danksagung**

Mein aufrichtiger Dank gilt Herrn Prof. Dr. Klaus Kümmerer, Herrn Prof. Dr. med. Franz Daschner, Dipl.-Biol. Armin Schuster und Elke Schmidt-Eisenlohr für die intensive Betreuung. Vielen Dank für die Bereitstellung des Labors und der Materialien, die ich verwenden durfte, ebenso für die Hilfe bei den Laborarbeiten und bei der Erstellung der Arbeit. Bei Fragen und Problemen jeglicher Art waren sie immer für mich da und standen mir hilfsbereit zur Seite. Auch möchte ich mich bei ihnen für das Korrekturlesen bedanken.

Ein herzlicher Dank gebührt auch allen Mitarbeitern des Labors des Institutes für Umweltmedizin und Krankenhaushygiene.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei der Forstlichen Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg, die die Holzbrettchen zur Verfügung gestellt hat und auch ein Dankeschön an die Firma Gustav Wilms Holzprodukte für die Bereitstellung der Hygieneholzbrettchen.

Vielen Dank auch an Bernd und Michael Rieber und Tamara Klemm für das Korrekturlesen.

# Erklärung über Beteiligung Dritter

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Insbesondere habe ich hierfür nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder anderer Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Kehl, den 22.08.2007

Denise Fürst

# Abkürzungsverzeichnis

A. baumannii Acinetobacter baumannii

C. albicans Candida albicans

cm<sup>2</sup> Quadratzentimeter

E. coli Escherichia coli

FIHV Fleischhygiene - Verordnung

GFIMindV Geflügelfleischmindestanforderungen - Verordnung

KBE Kolonie bildende Einheit

ml Milliliter

μl Mikroliter

μm Mikrometer

MRSA Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus

MSSA Methicillin-sensibler Staphylococcus aureus

M. terrae Mycobacterium terrae

NaCl Natriumchlorid

QUAT Quartäre Ammoniumtenside

RODAC Replicate Organism Detection and Counting

VRE Vancomycin-resistenter Enterococcus faecium

z.B. zum Beispiel

# 1. Einleitung

### 1.1. Hygienische Aspekte von Holz in den letzten Jahrzehnten

Die hygienischen Aspekte von Holz werden schon seit einigen Jahrzehnten untersucht. Während dem Holz anfangs generell schlechte hygienische Eigenschaften zugeschrieben wurden (Kelch und Palm, 1958; Großklaus und Levetzow, 1967; Gilbert und Watson 1971; Kampelmacher et al., 1971; Lukowsky, 1994; Rödel et al., 1994; Schulz, 1995), wurde in den letzten 13 Jahren eine differenzierte Sichtweise entwickelt.

In den anfänglichen Untersuchungen wurden Holz-, Metall- und Kunststoffmaterialien, die überwiegend in der Fleisch- und Geflügelverarbeitungsindustrie eingesetzt wurden, auf ihre hygienischen Eigenschaften untersucht und miteinander verglichen. Es erfolgten einerseits Oberflächenkeimzahlbestimmungen der verschiedenen Materialien mit dem Abklatschverfahren und andererseits Keimzahlbestimmungen aus tieferen Schichten mittels destruktiver Nachweisverfahren. Alle diese Studien kamen zu dem Ergebnis, dass der Keimgehalt auf den Holzflächen deutlich höher war als auf den Metall- und Kunststoffmaterialien. Auch bezüglich Reinigung und Desinfektion der verschiedenen Oberflächen wurde Holz als das hygienisch schlechtere Material beschrieben.

Die Autoren fanden mehrere Begründungen für die schlechteren hygienischen Eigenschaften von Holz. Als Argumente gegen Holz wurden die poröse Struktur, die hygroskopischen Eigenschaften und die Saugwirkung der Ring- und Tüpfelgefäße, über die die Mikroorganismen ins Holzinnere aufgenommen werden und sich ungehindert vermehren können, vorgebracht. Auch in der Beurteilung von Kunststoff waren sich die Autoren einig. Sie stuften ihn als nicht porösen Werkstoff mit einer geschlossenen Oberfläche ein. Durch die geschlossene Oberfläche erfolgte keine Verlagerung der Bakterien in die Tiefe und somit wäre Kunststoff besser und effektiver zu reinigen als Holz (Kelch und Palm, 1958; Großklaus und Levetzow, 1967; Kampelmacher et al., 1971; Lukowsky, 1994; Rödel et al., 1994; Schulz, 1995).

Aufgrund dieser Untersuchungen wurden Verordnungen und Richtlinien aufgestellt, die die Verwendung von Holz in der Lebensmittelindustrie weitgehend untersagten. Die Verwendung von Holz war somit nur beim Transport von hygienisch verpacktem Fleisch, bei Hackklötzen, in Räucherkammern und Reiferäumen gestattet (Rödel et al., 1994; Stiebing 2002).

Erst in den letzten 13 Jahren wurden Studien veröffentlicht, die im Widerspruch zu den bisherigen Erkenntnissen stehen. 1994 wurde im "Journal of Food Protection" eine Studie des Food Research Institute aus Wisconsin veröffentlicht, in der Holz deutlich bessere hygienische Eigenschaften als Kunststoff aufwies. Die Ergebnisse der Untersuchungen, in denen verschiedene Holzarten und verschiedene Kunststoffe verglichen wurden, waren weitgehend unabhängig von der Keimart, der Holzart und dem Gebrauchszustand der Brettchen und sie ließen auch die Vermutung aufkommen, dass von bestimmten Holzarten eine antibakterielle Wirkung ausginge (Ak und Cliver, 1994a und 1994b).

Angeregt durch die Aufsehen erregende Studie von Nese Ak und Dean Cliver wurden weitere Untersuchungen durchgeführt. Die Versuche von Rödel et al. konnten die Erkenntnisse der amerikanischen Studie nur teilweise bestätigen. Holz besaß auch in ihren Versuchen eine deutlich bessere Keimreduktion als Kunststoff. Jedoch zeigte sich bei Verunreinigung mit einem Fettgemisch und bei der Reinigung der Oberflächen eine Überlegenheit der Kunststoffbrettchen (Rödel et al., 1994).

Die Publikationen von Ak et al. und Rödel et al. waren die ersten beiden Studien, die darauf hinwiesen, dass verschiedene Holzarten unterschiedliche hygienische Eigenschaften und bestimmte Hölzer sogar antibakterielle Eigenschaften besitzen könnten (Ak et al., 1994a und b; Rödel et al., 1994).

Diese Erkenntnis stand im Widerspruch zu den früheren Studien. Eine mögliche Erklärung hierfür bestand darin, dass in diesen Studien weder die Holzart noch die Schnittrichtung und die Holz- und Luftfeuchtigkeit berücksichtigt wurden und dass es somit keine einheitlichen und vergleichbaren Versuchsbedingungen gab (Schulz, 1995).

In verschiedenen weiteren Untersuchungen, in denen die Versuchsbedingungen nun weitgehend einander angepasst und somit standardisiert waren, wurden die hygienischen Eigenschaften von Holz weiter überprüft und fast alle Studien kamen zu dem Ergebnis, dass Holz sehr gute und wesentlich bessere hygienische und antimikrobielle Eigenschaften besitzt als Kunststoffe (Schönwälder, 1999; Gehrig, 2000; Steinkamp und Wilms, 2001; Schönwälder et al., 2002; Gebken, 2004; Strehlein et al., 2004; Milling et al., 2005a; Milling et al., 2005b; Boursillon, 2005; Wirmer, 2005). Antimikrobielle Eigenschaften konnten dem Kiefer-Kernholz und der Eiche zugeordnet werden. Die Ursachen für die antimikrobielle Wirkung sind bis jetzt

noch nicht vollständig bekannt. Einige Studien belegen, dass hauptsächlich Polyphenole (Tannine), die zur Gruppe der sekundären Extraktstoffe gehören, dafür verantwortlich sind (Laks und McKaig, 1988; Field und Lettinga, 1992; Schönwälder et al., 1996-2001).

### 1.2. Aufgabenstellung

Das Ziel der folgenden Arbeit bestand darin, weitere Holzarten bzw. Holzvarianten auf ihre keimreduzierenden Eigenschaften zu untersuchen. Aus diesem Grund wurden sieben verschiedene Hölzer untersucht und miteinander verglichen: das Splintholz der Gemeinen Kiefer, das Kernholz der Gemeinen Kiefer, das Reifholz der Weißtanne, das Rotbuchen Normalkernholz und Rotkernholz, und die Kernhölzer von Eiche und Robinie. Die Auswahl der untersuchten Hölzer erfolgte anhand verschiedener Kriterien. Das Kiefer-Hygieneholz - dabei handelt es sich um ein speziell bearbeitetes Kiefer-Kernholz - und die Eiche wurden als Referenzmaterialien ausgewählt, da ihre antibakterielle Wirkung schon bekannt war. Von dem Kiefernholz wurde jedoch nicht nur das Hygieneholz (Kernholz) untersucht, sondern es erfolgte zusätzlich eine Betrachtung des Splintholzes, um zu überprüfen, ob dieses dieselben keimreduzierenden Eigenschaften besitzt wie das Hygieneholz. Die Verwendung des Rotbuchen- und Weißtannenholzes erfolgte wegen der großen wirtschaftlichen Bedeutung, da beide Holzarten als Möbel- und Bauhölzer verwendet werden und aus diesem Grund in fast allen Haushalten, Betrieben und auch in vielen anderen Bereichen zu finden sind. Das Holz der Weißtanne ist in bisherigen Studien auch noch nicht untersucht worden. Bei dem Rotbuchenholz stellte sich zusätzlich die Frage nach der Wirkung des Rotkerns. Die Bildung dieses Kerns, der auch als Scheinkern bezeichnet wird, erfolgt ab einem bestimmten Alter der Rotbuche. Je höher das Alter des Baumes, desto größer ist auch die Wahrscheinlichkeit des Vorhandenseins eines Scheinkerns. Die Ursache für die Bildung des Rotkerns ist bisher nicht bekannt. In der holzverarbeitenden Industrie wird er als Farbfehler bewertet und somit bei der Verarbeitung nicht verwendet. In der folgenden Arbeit sollte deswegen die Wirksamkeit dieses Kerns überprüft und mit dem Normalkern verglichen werden. Für die Untersuchungen wurde auch die Robinie verwendet. Dieses Holz findet ebenfalls Einsatz in der Bau- und Möbelindustrie, jedoch nicht in dem Umfang wie das Weißtannen- und Rotbuchenholz. Das Holz der Robinie wurde ausgewählt, da es zur Resistenzklasse 1-2 nach DIN EN 350 T2 (E 10.90) gehört und somit sehr verwitterungsresistent ist. Im Vergleich dazu gehört die Eiche zur

Resistenzklasse 2 und ist somit auch resistent, die Kiefer hingegen ist nur mäßig bis wenig resistent, die Weißtanne ist wenig resistent und die Rotbuche ist überhaupt nicht resistent gegenüber Verwitterung.

Von allen Hölzern wurden Brettchen mit Keimen kontaminiert und Abklatschproben von den Oberflächen mit dem RODAC-Abklatschverfahren genommen. Die Agarplatten wurden anschließend inkubiert und ausgewertet.

Als Erreger wurden nosokomial bedeutsame Stämme verwendet, die sich vor allem durch ihre lange Überdauerung an Oberflächen auszeichnen. Durch diese lange Überdauerungsfähigkeit ist eine Übertragung auf den Menschen möglich. Als einziger Keim, bei dem die Übertragung durch Oberflächen nicht in diesem Maße relevant ist, ist Escherichia coli. Er wurde ausgewählt, da er ein Vertreter gramnegativer Keime ist und in den meisten Studien verwendet wurde.

### 1.3. Holzaufbau und Holzchemie

Um den Holzaufbau verstehen zu können ist es wichtig zu wissen, dass es verschiedene Holzarten gibt. Man unterscheidet Nadelhölzer, Laubhölzer und Tropenhölzer. In der folgenden Arbeit werden ausschließlich Nadel- und Laubhölzer untersucht. Aus diesem Grund wird im Weiteren nicht näher auf die Tropenhölzer eingegangen.

Nadelhölzer (z.B. Weißtanne und Kiefer) gehören meistens zu den Weichhölzern, da sie häufig weicher und leichter sind als die Laubhölzer (z.B. Eiche, Rotbuche und Robinie), die meistens Harthölzer sind.

Beim Aufbau des Holzes unterscheidet man den makroskopischen und mikroskopischen Holzaufbau.

### 1.3.1. Makroskopischer Aufbau

Bei Betrachtung des Längs- bzw. Querschnittes eines Baumstammes erkennt man, dass der Stamm von außen nach innen aus Rinde (Bast und Borke), Kambium, Splintholz, Kernholz und Mark besteht (siehe Abbildung 1).

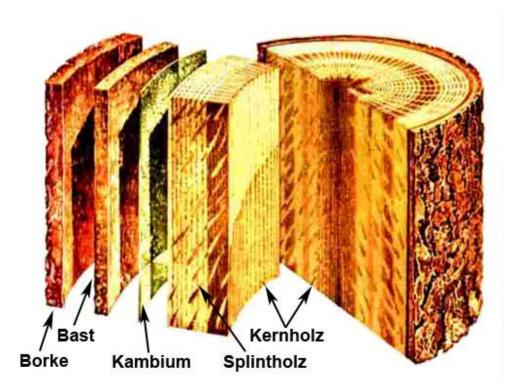


Abbildung 1: Aufbau eines Holzstammes

### 1.3.1.1. Rinde

Die Rinde umgibt das Holz. Sie besteht aus einer Außenrinde, der Borke und einer Innenrinde, dem Bast. Die Borke schützt das Holz vor Witterungseinflüssen, Beschädigungen, Austrocknung und Pilzen. Der Bast dient als Leitgewebe für den Nährstofftransport von den Blättern in Richtung Wurzeln.

### 1.3.1.2. Kambium

Das Kambium liegt zwischen Rinde und Splintholz. Es enthält teilungsfähige Zellen und bewirkt somit das Dickenwachstum des Baumstammes.

### 1.3.1.3. Splintholz

Das Splintholz bildet den äußeren Anteil des Holzes eines Baumstammes und umgibt das Kernholz. Es hat eine hellere Farbe, ist weicher und deutlich anfälliger gegenüber Mikroorganismen, Pilzen und Insekten als das Kernholz. Die Hauptaufgaben dieser Schicht bestehen in der Weiterleitung von Wasser und Nährstoffen und in der Speicherung von Stoffwechselprodukten. Häufig wird das Splintholz auch als junges Holz bezeichnet.

### 1.3.1.4. Kernholz

Das Kernholz entsteht erst ab einem Alter von ca. 20-40 Jahren und geht aus dem Splintholz hervor. Die Kernholzbildung kommt zustande, weil im Splintholz einerseits die Parenchymzellen zugrunde gehen und andererseits zusätzlich eine Einlagerung von Gerbstoffen erfolgt. Durch diesen Prozess ist das Kernholz weniger anfällig für Mikroorganismen und es besitzt eine größere Dauerhaftigkeit als das Splintholz. Weiterhin ist es nicht mehr an der Wasserleitung beteiligt, sondern nur noch für die mechanische Festigung des Baumes verantwortlich.

Anhand der unterschiedlichen Holzentwicklung unterteilt man die Hölzer in Kernholz-, Reifholz- und Splintholzarten. Bei den Kernhölzern, zu denen unter anderem Eiche und Robinie gehören, ist das Kernholz deutlich dunkler als das Splintholz und weist zusätzlich einen geringeren Wassergehalt auf. Der Kern der Reifholzarten unterscheidet sich im Wassergehalt, jedoch nicht in der Farbe zum Splint. Reifhölzer sind z.B. die Rotbuche und Weißtanne. Die Splintholzarten hingegen weisen im Querschnitt keine Unterschiede im Wassergehalt und in der Farbe des Holzes auf.

### 1.3.1.5. Mark

Das Holzmark befindet sich im Zentrum des Stammes und besteht aus Parenchymzellen, die im weiteren Wachstum absterben. Dadurch dient es nur im ersten Lebensjahr der Wasserleitung.

### 1.3.2. Mikroskopischer Aufbau

Holz besteht aus verschiedenen, unterschiedlich gebauten Holzzellen, den Tracheiden (Durchmesser ca. 50  $\mu$ m). Sie besitzen einen jahreszeitlich wechselnden Aufbau. Im Frühjahr entstehen dünnwandige und großlumige Zellen, die das Frühholz bilden. Das Spätholz, das im Sommer gebildet wird, besitzt hingegen dickwandige und englumige Zellen. Zusammen bilden Früh- und Spätholz eines Jahres einen Jahresring, der makroskopisch sichtbar ist. Anhand der Jahresringe lässt sich das Alter eines Baumes bzw. des Holzes bestimmen.

Beim mikroskopischen Aufbau von Holz muss man weiterhin Nadelhölzer von Laubhölzern unterscheiden.

### 1.3.2.1. Nadelhölzer

Nadelhölzer bestehen zu 90-95% aus Tracheiden und zu 5-10% aus Parenchymzellen.

Tracheiden sind langgestreckte, hauptsächlich axial ausgerichtete tote Zellen, die der Wasserleitung sowie der Speicherung von Nährstoffen dienen und die mechanische Stabilität des Holzes bedingen. Sie sind je nach Wachstumsperiode dick- oder dünnwandig und untereinander über Tüpfel verbunden. Dies sind porenartige, kreisrunde Öffnungen in den Zellwänden, über die das Wasser von Zelle zu Zelle weitergeleitet werden kann. Insgesamt unterscheidet man drei verschiedene Zelltypen: weitlumige und dünnwandige Leitungstracheiden (Frühholztracheiden), englumige und dickwandige Fasertracheiden (Spätholztracheiden) und radial verlaufende Holzstrahltracheiden, die die Parenchymzellen begleiten.

Die Aufgaben der Parenchymzellen sind Aufnahme, Speicherung, Transport und Abgabe von Nährstoffen. Diese Zellen stehen auch über Tüpfel untereinander und mit den Tracheiden in Verbindung. Sie bilden eine oder mehrere Zellreihen, so genannte Markstrahlen. Sowohl die primären als auch die sekundären Markstrahlen verlaufen strahlig von der Rinde zum Mark, jedoch sind die sekundären Markstrahlen etwas verkürzt. Die Markstrahlen können einerseits wie z.B. bei bestimmten Kieferarten von Fasertracheiden umgeben sein, andererseits können diese Tracheiden, wie z.B. bei der Weißtanne, fehlen.

Ein weiterer Bestandteil im Holzinnern sind die Harzkanäle, die nicht bei allen Nadelholzarten vorkommen. Sie verlaufen in vertikaler Richtung und sind je nach Nadelholz von dick- oder dünnwandigen Epithelzellen umgeben. Die Epithelzellen werden auch als parenchymatische Exkretzellen bezeichnet und bewirken die Harzproduktion und -ausscheidung.

### 1.3.2.2. Laubhölzer

Wie bei den Nadelhölzern verlaufen die Tracheiden in axialer Richtung und machen den Hauptbestandteil der Laubhölzer aus. Es sind jedoch deutlich mehr Zelltypen als bei den Nadelhölzern vorhanden. Am häufigsten kommen die Fasertracheiden und die Libriformfasern vor, die die Holzfestigkeit, die Dichte und das Quellvermögen des Holzes beeinflussen. Während die Fasertracheiden dickwandige, mit Hoftüpfeln besetzte Zellwände besitzen und für die Wasserleitung und Festigkeit des Holzes verantwortlich sind, haben die Libriformfasern noch dickere Zellwände mit spaltartigen Tüpfeln und sind nur für die Holzfestigkeit zuständig.

Die lebenden Parenchymzellen, die man wie auch bei den Nadelhölzern in den Markstrahlen findet, sind ein weiterer Bestandteil des Holzes.

Ein besonderes Merkmal stellen die Tracheen der Laubhölzer dar. Diese großlumigen Gefäße, die je nach Holzart unterschiedlich lang sind und einen unterschiedlichen Durchmesser (zw. 20 und 350 µm) besitzen, bestehen aus toten, verholzten Zellen. Sie verlaufen ebenfalls in axialer Richtung und dienen der Wasserleitung im Baum. Die Zellwände der Tracheen können dick- oder dünnwandig sein.

### 1.3.3. Holzchemie

Die Holzzellen enthalten verschiedene chemische Bestandteile. Sie bestehen aus:

- Zellulose (40-50%)
- Lignin (20-30%)
- Hemizellulose / Polyosen (20-30%)
- Akzessorischen Bestandteilen (1-3%)
- Asche (0,1-0,5 %)

Zellulose und Hemizellulose stellen die Gerüst- und Stützsubstanzen der Zellwand dar. Sie verleihen der Zelle eine hohe Formstabilität und sind für die Zug- und Biegefestigkeit des Holzes verantwortlich. Während die Zellulose ein Polysaccharid aus 1,4-verknüpften β-Glucose-Einheiten ist, ist die Hemizellulose ein Polysaccharid, das aus verschiedenen Kohlenhydraten, ausgenommen Glucose, besteht. Zu den Bausteinen gehören Hexosen (z.B. Mannose) und Pentosen (z.B. Xylose).

Lignin, ein phenolisches Makromolekül, kann als Abkömmling des Phenylpropans betrachtet werden und tritt als Begleiter der Zellulose auf. Es ist in die Zellwand eingelagert und hält die einzelnen Zellulosefasern zusammen. Zu den Aufgaben gehören unter anderem die Aufnahme von Druckbelastung, der Schutz gegen das Eindringen von Wasser und die Bildung eines festen starren Verbundes zwischen den Zellen. Das Lignin verschiedener Holzarten wird durch den prozentualen Anteil der Alkohole unterschieden.

Die akzessorischen Bestandteile werden auch als Extrakt- oder Begleitstoffe bezeichnet und sie stellen keine Strukturelemente der Zellwände dar. Zu diesen Stoffen gehören unter anderem Stärke, Zucker, Fette, Eiweiße, Phenole, Wachse, Pektine, Gerbstoffe (nur bei Laubhölzern), Sterine, Harze und Terpene. Weiterhin kann man diese Stoffe auch in primäre Extraktstoffe, die vor allem im Splitholz

vorkommen, und in sekundäre Extraktstoffe, deren Hauptanteil im Kern zu finden ist, einteilen. Der Gehalt an Begleitstoffen ist abhängig von der Holzart. Es können jedoch auch Unterschiede innerhalb einer Holzart (z.B. nach dem Standort des Baumes) und innerhalb der verschiedenen Teile eines Baumes auftreten.

### 2. Material und Methoden

### 2.1. Überblick über den Versuchsablauf

Die keimreduzierende Holzwirkung wurde überprüft, indem man Brettchen der sieben Hölzer mit verschiedenen Keimen kontaminierte. Jedes Holzbrettchen hatte eine Größe von 25 x 10 x 1,5 cm und wurde mit verschiedenen Keimsuspensionen kontaminiert. Von jedem Keim wurden Suspensionen mit zwei unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt: 5 x 10<sup>5</sup> bzw. 5 x 10<sup>7</sup> KBE/ml. Mit einer Pipette wurden je 20 µl der hergestellten Keimlösungen auf die Holzbrettchen gegeben und auf einer Fläche von 10 cm² ausgestrichen. Dadurch betrug die Kontamination der Hölzer 10<sup>3</sup> bzw. 10<sup>5</sup> KBE/cm<sup>2</sup>, was einer absoluten Keimzahl von 10<sup>4</sup> bzw. 10<sup>6</sup> KBE/10cm<sup>2</sup> entspricht. Von diesen kontaminierten Flächen wurde die Oberflächenkeimzahl mittels RODAC-Abklatschplatten (Columbia-Blut-Abklatschagar Nr. 380e der Fa. Heipha, Heidelberg) bestimmt. Die Keimzahlbestimmungen erfolgten zu den Zeitpunkten 0 Minuten, 30 Minuten, 1 Stunde, 4 Stunden und 24 Stunden. Zu den entsprechenden Zeitpunkten wurden die Platten jeweils für 15 Sekunden mit einem Gewicht von 500 g auf die Holzflächen angedrückt. Nach erfolgtem Abklatsch wurden die Agarplatten bei 36°C im Brutschrank kultiviert. Die Dauer der Bebrütung betrug 24 Stunden, nur Mycobacterium terrae wurde aufgrund des langsamen Wachstums für 48 Stunden im Brutschrank belassen. Nach der entsprechenden Inkubationszeit erfolgte die Auszählung der gewachsenen Kolonien.

Alle Versuche wurden insgesamt dreimal durchgeführt.

### 2.2. Untersuchungsmaterial

### 2.2.1. Hölzer

In den folgenden Versuchen wurden sieben verschiedene Hölzer auf ihre antimikrobiellen Eigenschaften hin untersucht: Kiefer-Splintholz, Kiefer-Kernholz, Reifholz der Weißtanne, Rotbuche-Normalkernholz, Rotbuche-Rotkernholz, Kernholz der Eiche und Kernholz der Robinie.

Das Kiefer-Kernholz, das auch die Bezeichnung Hygieneholz besitzt, wurde von der Firma Gustav Wilms Holzprodukte (Bad Essen-Barkhausen) mit einem patentierten Wasch- und Trocknungsverfahren vorbehandelt. Dieses Verfahren bewirkt eine Verstärkung des bioziden Effektes. Alle anderen Hölzer stellte die

Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg (Wonnhaldestraße 4, 79100 Freiburg) zur Verfügung.

Die verschiedenen Holzbrettchen, die tangential geschnitten waren, wurden mit einer Größe von 25  $\times$  10  $\times$  1,5 cm angeliefert. Auf diese Brettchen wurden mit einem Bleistift Quadrate mit einer Fläche von 10 cm² aufgezeichnet.

### 2.2.1.1. Gemeine Kiefer (Pinus sylvestris)



Abbildung 2: Pinus sylvestris

Die Gemeine Kiefer (siehe Abbildung 2) gehört zu den Nadelhölzern und zu den Kernhölzern. Sie ist vor allem in Europa und Nordasien zu finden.

In den folgenden Versuchen wurden unbehandeltes Splintholz und vorbehandeltes Kernholz der Gemeinen Kiefer verwendet.

Makroskopie: Die gemeine Kiefer besitzt lange und spitze Nadeln, die paarweise an den Kurztrieben sitzen. Ihre Zapfen sind gestielt, kurz und hängend. Die Baumrinde besitzt eine gelb-rötliche Farbe und ist im unteren Stammabschnitt dickborkig und weiter oben dünn, glatt und pergamentartig. Das Splintholz

ist ebenfalls gelb-rötlich, sehr breit (ca. 5-10 cm) und heller als das Kernholz, welches eine gelblich bis rötlichbraune Färbung aufweist.

<u>Mikroskopie:</u> Das Holz der Gemeinen Kiefer besitzt den typischen Nadelholzaufbau (siehe Kapitel 1.3.2.1). Es besteht vorwiegend aus Tracheiden, die deutlich sichtbare Jahresringe bilden, und aus Parenchymzellen, die die Markstrahlen bilden. Weiterhin besitzt die Kiefer im Holzinnern Harzkanäle.

### 2.2.1.2. Weißtanne (Abies alba)

Die Weißtanne (siehe Abbildung 3 und 4) ist ein Nadelholz und gehört zu den Reifholzarten, d.h., dass sich Kern- und Splintholz zwar im Wassergehalt, nicht aber in der Farbe unterscheiden. Sie ist vor allem in Süd- und Mitteleuropa zu finden.

Für die folgenden Untersuchungen wurde Reifholz der Weißtanne verwendet.

Makroskopie: Die Zapfen der Weißtanne sind groß und aufrecht stehend. Ihre Nadeln sind flach, gescheitelt und an der Spitze eingekerbt. Während die Oberseite der Nadeln grün ist, weist die Unterseite zusätzlich helle Längsstreifen auf. Die Rinde der Weißtanne besitzt eine weiße bis silbergraue Farbe. Das Holz weist





Abbildung 3: Abies alba

Abbildung 4: Abies alba

keine Kernfärbung auf und hat eine gelblichweiße bis rötlichweiße Farbe mit grauem Schimmer.

Mikroskopie: Mikroskopisch ist die Weißtanne wie alle anderen Nadelhölzer aufgebaut (siehe Kapitel 1.3.2.1), jedoch fehlen bei ihr die Harzkanäle. Die Tracheiden sind so angeordnet, dass sie runde Jahresringe bilden.

### 2.2.1.3. Rotbuche Normal- und Rotkernholz (Fagus sylvatica)



Abbildung 5: Fagus sylvatica

Die Rotbuche (siehe Abbildung 5) kommt vor allem in Mitteleuropa vor und gehört zu den Laubbäumen und Reifholzarten, d.h., dass sich Splint und Kern farblich nicht voneinander unterscheiden, jedoch einen unterschiedlichen Wassergehalt aufweisen. Dazu ist aber zu vermerken, dass der Unterschied im Wassergehalt deutlich geringer ausgeprägt ist als bei anderen Reifholzarten und dass auch im Kern, nicht wie bei anderen Reifhölzern, Wasser weitergeleitet wird. Weiterhin ist auch zu der Farbe eine Bemerkung zu machen: Wie gesagt weisen Splint und Kern

meistens keinen farblichen Unterschied auf, jedoch kann im höheren Baumalter, ab etwa 80 Jahren, ein Rotkern bzw. Scheinkern ausgebildet werden. Dieser Vorgang stellt eine normale Alterserscheinung der Rotbuche dar und nimmt mit steigendem Alter des Baumes zu.

In den folgenden Versuchen wurden Rotkern- und Normalkernbrettchen der Rotbuche getestet.

<u>Makroskopie:</u> Sie besitzt gestielte Laubblätter. Ihre Früchte, die Bucheckern, sind dreikantig und die Rinde ist sehr dünn und silbergrau. Das Holz hat eine gelbrötliche bis rötlichbraune Farbe.

Mikroskopie: Die Anordnung der Holzzellen bewirkt wellig verlaufende Jahresringe. Die Tracheen stellen sich abhängig von der Jahreszeit unterschiedlich dar. Im Frühholz sind die Gefäße zerstreut und meist mit bloßem Auge nicht erkennbar. Im

Spätholz befinden sich weniger und feinere Gefäße. Die Holzstrahlen sind unregelmäßig verteilt und unterschiedlich breit.

### 2.2.1.4. Eiche (Quercus sp.)



Abbildung 6: Quercus sp.

Die Eiche (siehe Abbildung 6) gehört zu den Laubhölzern und zu den Kernhölzern, d.h., dass sich Kern und Splint sowohl in der Farbe als auch im Wassergehalt unterscheiden. Weiterhin gehört sie zur Gattung der Buchengewächse.

Für die Untersuchungen wurde Kernholz der Eiche verwendet.

Makroskopie: Sie besitzt gesägte bis gelappte Blätter, weibliche und männliche Blüten. Ihre Früchte werden

Eicheln genannt. Die Rinde besitzt eine graugrüne Farbe und weist in Längsrichtung tiefe Risse auf. Das Kernholz der Eiche lagert Gerbsäuren ein und hat dadurch eine grau-braune Farbe, einen sauer-würzigen Geruch und eine hohe Verrottungsbeständigkeit. Das Kernholz ist vom helleren, gelblich-weißen Splintholz umgeben, welches ca. 2-5 cm breit ist.

<u>Mikroskopie:</u> Der mikroskopische Aufbau ist dem Kapitel 1.3.2.2 zu entnehmen. Als Besonderheit gilt es jedoch zu erwähnen, dass die Anordnung der Tracheen von der Jahreszeit abhängig ist. Im Frühholz sind sie grob und ringförmig, im Spätholz klein und in radialen Gruppen angeordnet.

### 2.2.1.5. Robinie (Robinia pseudoacacia)



Abbildung 7: Robinia pseudoacacia

Die Robinie (siehe Abbildung 7), die auch als "Falsche Akazie" bezeichnet wird, gehört zu den Laubhölzern und Kernholzarten. Sie stammt aus dem östlichen Nordamerika und wurde Anfang des 17. Jahrhunderts nach Frankreich eingeführt. Mittlerweile ist sie stark verbreitet. Eine Besonderheit besteht in ihrer Zugehörigkeit zu den Schmetterlingsblütlern, d.h., dass sie mit Hilfe eines Bakteriums, welches in ihren Wurzeln vorkommt, die Fähigkeit besitzt, Luftstickstoff zu binden und diesen im Boden anzureichern. Ebenfalls hervorzuheben ist, dass die Robinie sehr verwitterungsresistent ist.

In den folgenden Versuchen wurde das Kernholz der Robinie untersucht.

Makroskopie: Ihre Blätter sind unpaarig gefiedert und bestehen aus 9-21 Teilblättchen. Sie besitzt weiße, zwittrige Blüten, die traubenförmig angeordnet sind und bandförmige, ledrige Fruchthülsen. Der Stamm der Robinie verzweigt sich meistens bereits ab einer Höhe von einem Meter. Ihre Rinde ist dickborkig, blaugrau und enthält schräg verlaufende Risse. Das Splintholz, welches sehr schmal ist, besitzt eine hellgelbe bis grünliche Farbe und grenzt sich deutlich vom Kernholz ab, das gelb- bis braungrün ist.

Mikroskopie: Der mikroskopische Aufbau entspricht dem der Laubhölzer (Kapitel 1.3.2.2). Im Frühholz sind die Gefäße ringförmig angeordnet, im Spätholz sind sie durch feine und helle Speicherzellenfelder markiert. Die Holzstrahlen sind fein und verlaufen unregelmäßig. Eine weitere Besonderheit der Robinie ist, dass sie die Giftstoffe der Lektine enthält. Sie sind vor allem in der Borke und in den Samen zu finden, jedoch weisen auch das Holz und die Blüten Lektine auf. Bei Aufnahme von Samen oder Kauen von Rinde kommt es bei Mensch und Tier zu Vergiftungssymptomen. Auch bei der Verarbeitung von Robinienholz sind Vergiftungen durch Stäube möglich.

### 2.2.2. Mikroorganismen

Alle Keime stammen aus der Laborsammlung des Instituts für Umweltmedizin und Krankenhaushygiene Freiburg.

Die antimikrobielle Eigenschaft der verschiedenen Hölzer wurde mit folgenden Keimen getestet, die vor allem eine große Rolle bei nosokomialen Infektionen spielen: MRSA, VRE, E. coli, A. baumannii, M. terrae und C. albicans.

### 2.2.2.1. Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus (MRSA 2728)

Staphylokokken sind grampositive, fakultativ anaerobe, nicht-sporenbildende, koagulasepositive Kokken. Sie ordnen sich aufgrund ihrer Unbeweglichkeit in Haufen an. In der Bevölkerung sind in etwa 1/3 bis 1/2 der Gesunden mit methicillin-sensiblen Staphylokokken (MSSA) kolonisiert, deren primäres Habitat das Nasenantrum ist. Nur ca. 1% der Bevölkerung weist MRSA auf. Die Besonderheit von MRSA ist das Vorhandensein einer Methicillinresistenz, die durch ein zusätzliches Penicillinbindeprotein verursacht wird. Das Penicillinbindeprotein bewirkt eine Resistenz gegenüber allen Beta-Lactam-Antibiotika (Penicilline, Cephalosporine und Carbapeneme). Infektionen mit MRSA sind nicht häufiger als mit MSSA, jedoch sind sie deutlich schwieriger zu behandeln.

Staphylokokken verursachen Infektionen durch Invasivität und Abszessbildung (z.B. Folliculitis, Furunkel, Karbunkel, Arthritis, Osteomyelitis, Pneumonie, Meningitis, Endocarditis, Sepsis), durch Invasivität und Toxizität (z.B. Lyell-Syndrom, Toxisches Schocksyndrom) und Infektionen durch Toxinwirkung und Lebensmittelvergiftung (z.B. Enterokolitis, Enteritis).

### 2.2.2.2. Vancomycin-resistenter Enterococcus faecium (VRE 860)

Enterokokken sind grampositive, fakultativ anaerobe, nicht-sporenbildende Streptokokken der Lancefield-Gruppe D. Weitere Charakteristika sind die meist paarweise Anordnung und die Unbeweglichkeit der Enterokokken. Sie gehören zu der physiologischen Darmflora, können aber auch Erkrankungen wie Harnwegsinfekte, Enteritiden, Wundinfektionen, Septikämien und Endokarditiden verursachen. Die Besonderheit von VRE ist, dass sie einen Resistenzmechanismus gegenüber dem Antibiotikum Vancomycin besitzen. Die Resistenz kommt dadurch zustande, dass in den Seitenketten des Mureins eine andere Aminosäure eingebaut wird, wodurch die Zellwandsynthese nicht mehr gehemmt werden kann.

### 2.2.2.3. Escherichia coli (E. coli 1000)

Escherichia coli gehört zur Familie der Enterobacteriaceae. Hierbei handelt es sich um gramnegative, fakultativ anaerobe, nicht-sporenbildende Stäbchenbakterien. Sie sind peritrich begeißelt und somit beweglich. Man unterscheidet apathogene Kolibakterien, die ca. 1% der physiologischen Darmflora ausmachen und keine Erkrankungen verursachen, von pathogenen Kolibakterien. E. coli ist unter den Enterobacteriaceae der häufigste Erreger nosokomialer Infektionen. Er verursacht einerseits intestinale Erkrankungen (z.B. Diarrhöen) und andererseits extraintestinale Erkrankungen (z.B. Harnwegsinfektionen, Wundinfektionen sowie Cholangitis, Meningitis und Sepsis). Extraintestinale Infektionen entstehen vor allem bei immunsupprimierten Patienten oder bei Patienten mit entsprechenden Dispositionen.

### 2.2.2.4. Acinetobacter baumannii (RUH 875)

Dies sind gramnegative, aerobe, kokkoide Stäbchenbakterien, die oft paarweise vorliegen. Es handelt sich um nicht-fermentierende Bakterien, die unbegeißelt und somit unbeweglich sind. A. baumannii kommt ubiquitär vor und weist eine hohe Resistenz gegenüber Umwelteinflüssen auf. Beim Menschen ist er hauptsächlich Bestandteil der normalen Haut- und Schleimhautflora. Meist ist er Auslöser von

nosokomialen, seltener von ambulant erworbenen Infektionen. Zu den Infektionen gehören unter anderem Harnwegsinfektionen, Pneumonien, Weichteilinfektionen, Wundinfektionen und Bakteriämien.

### 2.2.2.5. Mycobacterium terrae

Mykobakterien sind unbewegliche, nicht-sporenbildende, gramnegativ färbende Stäbchenbakterien, die jedoch einen grampositiven Zellwandaufbau besitzen. Die Gramfärbung wird verhindert, weil die Zellwand zusätzlich einen hohen Lipidanteil besitzt, der wässrige Farblösungen nicht annimmt. Sie werden auch als säurefeste Stäbchen bezeichnet, da sie sich nach Spezialfärbungen auch mit Salzsäure-Alkohol-Mischungen nicht mehr entfärben lassen, was am Vorkommen von Mykolsäuren in der Zellwand liegt. Die Mykobakterien kommen ubiquitär vor.

### 2.2.2.6. Candida albicans (C. albicans 40)

Candida albicans ist eine polymorphe Hefe mit einem diploiden Chromosomensatz von 8 Chromosomen. Diese einzelligen Eukaryoten vermehren sich durch Sprossung. C. albicans kann in der oralen, gastrointestinalen und vaginalen Flora vorkommen, ohne eine pathologische Bedeutung zu haben. Eine Infektion - in der Regel handelt es sich um eine endogene Infektion - entsteht, wenn lokale Veränderungen, wie z.B. eine mechanische Reizung der Haut, oder systemische Veränderungen, wie z.B. eine hormonelle Dysbalance, Diabetes mellitus oder Immunsuppression, bei besiedelten Patienten vorliegen. Candida albicans ist somit hauptsächlich ein opportunistischer Erreger und kann oberflächliche Candidosen (z.B. Mundsoor, Vulvovaginitis, Windeldermatitis, Haut- und Nagelmykosen), tiefe Candidosen (z.B. Soor-Oesophagitis, Harnwegsinfekte, Pneumonien, Peritonitis) und systemische Candidosen (z.B. Candida-Sepsis) auslösen.

### 2.3. Versuchsablauf

### 2.3.1. Herstellung der Keimsuspension

Für die Versuche wurde von allen Keimen, mit Ausnahme von C. albicans, eine Lösung mit einer Ausgangskeimkonzentration von 10<sup>8</sup> KBE/ml hergestellt. C. albicans wurde hingegen auf 10<sup>7</sup> KBE/ml eingestellt. Die Einstellung dieser Ausgangskonzentrationen erfolgte mit Hilfe eines Photometers nach den keimspezifischen Eich-Extinktionswerten. Dazu wurden in ein Reagenzröhrchen 4 ml 0,9%ige NaCl-Lösung pipettiert und als Referenz verwendet. Ein zweites

Röhrchen, das ebenfalls 4 ml 0,9%iger NaCl-Lösung enthielt, wurde auf den Nullwert geeicht. In diesem Reagenzglas wurde der entsprechende Keim, der mittels einer abgeflammten Öse von der Blutagarplatte entnommen worden war, gelöst und auf die Ausgangskonzentration von  $10^8$  KBE/ml, bzw.  $10^7$  KBE/ml bei C. albicans, eingestellt. Die für die einzelnen Keime einzustellenden Extinktionswerte, gemessen bei einer Wellenlänge von  $\lambda$  = 620 nm, waren bereits bekannt und betrugen für MRSA 0,11, für VRE 0,13, für E. coli 0,16, für A. baumannii 0,19 und für M. terrae 0,25. Der Extinktionswert für C. albicans wurde bei einer Wellenlänge von  $\lambda$  = 450 nm gemessen und betrug 0,24. Je nach Versuch wurden von diesen Ausgangssuspensionen unterschiedliche Verdünnungsschritte vorgenommen.

### 2.3.2. Verdünnungsschritte

Wie schon oben in der Versuchsbeschreibung erwähnt, wurden die Hölzer mit zwei verschiedenen Keimkonzentrationen kontaminiert, so dass die Kontamination auf den Holzbrettchen 10<sup>3</sup> und 10<sup>5</sup> KBE/cm<sup>2</sup> betrug. Aus diesem Grund war eine weitere Verdünnung der Ausgangskonzentration notwendig, um Keimsuspensionen mit den entsprechenden Konzentrationen zu erhalten.

# • Versuche mit der niedrigen Keimkonzentration von 5 x 10<sup>5</sup> KBE/ml

Um eine Verdünnung der Keimsuspension mit einer Ausgangskonzentration von 1 x 10<sup>8</sup> KBE/ml auf 5 x 10<sup>5</sup> KBE/ml zu erreichen, mussten mehrere Verdünnungsschritte durchgeführt werden. Diese Schritte sind der Abbildung 8 zu entnehmen. Als Erstes wurden 0,1 ml der Ausgangskeimsuspension in 9,9 ml 0,9%ige NaCl-Lösung pipettiert, wodurch man eine Lösung mit einer Konzentration von 1 x 10<sup>6</sup> KBE/ml erhielt. Diese Keimsuspension wurde weiter auf eine Konzentration von 5 x 10<sup>5</sup> KBE/ml verdünnt, indem 0,9 ml 0,9%ige NaCl-Lösung, 1,0 ml der Keimsuspension mit einer Konzentration von 10<sup>6</sup> KBE/ml und 0,1 ml steriles Pferdeblut (Fa. ACILA GmbH, Mörfelden-Walldorf) vermischt wurde. Das Pferdeblut (5%ig) wurde hinzugefügt, um die Oberflächenspannung zu verringern. Somit ließ sich die Lösung besser auf dem Holz verteilen.

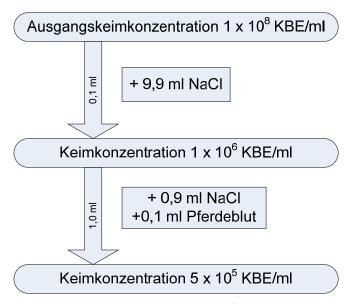


Abbildung 8: Verdünnungsschritte von 1 x 10<sup>8</sup> KBE/ml auf 5 x 10<sup>5</sup> KBE/ml

Alle Keime mit Ausnahme von C. albicans wurden nach dem in Abbildung 8 dargestellt Schema verdünnt.

Bei den Versuchen mit C. albicans ging man, wie in Abbildung 9 ersichtlich, von einer Ausgangskeimkonzentration von 1 x  $10^7$  KBE/ml aus. Aus diesem Grund wurden andere Verdünnungsschritte durchgeführt, um eine Keimsuspension mit einer Konzentration von 5 x  $10^5$  KBE/ml zu erreichen. Zuerst wurde die Ausgangslösung auf eine Konzentration von 1 x  $10^6$  KBE/ml verdünnt, indem man 0,1 ml Ausgangslösung in 0,9 ml 0,9%ige NaCl-Lösung pipettierte. Um schließlich eine Keimkonzentration von 5 x  $10^5$  KBE/ml zu erreichen, mischte man 1 ml der Keimsuspension mit 0,9 ml 0,9%iger NaCl-Lösung und mit 0,1 ml sterilem Pferdeblut.

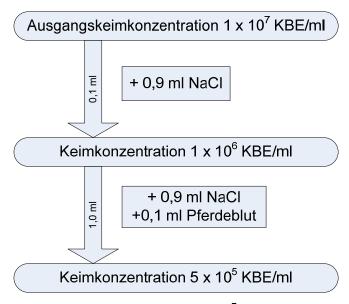


Abbildung 9: Verdünnungsschritte von 1 x 10<sup>7</sup> KBE/ml auf 5 x 10<sup>5</sup> KBE/ml

# • Versuche mit der höheren Keimkonzentration von 5 x 10<sup>7</sup> KBE/ml

Um eine Verdünnung der Ausgangslösung von 1 x  $10^8$  auf 5 x  $10^7$  KBE/ml zu erreichen, wurde 1,0 ml der Ausgangskeimsuspension in 0,9 ml 0,9%ige NaCl-Lösung pipettiert und anschließend 0,1 ml steriles Pferdeblut hinzugegeben. Dieser Verdünnungsschritt ist übersichtlich in Abbildung 10 dargestellt.

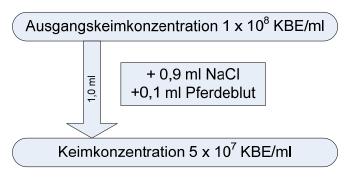


Abbildung 10: Verdünnungsschritte von 1 x 10<sup>8</sup> KBE/ml auf 5 x 10<sup>7</sup> KBE/ml

Alle Keime mit Ausnahme von C. albicans wurden nach dem Schema in Abbildung 10 verdünnt.

Bei C. albicans betrug die Konzentration der Ausgangslösung 1 x  $10^7$  KBE/ml. Aus diesem Grund wurden zu 4 ml dieser Suspension nur 20  $\mu$ l sterilen Pferdeblutes hinzugegeben, was die Keimkonzentration nicht wesentlich veränderte (siehe Abbildung 11).

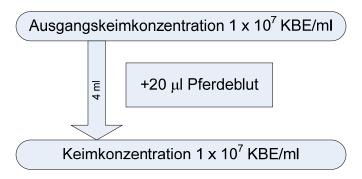


Abbildung 11: Herstellung der C. albicans - Suspension mit 1 x 10<sup>7</sup> KBE/ml

### 2.3.3. Verdünnungskontrollen

Bei jedem Versuch wurde die Keimzahl der auf die Holzbrettchen pipettierten Keimsuspensionen kontrolliert. Dazu wurden die hergestellten Keimsuspensionen mit den Konzentrationen 5 x 10<sup>5</sup> bzw. 5 x 10<sup>7</sup> KBE/ml verwendet. Da diese Keimkonzentrationen auf einer Agarplatte nicht auszuzählen waren, erfolgte auch hier noch einmal eine Verdünnung auf 5 x 10<sup>3</sup> KBE/ml. Für diese Verdünnung wurde ebenfalls 0,9%ige NaCl-Lösung verwendet. Im Folgenden werden die

Verdünnungsschritte für die Kontrollen der verschiedenen Keimsuspensionen dargestellt.

- Herstellen der Verdünnungskontrollen für die Suspensionen mit 5 x 10<sup>5</sup> KBE/ml:
   0,1 ml (5 x 10<sup>5</sup> KBE/ml) + 9,9 ml NaCl → 10 ml (5 x 10<sup>3</sup> KBE/ml)
- Herstellen der Verdünnungskontrollen für die Suspensionen mit 5 x 10<sup>7</sup> KBE/ml:
   0,1 ml (5 x 10<sup>7</sup> KBE/ml) + 9,9 ml NaCl → 10 ml (5 x 10<sup>5</sup> KBE/ml)
  - → 0,1 ml (5 x  $10^5$  KBE/ml) + 9,9 ml NaCl → 10 ml (5 x  $10^3$  KBE/ml)

Nach erfolgter Verdünnung wurden 20 µl und 50 µl der Suspension auf einer Blutagarplatte ausgespatelt. Die Platten wurden im Brutschrank bei 36°C für 24 bzw. 48 Stunden inkubiert, worauf die Auszählung der Kolonien mit einem Erwartungswert von 100 bzw. 250 Kolonien pro Agarplatte erfolgte.

### 2.3.4. Probennahme

Von den hergestellten Keimsuspensionen von 5 x  $10^5$  bzw. 5 x  $10^7$  KBE/ml wurden mittels einer Pipette je 20 µl auf die eingezeichneten Quadrate aufgetragen und gleichmäßig auf 10 cm² verteilt, wodurch man die gewünschte Keimkonzentration von  $10^3$  bzw.  $10^5$  KBE/cm² auf den Holzflächen erreichte. Einzig bei C. albicans erhielt man in der höheren Konzentration auf den Holzflächen nur eine Keimkonzentration von 2 x  $10^4$  KBE/cm², da hier nur 20 µl von der Suspension mit 1 x  $10^7$  KBE/ml auf die Brettchen gegeben wurden. Um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, muss eine Hochrechnung um den Faktor 5 erfolgen.

Die Keimzahlbestimmung erfolgte mit dem RODAC-Abklatschverfahren (Columbia-Blutagar-Platten der Fa. Heipha in Heidelberg) zu bestimmten Zeitpunkten (0 Minuten, 30 Minuten, 1 Stunde, 4 Stunden und 24 Stunden). Die Abklatschplatten besitzen eine leicht nach oben gewölbte Kontaktfläche, die ca. 25 cm² groß ist und leicht auf Oberflächen aufgedrückt werden kann. Die Platten wurden zu den entsprechenden Zeitpunkten für 15 Sekunden mit einem Gewicht von 500 g auf die kontaminierten Holzflächen gedrückt. Nach erfolgtem Abklatsch wurden sie mit einer Kunststoffschutzkappe verschlossen und bei 36°C im Brutschrank für 24 Stunden bzw. für 48 Stunden (im Falle der Mykobakterien) inkubiert.

### 2.3.5. Auszählung der Kolonien

Nach der Inkubation erfolgte die Auszählung der Kolonien, die auf den Agarplatten gewachsen waren. Die Kolonien konnten anhand der typischen Kolonie-

morphologie (Farbe, Form, Konsistenz) identifiziert und ausgezählt werden. Es standen von allen Mikroorganismen Ausgangsplatten zur Verfügung, anhand derer man die Kolonien vergleichen konnte.

Es wurden jedoch nur die Platten ausgezählt, auf denen weniger als 350 Kolonien gewachsen waren. Der Grund hierfür ist, dass man ab dieser Anzahl die Kolonien nicht mehr eindeutig voneinander abgrenzen und somit nicht mehr quantifizieren kann.

Insgesamt wurden pro Keim und Konzentration drei Versuche durchgeführt. Die ausgezählten Kolonien wurden anschließend tabellarisch zusammengetragen, um einen besseren Vergleich zu haben und um anschließend eine Graphik mit den Keimzahlen zu erstellen.

Die Holzbrettchen wurden nicht vorbehandelt, wodurch die Begleitflora, wie z.B. Mikrokokken und Sporenbildner, in allen Versuchen unberücksichtigt blieb.

### 2.3.6. Überblick über den Versuchsablauf

Die folgende Abbildung 12 bietet einen kurzen Überblick über den eben ausführlich beschriebenen Versuchsablauf.

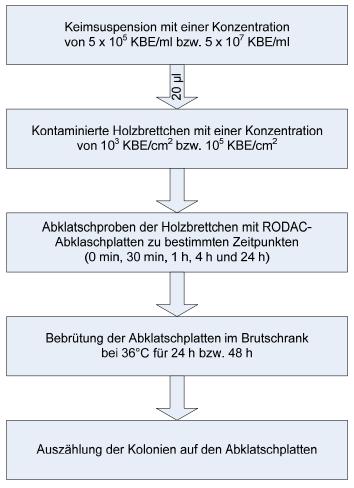


Abbildung 12: Darstellung des Versuchsablaufes

## 3. Ergebnisse

Nach einer Inkubation von 24 bzw. 48 Stunden erfolgte die Auszählung der Kolonien auf den Blutabklatschplatten. Aus den drei Versuchen wurde der Mittelwert für jedes Holz und für jeden Zeitpunkt ermittelt. Anschließend erfolgte die graphische Darstellung dieses Mittelwertes. Die Graphiken wurden angefertigt, um einen besseren Überblick über die Koloniezahlen zu den unterschiedlichen Zeitpunkten zu erhalten und um die Hölzer besser untereinander vergleichen zu können.

Bei den Versuchen mit der niedrigeren Konzentration von 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup> war auf den Hölzern eine deutliche Keimabnahme mit der Zeit zu erkennen. Diese Keimabnahme konnte man durch das Auszählen der Koloniezahlen auf den entsprechenden RODAC-Abklatschplatten nachweisen. Die Koloniezahlen wurden anschließend dokumentiert und graphisch umgesetzt.

Bei Konzentrationen von 10<sup>5</sup> KBE/cm<sup>2</sup> befanden sich meist über 350 Kolonien auf den Agarplatten. Somit lag die Koloniezahl oft über der Zählbarkeitsgrenze und konnte aus diesem Grund nicht eindeutig bestimmt werden.

### 3.1. Betrachtung der einzelnen Keime bezogen auf die Hölzer

### 3.1.1. Versuche mit MRSA

In den Versuchen mit einer Konzentration von 10³ KBE/cm² auf den Holzbrettchen war klar erkennbar, dass auf dem Hygieneholz der Firma Wilms zu allen Zeitpunkten deutlich weniger Keime vorhanden waren als auf den anderen Hölzern. Die Eiche wies ebenfalls sehr geringe Keimzahlen auf. Zum Zeitpunkt 0 Minuten waren auf den Abklatschplatten der Eiche fast genauso wenige Kolonien wie auf den Platten des Kiefer-Hygieneholzes. Bei den Messpunkten 30 Minuten, 1 Stunde und 4 Stunden befanden sich jedoch eindeutig weniger Kolonien auf den Platten des Kiefer-Hygieneholzes. Nach 24 Stunden näherten sich die Keimzahlen beider Hölzer erneut aneinander an. Weiterhin wird in Diagramm 1 ersichtlich, dass sich das Kiefer-Splintholz und die Weißtanne, in Bezug auf die Keimzahlen von 0 Minuten auf 30 Minuten zuerst etwas zu, um anschließend kontinuierlichen Keimzahlabfall der Staphylokokken.

Auf den Holzbrettchen des Rotbuche-Normalkernholzes und Rotbuche-Rotkernholzes, waren zu jedem Zeitpunkt deutlich mehr Keime vorhanden als auf den eben genannten Hölzern. Die Agarplatten der beiden Rotbuchen wiesen einen Anstieg der Koloniezahlen innerhalb der ersten 4 Stunden auf und nach 4 Stunden (Normalkernholz) bzw. 24 Stunden (Rotkernholz) erfolgte eine weitere Reduktion. Auf dem Rotkernholz konnten insgesamt weniger Keime nachgewiesen werden als auf dem Normalkernholz.

Die eindeutig höchste Keimbelastung war auf den Robinienholzbrettchen zu erkennen. Hier erfolgte selbst nach 24 Stunden kein eindeutiger Abfall der methicillin-resistenten Staphylokokken.

Die gesamten Ergebnisse sind dem Diagramm 1 zu entnehmen.

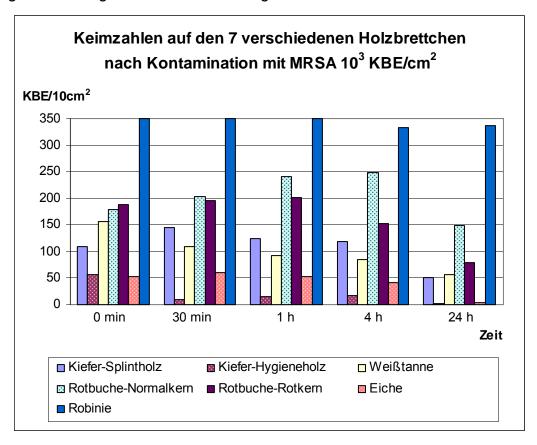


Diagramm 1: Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit MRSA 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup>

Bei den MRSA - Versuchen mit einer Konzentration von 10<sup>5</sup> KBE/cm<sup>2</sup> auf den Holzbrettchen waren mit Ausnahme des Kiefer-Hygieneholzes überall mehr als 350 Kolonien auf den Abklatschplatten zu verzeichnen. Die Koloniezahlen lagen deutlich über der Zählbarkeitsgrenze. Einzig das Kiefer-Hygieneholz wies nach 4 Stunden eine deutliche Keimreduktion auf. Besonders deutlich war diese

Reduktion nach 24 Stunden. Hier lag ein Durchschnittswert von 7 KBE/10cm<sup>2</sup> vor (siehe Diagramm 2).

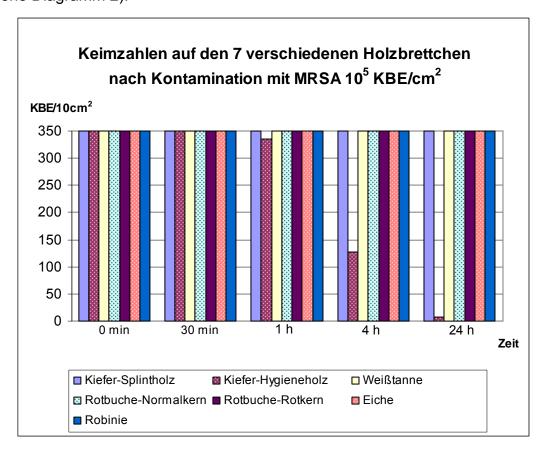


Diagramm 2: Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit MRSA 10<sup>5</sup> KBE/cm<sup>2</sup>

### 3.1.2. Versuche mit VRE

Im Folgenden wurde das Verhalten des vancomycin-resistenten E. faecium mit einer Konzentration von 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup> auf den sieben verschiedenen Hölzern untersucht und in Diagramm 3 dargestellt.

Die beste keimreduzierende Eigenschaft besaß das Hygieneholz. Bereits zum Zeitpunkt 0 Minuten befanden sich bei einer Ausgangskeimzahl von 10<sup>3</sup> KBE/cm² auf dem Hygieneholz Keimzahlen zwischen 75 KBE/10cm² und 85 KBE/10cm². Nach den ersten 30 Minuten fielen diese Werte weiter ab und nach weiteren 30 Minuten begannen sie wieder anzusteigen. Danach erfolgte eine weitere Keimreduktion, so dass das Hygieneholz nach 24 Stunden weniger als 15 KBE/10cm² aufwies.

Die Eiche zeigte, gefolgt von der Weißtanne, die zweitbeste Keimreduktion. Auf dem Eichenholz befanden sich zum ersten Messpunkt Keimzahlen mit einem Mittelwert von 83 KBE/10cm<sup>2</sup>. Anschließend stiegen der Mittelwert bzw. die

Einzelwerte leicht an. Dieser Anstieg erfolgte bis zum 4 Stunden Messpunkt, bei dem ein Mittelwert von 109 KBE/10cm<sup>2</sup> erreicht wurde. Nach diesen ersten 4 Stunden war eine erneute Keimreduktion zu erkennen, so dass nach 24 Stunden im Durchschnitt 34 Kolonien auf den Abklatschplatten der Eiche vorhanden waren. Die Weißtanne ließ ähnliche Keimzahlen wie die Eiche erkennen. Zu Beginn lag der Mittelwert bei 115 KBE/10cm<sup>2</sup>. Insgesamt war die Keimreduktion jedoch geringer als bei der Eiche, da nach 24 Stunden noch fast doppelt so viele Kolonien auf den Agarplatten vorhanden waren.

Bei den beiden Rotbuchen zeigte das Rotkernholz eine etwas bessere Keimabnahme als das Normalkernholz. Beim Rotkernholz fielen die Werte von 227 auf 64 KBE/10cm<sup>2</sup> ab, während beim Normalkernholz nur eine Reduktion von 265 auf 136 KBE/10cm<sup>2</sup> stattfand.

Die mit Abstand höchsten Keimzahlen zu allen Zeitpunkten waren auf den Robinienbrettchen zu erkennen. Hier konnte man auf den Abklatschplatten zu den ersten vier Zeitpunkten (0 min, 30 min, 1 h und 4 h) über 350 Kolonien erkennen. Erst nach 24 Stunden lagen die Ergebnisse mit einem Mittelwert von 325 Kolonien im zählbaren Bereich.

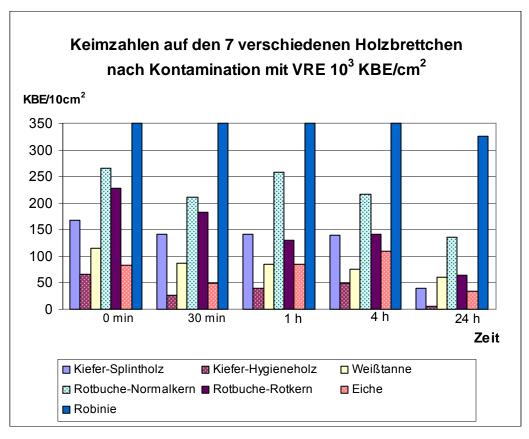


Diagramm 3: Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit VRE 10³ KBE/cm²

Nach Inokulation mit der höheren VRE-Konzentration von 10<sup>5</sup> KBE/cm<sup>2</sup> war auf allen Hölzern und zu allen Zeitpunkten ein Keimwachstum von mehr als 350 KBE/10cm<sup>2</sup> vorhanden. Diese Keimzahlen lagen, wie Diagramm 4 zu entnehmen ist, außerhalb des zählbaren Bereiches.

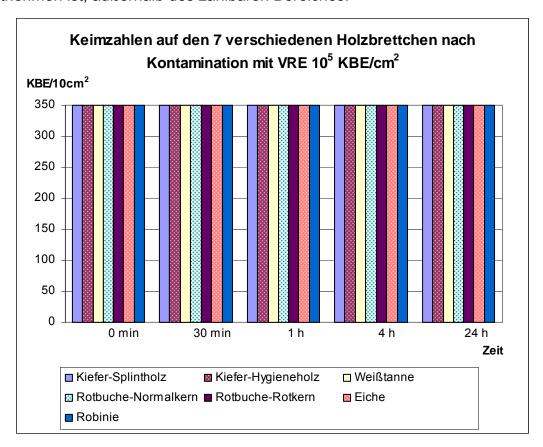


Diagramm 4: Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit VRE 10<sup>5</sup> KBE/cm<sup>2</sup>

### 3.1.3. Versuche mit E. coli

Die beste keimreduzierende Wirkung in den Versuchen mit Escherichia coli zeigten, nach einer Inokulation mit 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup>, das Kiefer-Splintholz, Kiefer-Hygieneholz und Eichenholz (siehe Diagramm 5). Das Kiefer-Splintholz besaß als einziges Holz bereits zum Zeitpunkt 0 Minuten Keimzahlen zwischen 120 und 170 KBE/10cm<sup>2</sup>. Auf den Abklatschplatten aller anderen Hölzer waren über 350 Kolonien vorhanden. Innerhalb der folgenden Stunden nahm die Keimzahl auf dem Kiefer-Splintholz weiter ab, um nach 24 Stunden auf einen Mittelwert von etwa 2 KBE/10cm<sup>2</sup> abzufallen. Dieser Wert war sogar etwas niedriger als der des Kiefer-Hygieneholzes und der Eiche.

Das Kiefer-Hygieneholz und das Eichenholz verhielten sich in Bezug auf die Keimabnahme fast identisch. Bei beiden Hölzern befanden sich beim ersten Messpunkt mehr als 350 Kolonien auf den Platten. Zum Zeitpunkt 30 Minuten war auf den RODAC-Platten ein starker Abfall auf deutlich unter 100 Kolonien festzustellen. Danach fand eine weitere kontinuierliche Reduktion statt.

Die Keimzahlen auf den beiden Rotbuchehölzern verhielten sich zueinander ähnlich, wobei sie auf den Rotbuche-Rotkernholzbrettchen zu fast allen Zeitpunkten, außer nach 24 Stunden, etwas geringer waren. Die Agarplatten des Normalkernholzes zeigten eine Abnahme von über 350 auf 16 Kolonien und die des Rotkernholzes einen Rückgang von ebenfalls über 350 auf 22 Kolonien.

Wie schon bei den vorangegangenen Versuchen wies auch hier die Robinie die schlechteste Keimreduktion auf. Erst nach 1 Stunde befand sich eine zählbare Koloniezahl auf den Agarplatten. Die Keimzahl nahm auch hier in den folgenden Stunden weiter ab und nach 24 Stunden war auf den Robinienholzbrettchen ein Mittelwert von 37 KBE/10cm² erreicht.

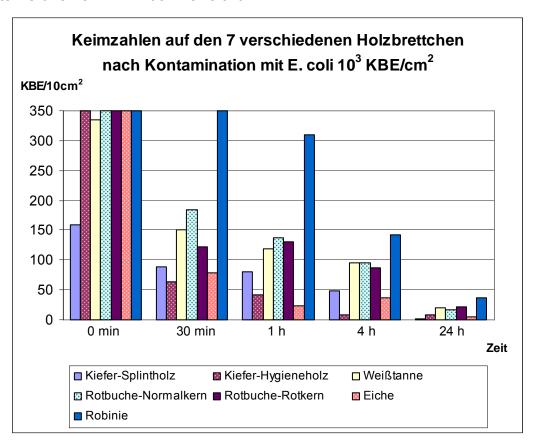


Diagramm 5: Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit E. coli 10³ KBE/cm²

Die Ergebnisse der Versuche mit einer E. coli - Konzentration von 10<sup>5</sup> KBE/cm<sup>2</sup>, die in Diagramm 6 dargestellt sind, ließen nach 24 Stunden nur beim Kiefer-Splintholz und Kiefer-Hygieneholz eine Keimreduktion erkennen. Hierbei wiesen die Abklatschplatten des Kiefer-Splintholzes eine deutlich geringere Koloniezahl auf als

die Platten des Kiefer-Hygieneholzes der Firma Wilms, bei denen die Keimreduktion nur minimal war. Alle anderen Hölzer besaßen zu allen Zeitpunkten über 350 KBE/10cm².

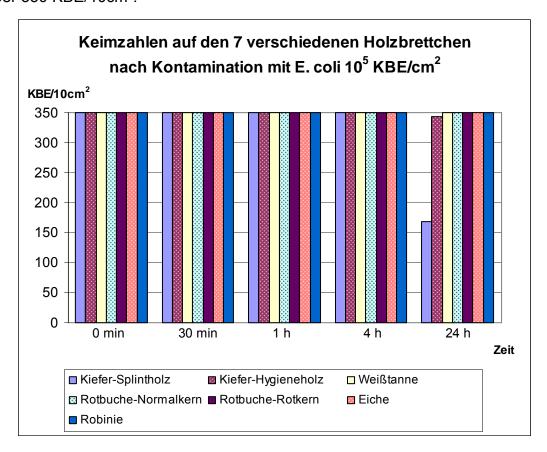


Diagramm 6: Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit E. coli 10<sup>5</sup> KBE/cm<sup>2</sup>

### 3.1.4. Versuche mit A. baumannii

Bei den Versuchen mit dem Keim Acinetobacter baumannii zeigte das Hygieneholz nach Inokulation mit 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup> die stärkste Keimreduktion (siehe Diagramm 7). Bereits zum Zeitpunkt 0 Minuten befanden sich weniger als 100 Kolonien auf den Platten des Hygieneholzes. Die Koloniezahl nahm in den folgenden Stunden kontinuierlich ab, um nach 24 Stunden auf Werte unter 5 Kolonien abzufallen.

Eine ebenfalls starke Keimabnahme erfolgte auf dem Eichenholz. Hier befanden sich zum Zeitpunkt 0 Minuten ca. 150 Kolonien auf den Agarplatten. Nach 30 Minuten hatte sich die Keimzahl halbiert. Bis zum Messwert nach 4 Stunden war auf dem Eichenholz keine weitere eindeutige Keimabnahme zu erkennen, sondern die Keimzahlen pendelten um einen Wert von 75 KBE/10cm<sup>2</sup>. Eine erneute Keimreduktion erfolgte erst nach 24 Stunden. Hier betrug der Mittelwert auf den Holzbrettchen 17 KBE/10cm<sup>2</sup>.

Auf den Agarplatten der Weißtanne konnte man erst nach 1 Stunde unter 350 Kolonien und somit zählbare Werte feststellen. Zu diesem Zeitpunkt und nach 4 Stunden lag der Mittelwert auf diesem Holz aber noch deutlich über 300 KBE/10cm<sup>2</sup>.

Die anderen vier Holzarten zeigten untereinander in etwa das gleiche Verhalten. Zu den Zeitpunkten 0 Minuten, 30 Minuten, 1 Stunde und 4 Stunden wiesen hier alle Abklatschplatten Rasenwachstum auf. Während bei den beiden Rotbuchenhölzern und dem Kiefer-Splintholz nach 24 Stunden die Keimzahl deutlich im zählbaren Bereich lag, war die Keimabnahme auf den Robiniebrettchen auch zu diesem Zeitpunkt nur minimal.

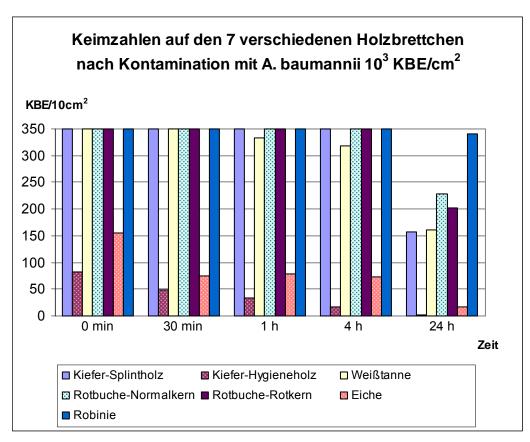


Diagramm 7: Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit

A. baumannii 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup>

Bei den Untersuchungen mit einer Konzentration von 10<sup>5</sup> KBE/cm<sup>2</sup> war zu fast allen Zeitpunkten und bei fast allen Hölzern ein Rasenwachstum auf den Abklatschplatten feststellbar. Selbst nach 24 Stunden konnte man mit Ausnahme des Kiefer-Hygieneholzes stets über 350 Kolonien auf den Platten auszählen. Auf den Hygieneholzbrettchen lag der Mittelwert nach 24 Stunden, wie man Diagramm 8 entnehmen kann, bei 338 KBE/10cm<sup>2</sup>.

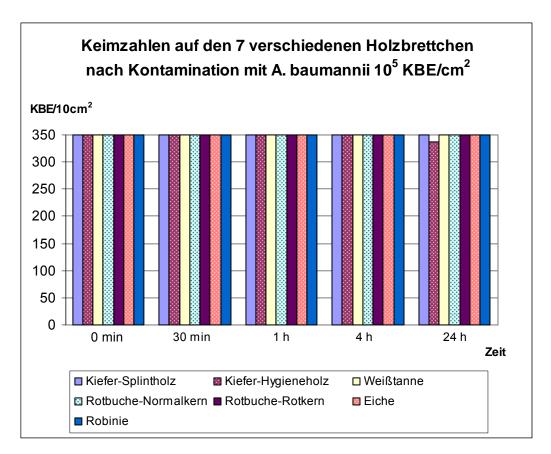


Diagramm 8: Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit

A. baumannii 10<sup>5</sup> KBE/cm<sup>2</sup>

#### 3.1.5. Versuche mit M. terrae

In den Versuchen mit Mycobacterium terrae (siehe Diagramm 9) besaß nach Inokulation mit 10³ KBE/cm² das Kiefer-Hygieneholz die eindeutig besten keimreduzierenden Eigenschaften. Bereits zum ersten Messzeitpunkt (0 Minuten) war auf den Hygieneholzbrettchen ein Mittelwert von 105 KBE/10cm² festzustellen. Innerhalb der nächsten Stunden erfolgte eine kontinuierliche Keimabnahme, so dass nach 24 Stunden keine Mykobakterien mehr auf den Brettchen vorhanden waren.

Ebenfalls eine gute Keimreduktion zeigte die Eiche, gefolgt vom Kiefer-Splintholz und Weißtannenholz. Beim ersten Messpunkt waren im Durchschnitt 267 Kolonien auf den Agarplatten der Eiche zählbar. Anschließend erfolgte jedoch eine deutliche Abnahme der Koloniezahl, so dass nach 30 Minuten nur noch ein Mittelwert von 97 Kolonien und nach 24 Stunden ein Mittelwert von 1 Kolonie zu finden war.

In Diagramm 9 ist zu erkennen, dass auch das Kiefer-Splintholz eine kontinuierliche Abnahme der Keime aufweist. Diese Abnahme war innerhalb der ersten 30 Minuten sehr stark, jedoch fand in den nächsten Stunden nur ein geringer Abfall statt. Nach

4 Stunden lag der Mittelwert auf den Brettchen bei 49 und nach 24 Stunden bei 3 KBE/10cm<sup>2</sup>.

Auf den RODAC-Abklatschplatten der Weißtanne fielen die Koloniezahlen auch deutlich von über 350 auf durchschnittlich 69 Kolonien ab.

Die beiden Rotbuchen verhielten sich in Bezug auf die Keimzahlen sehr ähnlich, wobei das Rotkernholz etwas bessere Abnahmen zeigte. Auch bei diesen Hölzern erfolgte mit der Zeit eine kontinuierliche Abnahme, so dass sich die Werte von über 350 auf 89 KBE/10cm² (Rotkernholz) und auf 195 KBE/10cm² (Normalkernholz) reduzierten.

Die höchsten Keimkonzentrationen zu allen Zeitpunkten wies, wie auch in den bisherigen Versuchen, die Robinie auf. Es waren zu allen Zeitpunkten über 350 Kolonien auf den Agarplatten zu finden.

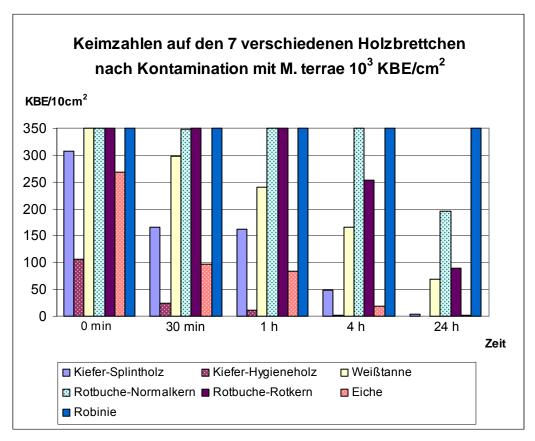


Diagramm 9: Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit

M. terrae 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup>

Im folgenden Diagramm 10 sind die Keimzahlen auf den Hölzern nach Kontamination mit der höheren Konzentration von 10<sup>5</sup> KBE/cm<sup>2</sup> dargestellt. Aus diesem Diagramm ist ersichtlich, dass innerhalb der ersten 4 Stunden auf den Abklatschplatten aller Hölzer ein Rasenwachstum vorhanden war. Dieses Ergebnis blieb auf den Platten des Rotbuche-Rotkern- und Rotbuche-Normalkernholzes, der

Weißtanne und der Robinie im Zeitverlauf unverändert. Auch nach 24 Stunden konnten auf den Agarplatten keine Werte unter 350 Kolonien festgestellt werden. Das Kiefer-Splintholz, Kiefer-Hygieneholz und Eichenholz zeigten hingegen nach 24 Stunden eine deutliche Keimreduktion auf Mittelwerte von 84 KBE/10cm² beim Kiefer-Splintholz, 93 KBE/10cm² beim Kiefer-Hygieneholz und 73 KBE/10cm² bei der Eiche.

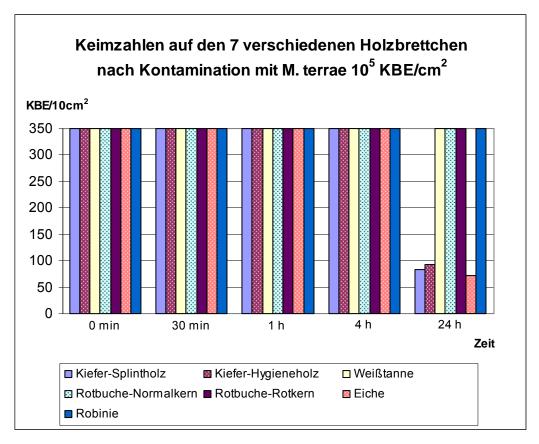


Diagramm 10: Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit M. terrae 10<sup>5</sup> KBE/cm<sup>2</sup>

#### 3.1.6. Versuche mit C. albicans

Bei den Untersuchungen des Wachstums von Candida albicans mit einer Inokulation von 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup> (siehe Diagramm 11) zeigte sich zum Zeitpunkt 0 Minuten auf allen Platten ein Keimwachstum von über 350 Kolonien. Die Abklatschplatten des Kiefer-Splintholzes, des Rotbuche-Normalkernholzes, des Rotbuche-Rotkernholzes und der Robinie wiesen auch noch nach 30 Minuten, 1 Stunde und 4 Stunden über 350 Kolonien auf. Erst nach 24 Stunden ließ sich bei ihnen eine deutliche Reduktion erkennen.

Wie man aus Diagramm 11 entnehmen kann, lagen die Keimzahlen bei der Weißtanne schon ab 30 Minuten mit einem Mittelwert von 330 KBE/10cm<sup>2</sup> im

messbaren Bereich. Diese Keimzahlen blieben zu den Zeitpunkten 1 Stunde und 4 Stunden in etwa gleich, wobei sie nach 1 Stunde etwas abfielen und nach 4 Stunden wieder anstiegen. Erst nach 24 Stunden war die Reduktion deutlich erkennbar. Zu diesem Zeitpunkt lag auf den Abklatschplatten ein Mittelwert von 51 Kolonien vor.

Das Kiefer-Hygieneholz und die Eiche besaßen im Vergleich zu den anderen Hölzern die stärkste Keimreduktion. Bis zum Zeitpunkt von 1 Stunde nahm die Keimzahl um mehr als die Hälfte ab. Danach erfolgte auf den Agarplatten bis zum 4 Stunden Messpunkt ein Anstieg der Koloniezahlen und nach 24 Stunden fielen die Werte auf dem Hygieneholz und der Eiche unter 10 KBE/10cm<sup>2</sup> ab.

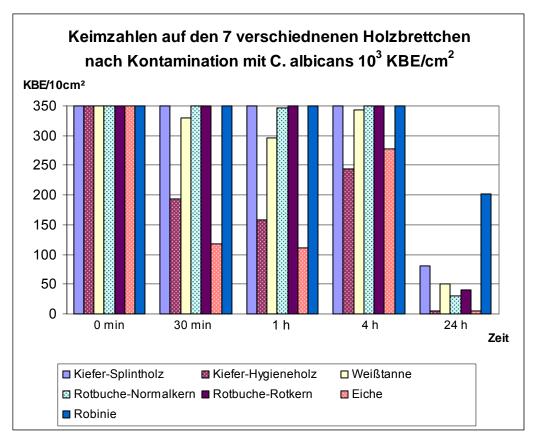


Diagramm 11: Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit C. albicans 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup>

Die folgenden Versuche mit C. albicans mit einer Inokulation von 2 x 10<sup>4</sup> KBE/cm<sup>2</sup> ergaben zu allen Zeitpunkten und bei allen Hölzern Keimzahlen von über 350 KBE/10cm<sup>2</sup> und lagen somit außerhalb des zählbaren Bereiches. Aus diesem Grund kann auf eine Hochrechnung verzichtet werden (siehe Kapitel 2.3.4.) Die beschriebenen Ergebnisse sind in Diagramm 12 zusammengefasst.

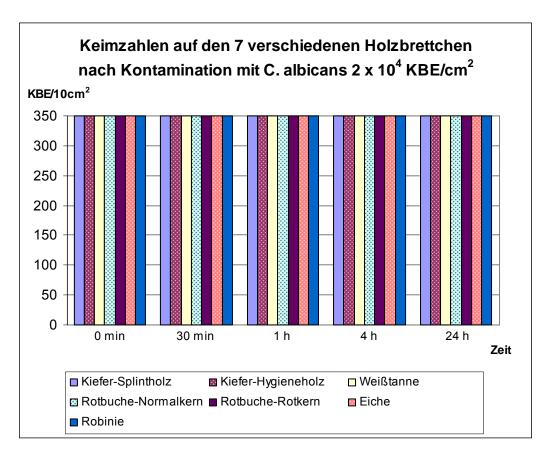


Diagramm 12: Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit
C. albicans 2 x 10<sup>4</sup> KBE/cm<sup>2</sup>

#### 3.2. Betrachtung der einzelnen Hölzer bezogen auf die Keime

#### 3.2.1. Kiefer-Splintholz

Wie in Diagramm 13 ersichtlich ist, zeigte das Kiefer-Splintholz in den Versuchen mit der niedrigeren Konzentration die höchsten Keimzahlen bei Inokulation mit C. albicans und A. baumannii. Deutlich niedrigere Werte waren bei den grampositiven Erregern M. terrae, MRSA und VRE zu erkennen. Nach 24 Stunden erreichten die Staphylokokken einen Mittelwert von 51 KBE/10cm² und die Enterokokken einen Mittelwert von 40 KBE/10cm² und lagen im Vergleich mit den anderen Keimen insgesamt im mittleren Bereich. Bei den Mykobakterien erfolgte jedoch bereits nach 1 Stunde eine deutliche Reduktion der Keimzahlen durch das Splintholz, so dass sie sich nach 4 Stunden den Keimzahlen von E. coli annäherten, die zu allen Zeitpunkten die geringsten waren.

Auch in den Versuchen mit den höheren Konzentrationen erfolgte die Elimination von E. coli und M. terrae am besten. Auf den Platten dieser Bakterien waren nach 24 Stunden die geringsten Keimzahlen zu finden, während bei allen anderen

Keimen die Agarplatten ein Wachstum von mehr als 350 Kolonien zeigten. Es wurde keine eigene Graphik der Versuche mit höherer Keimkonzentration erstellt, da die Tendenz mit den Versuchen mit niedrigerer Konzentration vergleichbar war.

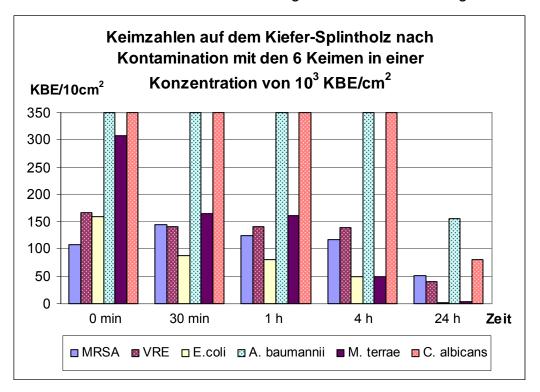


Diagramm 13: Keimzahlvergleich auf dem Kiefer-Splintholz nach Kontamination mit 6 verschiedenen Keimen in einer Konzentration von 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup>.

#### 3.2.2. Kiefer-Hygieneholz

In den Versuchen mit der niedrigeren Konzentration war auf dem Hygieneholz die Keimabnahme bei C. albicans innerhalb der ersten 4 Stunden am schlechtesten. Erst nach 24 Stunden näherten sich die Werte von C. albicans denen der anderen Keime an. In den Versuchen mit E. coli lagen die Werte zum ersten Messzeitpunkt außerhalb des zählbaren Bereiches. Hier erfolgte jedoch eine Annäherung der Werte an die der anderen Keime bereits nach 30 Minuten. Bei den Untersuchungen mit MRSA, VRE, M. terrae und A. baumannii waren zu allen Zeitpunkten die niedrigsten Keimzahlen zu erkennen (siehe Diagramm 14).

In den Experimenten mit der höheren Keimkonzentration, die nicht in einer Graphik veranschaulicht wurden, waren die Ergebnisse identisch. Die stärkste Keimreduktion durch das Kiefer-Hygieneholz fand ebenfalls bei den methicillinresistenten Staphylokokken und den Mykobakterien statt. Im mittleren Bereich bewegten sich E. coli und A. baumannii. Sehr hohe Zahlen und somit eine geringe Reduktion wiesen VRE und C. albicans auf.

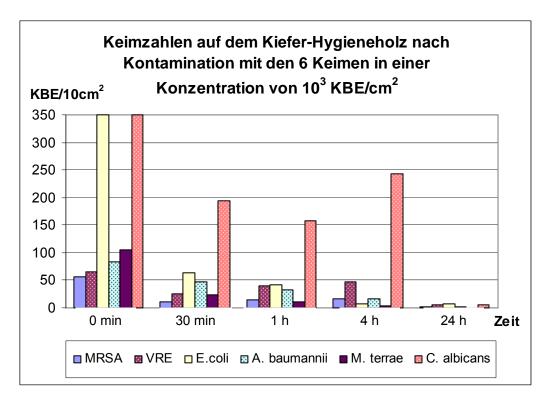


Diagramm 14: Keimzahlvergleich auf dem Kiefer-Hygieneholz nach Kontamination mit 6 verschiedenen Keimen in einer Konzentration von 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup>.

#### 3.2.3. Weißtanne

In Diagramm 15 ist ersichtlich, dass im Zeitverlauf C. albicans, A. baumannii und M. terrae in der niedrigeren Keimkonzentration das deutlich höchste Wachstum auf den Abklatschplatten des Weißtannenholzes besaßen. Von diesen drei Keimen wies A. baumannii zu fast allen Zeitpunkten die höchsten Werte auf. Während bei C. albicans erst nach 4 Stunden eine deutliche Reduktion der Keimzahlen erfolgte war die Reduktion bei M. terrae eher kontinuierlich. MRSA, VRE und E. coli, waren bereits nach 30 Minuten stark reduziert.

Die hohe Konzentration ließ keinen Unterschied zwischen den einzelnen Mikroorganismen erkennen, da das Wachstum auf den Agarplatten zu allen Zeitpunkten über 350 Kolonien betrug. Aus diesem Grund wurde auf eine Graphik verzichtet.

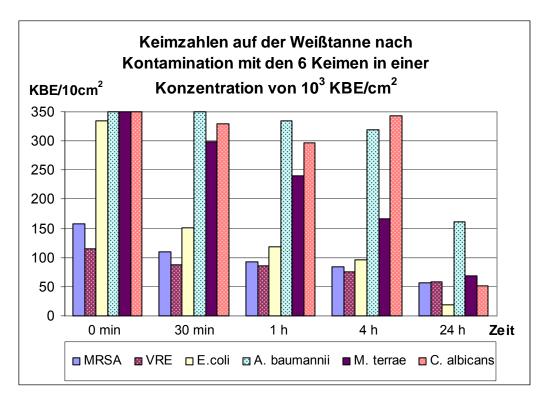


Diagramm 15: Keimzahlvergleich auf der Weißtanne nach Kontamination mit 6 verschiedenen Keimen in einer Konzentration von 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup>.

#### 3.2.4. Rotbuche-Normalkernholz

Die Keimzahlen auf dem Rotbuche-Normalkernholz waren nach Inokulation mit  $10^3$  KBE/cm² (siehe Diagramm 16) bei C. albicans, A. baumannii und M. terrae am höchsten. Während die Keimzahlen bei C. albicans nach 24 Stunden eine Reduktion von 350 auf 30 KBE/10cm² zeigten und somit in den niedrigen Bereich abfielen, waren sie bei den anderen beiden Keimen deutlich höher. Ein etwas geringeres Keimvorkommen zeigten MRSA und VRE in den ersten 4 Stunden. Danach war der Abstand der Keimzahlen zu A. baumannii und M. terrae etwas geringer. Durchweg niedrige Werte wies E. coli auf.

Die höhere Konzentration der Keime zeigte ein Wachstum von über 350 Kolonien auf den Platten, so dass hier keine genauere Unterscheidung vorgenommen werden konnte.

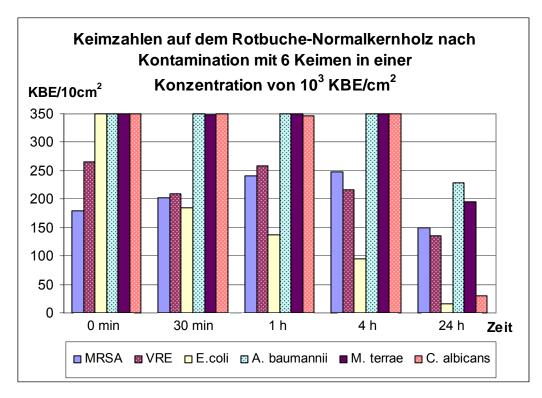


Diagramm 16: Keimzahlvergleich auf dem Rotbuche-Normalkernholz nach Kontamination mit 6 verschiedenen Keimen in einer Konzentration von 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup>.

#### 3.2.5. Rotbuche-Rotkernholz

Das Rotbuche-Rotkernholz (siehe Diagramm 17) verhielt sich nach Inokulation mit  $10^3$  KBE/cm² ähnlich wie das Rotbuche-Normalkernholz. Auch hier zeigten C. albicans, A. baumannii und M. terrae das höchste, MRSA und VRE ein mittleres und E. coli das geringste Wachstum auf den Agarplatten. E. coli besaß innerhalb der ersten 4 Stunden ähnliche Werte wie VRE und MRSA. Nach 24 Stunden waren die Koloniezahlen auf den Agarplatten des E. coli jedoch deutlich geringer und lagen somit im unteren Bereich.

Die Versuche mit der höheren Konzentration lieferten dieselben Ergebnisse wie die Versuche mit dem Rotbuche-Normalkernholz und Weißtannenholz. Auch hier erfolgte zu allen Zeitpunkten und bei allen Keimen ein Wachstum von mehr als 350 Kolonien auf den Abklatschplatten des Rotbuchen-Rotkernholzes. Aus diesem Grund wurde auf eine Graphik verzichtet.

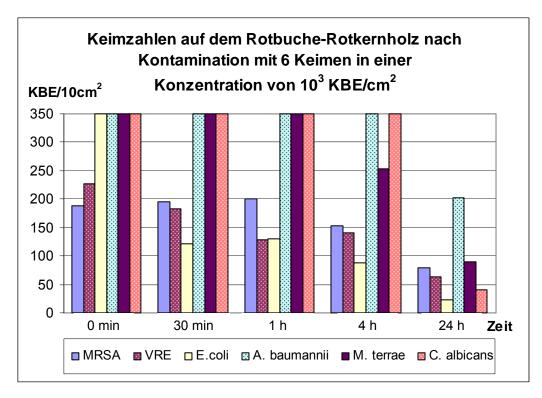


Diagramm 17: Keimzahlvergleich auf dem Rotbuche-Rotkernholz nach Kontamination mit 6 verschiedenen Keimen in einer Konzentration von 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup>.

#### 3.2.6. Eiche

Bei Inokulation mit 10<sup>3</sup> KBE/ml zeigte das Eichenholz innerhalb der ersten 4 Stunden die geringste Keimzahlreduktion bei C. albicans (siehe Diagramm 18). Die Mykobakterien, Acinetobacter und auch MRSA und VRE wiesen zu fast allen Zeitpunkten geringere Keimzahlen als C. albicans auf. Nach 24 Stunden waren jedoch die Keimzahlen bei VRE mit einem Mittelwert von 34 KBE/10cm² und bei A. baumannii mit einem Mittelwert von 17 KBE/10cm² im Vergleich zu C. albicans etwas höher. Die Werte von MRSA und M. terrae waren zu diesem Zeitpunkt vergleichbar mit denen von C. albicans. In den Versuchen mit E. coli lagen die Koloniezahlen auf den Abklatschplatten zum ersten Messzeitpunkt im oberen Bereich. Bereits nach 30 Minuten erfolgte jedoch eine deutliche Abnahme, so dass die Koloniezahl zu den nachfolgenden Zeitpunkten zusammen mit MRSA, M. terrae und C. albicans ebenfalls im niedrigsten Bereich lag.

In den Versuchen mit höherer Keimkonzentration erfolgte nach 24 Stunden nur bei den Mykobakterien eine Keimreduktion. Alle anderen Keime besaßen auf den Eichenbrettchen ein Wachstum von mehr als 350 KBE/cm².

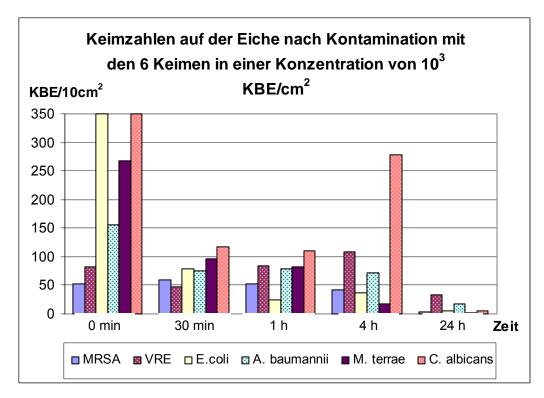


Diagramm 18: Keimzahlvergleich auf der Eiche nach Kontamination mit 6 verschiedenen Keimen in einer Konzentration von 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup>.

#### 3.2.7. Robinie

In den Versuchen mit der niedrigen Keimkonzentration von 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup> wiesen die Agarplatten der Robinie (siehe Diagramm 19) bei Inokulation mit MRSA, VRE, A. baumannii und M. terrae innerhalb der ersten 4 Stunden Rasenwachstum auf. Nach 24 Stunden lagen die Keime im zählbaren Bereich, jedoch waren auf den Platten immer noch über 300 Kolonien vorhanden. C. albicans zeigte ebenfalls Werte von über 350 Kolonien auf den Platten zu den ersten vier Messpunkten, danach erfolgte aber eine deutliche Reduktion auf einen Mittelwert von 202 Kolonien. Gegenüber E. coli zeigte das Robinienholz die stärkste Keimreduktion. Bereits nach 1 Stunde waren im Durchschnitt 309 Kolonien auf den Abklatschplatten vorhanden, die danach weiter abfielen, um nach 24 Stunden einen Mittelwert von 37 Kolonien zu erreichen.

In den Versuchen mit der höheren Konzentration von 10<sup>5</sup> KBE/cm² war bei allen Keimen Rasenwachstum erkennbar.

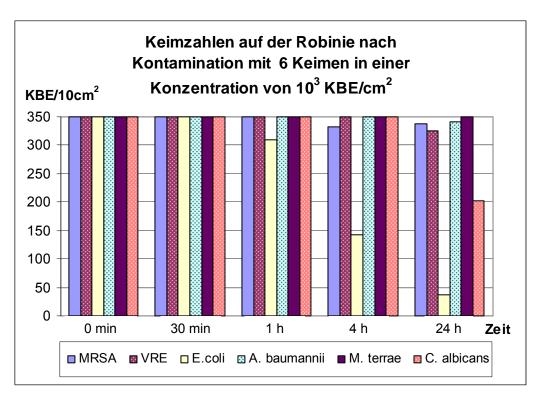


Diagramm 19: Keimzahlvergleich auf der Robinie nach Kontamination mit 6 verschiedenen Keimen in einer Konzentration von 10<sup>3</sup> KBE/cm<sup>2</sup>.

#### 4. Diskussion

In dieser Arbeit wurden die keimreduzierenden Eigenschaften sieben verschiedener Hölzer miteinander verglichen. Es sollte herausgefunden werden, ob außer Kiefer-Kernholz und Eichenholz auch andere Holzarten antimikrobielle Eigenschaften besitzen. Dazu wurden vor allem Hölzer verwendet, die eine große Bedeutung in der Bau- und Möbelindustrie haben. In den durchgeführten Versuchen wurden die verschiedenen Holzoberflächen mit unterschiedlichen Keimen beimpft und mit dem RODAC-Abklatschverfahren Proben zu bestimmten Zeitpunkten genommen. Nach einer Inkubation von 24 bzw. 48 Stunden (Mykobakterien) bei 36°C erfolgte die Auszählung der Kolonien. Das Koloniewachstum der einzelnen Keime auf den Abklatschplatten der verschiedenen Hölzer wurde ausgewertet und untereinander verglichen.

#### 4.1. Diskussion über die bisherigen Erkenntnisse in der Thematik

Die Diskussionen über die hygienischen Eigenschaften von Holz bestehen schon seit mehr als fünfzig Jahren. Unbehandeltes Holz wird in einer Reihe von Studien als problematisch und unhygienisch beschrieben (Kelch und Palm, 1958; Großklaus und Levetzow, 1967; Gilbert und Watson 1971; Kampelmacher et al., 1971; Lukowsky, 1994; Rödel et al., 1994; Schulz, 1995). In diesen Studien wurden vor allem die Eigenschaften von Holz, Kunststoffen und Metallen im Lebensmittelbereich verglichen.

Bereits 1958 erfolgten die ersten Untersuchungen am bakteriologisch-histologischen Institut der Bundesforschungsanstalt für Fleischwirtschaft in Kulmbach durch Kelch und Palm. Sie untersuchten den Keimgehalt auf Oberflächen von Holz- und Metalltischen aus der Fleischverarbeitungsindustrie und kamen zu dem Ergebnis, dass der Keimgehalt, auch nach Reinigung mit heißer Sodalösung, auf Holz deutlich höher war als auf Metalloberflächen (Kelch und Palm, 1958).

Weitere Versuche wurden 1967 von Großklaus und Levetzow durchgeführt. Sie gaben verschiedene Keimsuspensionen auf Oberflächen von gebrauchten Schneidebrettern, die aus Holz, Kunststoff (Resopal, Plexiglas, Polyamid, Polyethylen) und Gummioberflächen (Hartgummi und synthetischer Gummi) bestanden. Anschließend wurden die Oberflächen mit warmem Wasser abgebürstet und mit einer 1-2%igen Ampholytseifenlösung desinfiziert. Nach Abspülen der

Seifenlösung erfolgte die Probennahme durch verschiedene Verfahren, u.a. durch das Abklatschverfahren. Trotz Reinigung und Desinfektion wurden deutlich höhere Keimzahlen auf den Holzbrettern nachgewiesen, was den schlechten Reinigungseffekt und die schlechte Desinfizierbarkeit von Holz weiter bestätigte (Großklaus und Levetzow, 1967).

Die Verfasser der Studien begründeten die schlechten hygienischen Holzeigenschaften mit zahlreichen Argumenten. Als Hauptgründe wurden die raue zerklüftete Oberfläche und die poröse Innenstruktur des Holzes angeführt. Dadurch werden Fett- und Eiweißabrieb bei der Fleischverarbeitung sowohl an der Oberfläche als auch im Holzinneren festgehalten, was für die Bakterien ein optimales Nährmedium darstellt (Kelch und Palm, 1958; Kampelmacher et al., 1971; Rödel et al., 1994). Holz besitzt außerdem hygroskopische Eigenschaften, die einerseits durch eine große innere Holzoberfläche und andererseits durch Zellwandbestandteile mit einer hohen Wasseraffinität zustande kommen. Ein weiteres Merkmal, welches für die Hygroskopizität verantwortlich ist, ist die schon erwähnte poröse Innenstruktur. Für diese Porosität sind die Ring- und Tüpfelgefäße der Holzzellen verantwortlich, die eine kapillare Saugwirkung besitzen und über die einzelnen Zellen untereinander in Verbindung stehen. Durch diese hygroskopischen Holzeigenschaften wird Oberflächenwasser mit darin befindlichen Mikroorganismen in das Holzinnere aufgenommen, wo diese Organismen sich ungehindert vermehren können und vor Desinfektionsmitteln und reinigenden Substanzen geschützt sind. (Großklaus und Levetzow, 1967; Kampelmacher et al., 1971; Rödel et al., 1994; Lukowsky, 1994; Schulz, 1995). Das Entfernen der Mikroorganismen aus dem Holzinneren ist auch schwierig, weil sie an die hydrophile Mikrostruktur der Fibrillen gebunden werden. Die Forscher waren auch der Meinung, dass beim Gebrauch von hölzernen Schneidebrettern tiefer gelegene, lebensfähige Keime durch Schnitte freigelegt werden und so erneut an die Oberfläche gelangen könnten. Gerade diese Tiefendimension des Holzes wurde von vielen Autoren als ungünstig eingestuft und neben den oben genannten Kriterien für die schlechten hygienischen Eigenschaften des Holzes verantwortlich gemacht (Kelch und Palm, 1958; Großklaus und Levetzow, 1967; Kampelmacher et al., 1971; Lukowsky, 1994; Rödel et al., 1994; Schulz, 1995).

Auch in der Beurteilung des Kunststoffes waren sich die Autoren einig. Sie stuften ihn als nicht porösen Werkstoff mit einer geschlossenen Oberfläche ein. Durch die geschlossene Oberfläche erfolgte keine Verlagerung der Bakterien in die Tiefe und

somit sei Kunststoff besser und effektiver zu reinigen als Holz (Großklaus und Levetzow, 1967; Gilbert und Watson, 1971; Kampelmacher et al., 1971; Rödel et al., 1994; Schulz, 1995).

Die Konsequenz dieser Studien in Deutschland war das weitgehende Verbot von Holz in der Lebensmittelindustrie durch die FIHV (Fleischhygiene - Verordnung) und durch die GFIMindV (Geflügelfleischmindestanforderungen - Verordnung). Es wurde festgelegt, dass die Oberflächen, die mit Lebensmitteln in Berührung kommen, glatt sowie leicht zu reinigen und zu desinfizieren sein müssen. Dadurch war die Verwendung von Holz nur beim Transport von hygienisch verpacktem Fleisch, bei Hackklötzen, in Räucherkammern und Reiferäumen gestattet. In Betrieben durfte Holz nur noch nach einer speziellen Oberflächenbehandlung eingesetzt werden (Rödel et al., 1994; Stiebing 2002). Diese Vorschriften beschränkten sich jedoch hauptsächlich auf den gewerblichen Bereich, so dass die Nutzung von Holzgegenständen in privaten Haushalten unberücksichtigt blieb (Schulz, 1995).

In den letzten 13 Jahren wurden Studien veröffentlicht, die im Widerspruch zu den bisherigen Erkenntnissen standen. Im Jahr 1994 wurde im "Journal of Food Protection" eine Studie des Food Research Institute aus Wisconsin veröffentlicht, in der Holz deutlich bessere hygienische Eigenschaften aufwies als Kunststoff. In den Versuchen von Nese Ak und Dean Cliver wurden neue und gebrauchte Bretter aus neun verschiedenen Hölzern (Esche, Linde, Buche, Birke, Butternussbaum, Kirsche, Ahorn, Eiche und Schwarznussbaum) und neue und gebrauchte Bretter aus fünf verschiedenen Kunststoffarten (Polyacryl, Polyethylen, Polypropylen, Polystyrol und Hartgummi) verwendet, die in 5 cm² große Blöcke geschnitten wurden. Die Oberfläche dieser Blöcke wurde entweder in Nährmedium oder Geflügelsaft getaucht oder das Inokulum wurde direkt auf die Oberfläche gegeben und verteilt. Anschließend wurden die kontaminierten Holzflächen zu bestimmten Zeitpunkten teilweise mit Nährlösung abgespült, die danach ausplattiert wurde und teilweise erfolgte die Probennahme mit dem Abklatschverfahren. In allen Versuchen war der Keimgehalt auf den Holzbrettern deutlich niedriger, da die Keime vom Holz aufgenommen wurden. Auch nach Reinigungs- und Desinfektionsversuchen wiesen die Holzbretter weniger Keime auf als die Kunststoffbretter. Bei Verunreinigung der Bretter mit Fett konnte man auf Holz und auf Kunststoff gleichermaßen zahlreiche Bakterien nachweisen, da die Keimaufnahme durch das Fett verhindert wurde. Die Ergebnisse ließen darüber hinaus die Vermutung aufkommen, dass von bestimmten Holzarten eine antibakterielle Wirkung ausgehe (Ak und Cliver, 1994a und 1994b).

Angeregt durch die Aufsehen erregende Studie von Nese Ak und Dean Cliver starteten Rödel et al. Untersuchungen, um die Erkenntnisse der amerikanischen Studie zu überprüfen. Auch wollten Rödel et al. die Fragen, die durch die amerikanische Studie aufgeworfen wurden, in ihren Untersuchungen mehr praxisbezogen beantworten. Es wurden vier verschiedene neue Holzbrettchen (Ahorn, Eiche, Esche und Buche), ein neues Kunststoffbrettchen aus Polyethylen und ein neues Brettchen aus einem Holz-Kunststoffgemisch entweder mit verschiedenen Bakteriensuspensionen kontaminiert oder man verunreinigte die Brettchen mit einem Fett-/Fleischgemisch, Rinderseren oder ähnlichem und gab dann die Keimsuspensionen dazu. Die Keimbestimmung erfolgte an den Oberflächen mit dem RODAC-Abklatschverfahren und in den tieferen Schichten mit einer destruktiven Methode. Die Versuche bestätigten nur teilweise die Ergebnisse der amerikanischen Studie. In den Experimenten, in denen nur Keimsuspensionen aufgetragen wurden, erfolgte eine stärkere Keimabnahme auf den Hölzern als auf den Kunststoffen. Die Hölzer, vor allem die Eiche, besaßen in diesen Versuchen deutlich bessere hygienische Eigenschaften. Wurden die Brettchen jedoch zuvor verunreinigt oder die Oberflächen durch einen manuellen Bürsten-Waschvorgang gereinigt, so zeigte sich eine deutliche Überlegenheit der Kunststoffbrettchen. Der klare Vorteil der Hölzer, der in der amerikanischen Studie festgestellt wurde, konnte von Rödel et al. nur teilweise bestätigt werden (Rödel et al., 1994).

Die Publikationen von Ak et al. und Rödel et al. waren jedoch die ersten beiden Studien, die darauf hinwiesen, dass verschiedene Holzarten unterschiedliche hygienische Eigenschaften besitzen und dass man davon ausgehen muss, dass bestimmte Hölzer antimikrobielle Eigenschaften aufweisen (Ak et al., 1994a und b; Rödel et al., 1994).

Diese Aussage widersprach jedoch den bisher durchgeführten Studien. Eine mögliche Erklärung ergibt sich dadurch, dass die Autoren früherer Studien weder Angaben über die Holzart, noch über das Holzalter, die Vorbehandlung des Holzes, die verwendeten Mikroorganismen, die Keimdichte und über die exakten Versuchsbedingungen gemacht hatten (Schulz, 1995).

Die Behauptung, dass einige Hölzer teilweise bessere hygienische Eigenschaften aufweisen als Kunststoffe (Ak et al., 1994a und b; Rödel et al., 1994), wurde auch von Gehrig et al. überprüft. In ihren Versuchen verglichen sie Ahorn-, Buche- und Eichenholzbrettchen mit Polyethylenbrettchen nach Einsatz in Gastronomiebetrieben und in normalen Haushalten, nach Kontamination mit E. coli - Kochsalzlösung und

nach Verunreinigung mit Fett und Kontamination mit E. coli - Kochsalzlösung. Ein Teil der Brettchen wurde anschließend einem Waschprozess unterzogen. Die Ergebnisse zeigten, dass die Holz- und Kunststoffbrettchen der Gastronomiebetriebe in etwa gleiche Keimzahlen aufwiesen und dass auf den gefetteten Proben deutlich mehr Keime zu finden waren als auf den restlichen Proben. Die Versuche in den normalen Haushalten zeigten geringere Keimzahlen auf den Hölzern als auf dem Kunststoff. Auch bezüglich der Reinigung der Brettchen schnitten die Hölzer nicht schlechter ab. Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass auf dem Kunststoff bei längerem Gebrauch ebenfalls eine oberflächliche Rauhigkeit entsteht und somit die Reinigung auch nicht optimal ist. Anhand dieser Ergebnisse gibt es keinen Grund Kunststoff dem Holz vorzuziehen (Gehrig et al., 2000).

An der biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft führte Annett Schönwälder mehrere Studien durch, in denen sie die hygienischen und antibakteriellen Eigenschaften verschiedener Hölzer untersuchte und diese mit Kunststoffen verglich. Zu den untersuchten unbehandelten Hölzern gehörten Kiefer, Fichte, Pappel, Lärche, Eiche, Buche und Ahorn. Diese sieben verschiedenen Hölzer und ein Kunststoff wurden mit Testkeimen (Escherichia coli, Enterococcus faecium) kontaminiert. In den Versuchen wurde einerseits mit Holz- bzw. Kunststoffspänen und andererseits mit Brettchen gearbeitet. Die Holzspäne bzw. Holzbrettchen schnitten in allen Untersuchungen deutlich besser ab als die Kunststoffe. Zwischen den Hölzern gab es jedoch starke Unterschiede in der Keimabnahme. Auch aus diesen Versuchen ist somit ersichtlich, dass nicht alle Holzarten antibakterielle Eigenschaften besitzen. Eine deutliche antibakterielle Eigenschaft konnte nur dem Kiefer-Kernholz und der Eiche zugeordnet werden. Am Beispiel der Kiefer überprüfte Schönwälder das Absterben der Kontaminationen auch molekularbiologisch. Die Ergebnisse zeigten, dass die Abnahme des DNA-Gehaltes mit der Abnahme des Bakterientiters korrelierte. Beide Methoden zeigten, dass die Keime im Holz tatsächlich abgetötet wurden (Schönwälder, 1999; Schönwälder et al., 2002).

Um herauszufinden, ob die Keimzahlen an den Holzoberflächen mit den Keimzahlen im Holzinnern korrelieren oder ob nur eine Verlagerung der Keime ins Holzinnere stattfand, wurden von Schönwälder et al. weitere Experimente durchgeführt. Aus diesem Grund wurden Holzklötze entweder mit den Bakteriensuspensionen beimpft oder für 15 Minuten in die Bakteriensuspensionen gegeben. Anschließend erfolgte die Probennahme der Oberflächen und der tieferen Schichten mit dem

Abklatschverfahren und eine Untersuchung der Hobelspäne aus der Tiefe. Diese Versuche zeigten, dass die Keimzahlen der Oberflächen mit denen des Holzinnern korrelierten (Schönwälder et al., 2002).

Weiterhin stellte sich heraus, dass das Überleben der Bakterien nicht nur von der Holzart, sondern auch von zahlreichen anderen Faktoren abhängig war. Entscheidend für die Keimreduktion war z.B. auch die Ausgangskeimdichte. Je höher Bakteriendichte war, umso länger konnten die Keime auf dem Holz langsamer nachgewiesen werden und umso erfolgte die Keimabnahme (Schönwälder et al., 2002; Ak et al., 1994a). Schönwälder vermutete, dass bei hohen Bakterienkonzentrationen mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Übereinanderschichtung der Bakterien erfolgt. Einerseits stehen dadurch nicht alle Bakterien mit den Zellwänden, in denen die antibakteriellen Holzinhaltsstoffe vermutet werden, in Kontakt und andererseits sind die Bakterien länger vor Austrocknung geschützt (Schönwälder et al., 2002). Grampositive Keime überlebten länger auf den Materialien als gramnegative Keime, was die Vermutung aufkommen ließ, dass das kompaktere Mureinnetz der grampositiven Bakterien einen besseren Schutz vor Austrocknung oder vor Penetration durch Holzinhaltsstoffe darstellt (Schönwälder, 1999; Schönwälder et al., 2002; Milling et al., 2005a und 5b). Umgebungsbedingungen (z.B. Holzfeuchtigkeit, Luftfeuchtigkeit und Temperatur) wirkten sich ebenfalls auf die Keimzahlen aus. Je feuchter das Holz war, umso mehr Wasser stand den Bakterien zur Verfügung und umso länger überlebten sie und waren auf den Oberflächen nachweisbar (Schönwälder, 1999). Ein längeres Überleben wurde auch bei niedrigen Umgebungstemperaturen und hohen Luftfeuchtigkeiten festgestellt (Gehrig et al., 2000; Milling et al., 2005a).

Die starken keimreduzierenden Eigenschaften von bestimmten Holzarten sind demnach in zahlreichen Studien bestätigt worden (Nese Ak et al., 1994a und b; Rödel et al., 1994; Schönwälder, 1999; Schönwälder et al., 2002; Strehlein et al., 2004; Gebken, 2004; Milling et al., 2005a und 5b; Boursillon, 2005; Wirmer, 2005), doch trotz einiger Theorien ist die Ursache für die antibakterielle Wirkung nicht vollständig bekannt. Verschiedene Autoren versuchten Erklärungen dafür zu finden, was dazu führte, dass heute chemische und physikalische Erklärungsansätze im Vordergrund dieser Diskussion stehen. So stellte sich heraus, dass die poröse Holzstruktur kein hygienischer Nachteil ist, sondern den Bakterien Feuchtigkeit entzieht und sie somit schädigt bzw. abtötet (Kampelmacher et al., 1971; Ak et al., 1994 a und b; Schulz, 1995). Die Bakterien liegen im Holzinnern auch nicht frei vor,

sondern sind zum größten Teil unablösbar mit dem Holz verbunden (Kampelmacher, 1971; Lukowsky, 1994). Sekundäre Extraktstoffe, d.h. Inhaltsstoffe, die nur in bestimmten Holzarten zu finden sind, sind vermutlich hauptsächlich für die antibakterielle Wirkung verantwortlich (Laks und McKaig, 1988; Field und Lettinga, 1992; Schönwälder et al., 1996-2001). Das Vorkommen und die Menge an sekundären Extraktstoffen in Bäumen unterscheiden sich von Baumart zu Baumart, innerhalb eines Baumes und sie sind auch abhängig vom Standort und Alter der Bäume. Die Kiefer und die Eiche gehören zu den extraktstoffreichen, die Buche zu den extraktstoffarmen Hölzern. Der Hauptteil sekundärer Extraktstoffe befindet sich im Stamminneren, was dadurch zustande kommt, dass sie im Verlauf der Holzverkernung dort eingelagert werden. Durch diese Einlagerung verändert sich das Holz und wird so zum Kernholz. Im Kernholz findet man die Inhaltsstoffe vor allem in den Holzstrahlen und dem Längsparenchym und bei sehr hohen Extraktstoffkonzentrationen auch teilweise in Gefäßen und Fasern. Für den mikrobiellen Holzschutz ist vor allem ihr Vorhandensein in den Zellwänden wichtig (Schönwälder et al., 1996-2001).

Von den sekundären Extraktstoffen werden vor allem Polyphenolen (Tanninen) die antibakteriellen Eigenschaften zugeschrieben (Laks und McKaig, 1988; Field und Lettinga, 1992; Schönwälder et al., 1996-2001; Milling, 2005). Tannine sind wasserlösliche Polyphenole und kommen in der Rinde, im Holz, in den Blättern, Früchten oder in den Wurzeln der Bäume vor. Mikroorganismen und Parasiten werden durch die Tannin-Toxizität daran gehindert, das Holz zu befallen bzw. zu besiedeln. Die Toxizität der Tannine beruht auf mehreren Mechanismen. Einerseits hemmen die Tannine mikrobielle Proteine (z.B. Enzyme) durch Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Phenolgruppe der Tannine und der Carboxylgruppe der Proteine (Field und Lettinga, 1992), und andererseits bewirken sie eine Chelatkomplexbildung mit Metallionen, wodurch den Mikroorganismen weniger essentielle Metallionen zur Verfügung stehen und sie dadurch zugrunde gehen (Laks und McKaig, 1988; Schönwälder et al., 1996-2001).

Die Tanninsensibilität ist nicht bei allen Mikroorganismen vorhanden, wenn doch, so ist sie nicht immer gleich stark ausgeprägt. Grampositive Bakterien reagieren z.B. weniger empfindlich auf Tannine als gramnegative Bakterien. Weiterhin gibt es auch Mikroorganismen, die verschiedene Abwehrmechanismen gegenüber Tanninen entwickelt haben oder tanninresistente Enzyme besitzen (Field und Lettinga, 1992; Schönwälder et al., 1996-2001).

Die neuen Erkenntnisse über die antibakteriellen Eigenschaften des Kiefer-Kernholzes und der Eiche regten auch dazu an, Untersuchungen in anderen Bereichen, außer der Fleischverarbeitungsindustrie, durchzuführen. In zahlreichen anderen Branchen, wie z.B. in der Tierhaltung und in Krankenhäuser wurden und werden ebenfalls andere Materialien dem Holz vorgezogen.

In den letzten Jahren sind einige Studien durchgeführt worden, in denen das Kiefer-Kernholz, speziell das Kiefer-Hygieneholz der Firma Wilms, in alltäglichen praktischen Situationen zum Einsatz kam, geprüft und mit anderen Materialien verglichen wurde.

Es erfolgten unter anderem Untersuchungen, in denen Hygienepaletten der Firma Wilms mit Kunststoffpaletten und herkömmlichen Holzpaletten verglichen wurden. Die herkömmlichen Holzpaletten werden meistens aus Hölzern ohne antimikrobielle Eigenschaften (wie z.B. Pappel-, Birken-, Fichten- oder Erlenholz) hergestellt. Von allen Oberflächen der Paletten wurden mit dem Abklatschverfahren Proben genommen. Das Ergebnis war, dass die Hygieneholzpaletten deutlich besser abschnitten als die anderen Palettentypen (Schönwälder et al., 1996-2001; Steinkamp und Wilms, 2001). Im Forschungsprojekt des deutschen Instituts für Lebensmitteltechnik in Quakenbrück ließen Steinkamp und Wilms die Paletten nicht nur in der Fleischverarbeitung einsetzen, sondern auch in der Milchverarbeitung, in Gemüsebetrieben und in Bäckereiunternehmen. Auch hier waren die Keimzahlen auf den Hygienepaletten in allen Bereichen deutlich geringer als auf den Paletten aus Kunststoff und herkömmlichem Holz. Steinkamp konnte anhand seiner Versuche belegen, dass die Hygienepaletten ohne größere Probleme ein bis zwei Jahre eingesetzt werden können. Nach Ablauf dieser Zeit müssen jedoch eine Routinekontrolle und eine mechanische Reinigung der Paletten mit Drahtbürsten erfolgen.

Weitere Praxistests wurden in der Tierhaltung durchgeführt. In der Studie von Schönwälder und Smalla wurde der Einsatz von Kiefer-Hygieneholz-Spänematten im Hühnerstall untersucht und mit den bisher verwendeten Pappeunterlagen verglichen. Wie zu erwarten war, zeigten die Spänematten aus Kiefer-Kernholz eine deutlich bessere Keimreduktion. Jedoch gab es bezüglich des Einsatzes der Matten Limitierungen, die einerseits zustande kamen, weil der Hühnerkot eine sehr hohe Keimbelastung aufwies und andererseits der Hühnerkot auf den Holzspänen übereinander geschichtet wurde, so dass nicht der gesamte Kot und somit nicht alle

Mikroorganismen mit den Spänen in direkten Kontakt treten konnten (Schönwälder et al., 1996-2001).

Weiterhin wurde auch der Einsatz von Hygieneholz im Krankenhaus untersucht. Bisher verzichtete man in Krankenhäusern ebenfalls auf Holz, was auf die zahlreichen Studien zurückgeführt werden kann, in denen Holz als schlecht und unhygienisch dargestellt wurde. Die Oberflächen in Krankenhäusern bestehen auch heute noch hauptsächlich aus Kunststoffen und Holz wird immer noch selten bis gar nicht verwendet. Falls Einrichtungsgegenstände aus Holz vorhanden sind, ist das Holz meistens lackiert. Seit jedoch bekannt ist, dass von bestimmten Holzarten, z.B. dem Kiefer-Kernholz antibakterielle Eigenschaften ausgehen, wurden dazu ebenfalls Untersuchungen durchgeführt. Schuster et al. führten eine Praxisstudie in chirurgischen Patientenzimmern und Laborversuche mit nosokomial relevanten Keimen unter Verwendung des Abklatschverfahrens durch. In der Praxisstudie wurden zwei chirurgische Patientenzimmer des Universitätsklinikums Freiburg mit rohem Kiefer-Kernholz ausgestattet. Von den Oberflächen des Kiefer-Kernholzes und den Referenzflächen, die aus Kunststoff, Glas und lackierter Buche bestanden, wurden nach zwei Monaten mit dem RODAC-Abklatschverfahren Proben genommen und inkubiert. Die Untersuchungen ergaben keine bedeutenden Unterschiede zwischen den Holzoberflächen und den Referenzmaterialien. Auf dem Kiefer-Kernholz konnten jedoch weniger potenziell pathogene Keime, wie Enterococcus faecium, Enterococcus faecalis und Klebsiella spp. nachgewiesen werden. Auch die durchgeführten Laborversuche ergaben einen geringeren Keimgehalt auf den Hygieneholzbrettchen als auf den Referenzmaterialien. Somit konnte die antibakterielle Wirkung des Kiefer-Kernholzes auch für nosokomial relevante Keime bestätigt werden. Nach Desinfektion der Oberflächen mit verschiedenen Desinfektionsmitteln war, mit Ausnahme von Sirafan perfekt (Fa. Ecolab GmbH & Co. KG), sowohl auf den Abklatschplatten des Kunststoffes, als auch auf den Platten des Hygieneholzes kein signifikantes Bakterienwachstum nachweisbar. Dadurch konnte außer bei Anwendung von QUAT-basierter Produkte eine gute Desinfizierbarkeit des Hygieneholzes nachgewiesen werden. Aufgrund dieser Ergebnisse spricht nichts gegen die Verwendung von antibakteriellen Hölzern, besonders von Kiefer-Hygieneholz, in Krankenhäusern (Wirmer, 2005; Schuster, Schmidt-Eisenlohr und Daschner, 2006).

#### 4.2. Diskussion über die eigenen Versuchsergebnisse

Anhand der durchgeführten Versuche kann festgestellt werden, wie gut bzw. schlecht die sieben verschiedenen Hölzer die Keime eliminieren.

Die Ergebnisse zeigen, dass nicht alle Holzarten und Holzvarianten gleich gute keimreduzierende Eigenschaften besitzen. Die Keimzahlen waren in allen Experimenten auf den Robinienholzbrettchen am höchsten. Auf den Brettchen des Rotbuche-Normalkernholzes und Rotbuche-Rotkernholzes waren ähnliche Keimzahlen zu finden. Das Rotbuche-Rotkernholz wies in den meisten Versuchen eine etwas bessere Keimabnahme als das Rotbuche-Normalkernholz auf. Somit kann für den Rotkern eine geringe Überlegenheit gegenüber dem Normalkern festgehalten werden. Die Keimreduktion auf den Weißtannebrettchen ist in den meisten Versuchen besser als auf den Brettchen des Rotbuche-Rotkernholzes. Im Vergleich zu den eben genannten Hölzern besaß das Kiefer-Splintholz eindeutig bessere keimreduzierende Eigenschaften. Die Keimzahlen auf den Splintholzbrettchen waren jedoch fast immer höher als auf den Brettchen des Kiefer-Hygieneholzes. Um dem Holz der Weißtanne und dem Kiefer-Splintholz eine sichere antimikrobielle Eigenschaft zuzuordnen, ist es erforderlich, weitere Untersuchungen durchzuführen. Eiche und Hygieneholz zeigten in allen Versuchen ähnlich gute und insgesamt die besten Keimreduktionen, wobei das Hygieneholz besser abschnitt als das Eichenholz. Somit kann eine eindeutige antibakterielle Wirkung nur für das Kiefer-Kernholz der Firma Wilms und das Eichenholz bestätigt werden.

Beim Vergleich der untersuchten Keime zeigte sich, dass die Überlebenszeit des gramnegativen E. coli auf den Holzbrettchen am geringsten ist. MRSA und VRE, beides grampositive Organismen, zeigten eine deutlich längere Überlebenszeit und die Keimzahlen waren zu den meisten Zeitpunkten auch wesentlich höher als bei E. coli. Die untersuchten grampositiven Keime waren weniger anfällig für die Holzinhaltsstoffe als die gramnegativen Erreger, was auch schon andere Autoren in ihren Untersuchungen festgestellt haben (Schönwälder, 1999; Schönwälder et al., 2000; Schönwälder et al., 2002; Milling et al., 2005a; Milling et al., 2005b; Strehlein et al., 2004; Wirmer, 2005). Als mögliche Erklärung wird auf die erheblich dickere Mureinschicht der grampositiven Erreger verwiesen, durch welche sie besser vor Penetration und Austrocknung geschützt sind (Schönwälder et al., 1996-2001; Milling, 2005). Die eindeutig höchsten Keimzahlen und somit die geringsten Eliminationen waren bei M. terrae, C. albicans und A. baumannii zu erkennen. Die

Mykobakterien zeigten sich mit ihrem grampositiven Zellwandaufbau als relativ unempfindlich gegenüber dem antibakteriellen Wirkprinzip. C. albicans besitzt als Hefe auch eine vergleichsweise dicke Zellwand und gehört ebenfalls nicht zu den empfindlichen Testkeimen. Weiterhin ist zu berücksichtigen, dass C. albicans im Vergleich zu den Bakterien einen wesentlich größeren Durchmesser besitzt. Der Durchmesser der Hefe (ca. 5 µm) ist um ein 5 - 10faches größer als z.B. der des MRSA (ca. 0,5 - 1 µm). Es ist folglich möglich, dass C. albicans weniger gut über die Tracheiden und Tracheen des Holzes in das Holzinnere aufgenommen wird. Aus diesem Grund könnte die Oberflächenkeimzahl von C. albicans auch höher sein als bei den Bakterien. Bei A. baumannii handelt es sich um ein gramnegatives Stäbchenbakterium. Jedoch kann die Keimelimination durch die Holzbrettchen nicht mit dem gramnegativen E. coli - Bakterium verglichen werden, da auf den Holzbrettchen des Acinetobacter zu allen Zeitpunkten und bei allen Hölzern deutlich höhere Keimzahlen in den Versuchen aufgefunden wurden. Acinetobacter-Stämme sind, wie von zahlreichen Autoren berichtet wurde, besonders widerstandsfähig und zeigen ein sehr langes Überleben, vor allem auf trockenen Oberflächen. Eine These für das lange Überleben, die wissenschaftlich noch nicht untersucht und bewiesen ist, ist eine Adaptation der Bakterien an das Umgebungsmilieu.

Eine weitere Frage, die sich nach den durchgeführten Versuchen stellt, ist, ob die Anwendung von antibakteriell wirkenden Hölzern in Krankenhäusern hygienisch sinnvoll ist und ob man aus diesem Grund eher Hölzer statt Kunststoffe verwenden sollte. Schuster et al. kamen zu dem Schluss, dass unbehandeltes antibakterielles Holz nicht als wirksame Hygienemaßnahme eingestuft werden kann. Hölzer mit antibakteriellen Eigenschaften wurden im Vergleich mit anderen Materialien nicht besser aber auch nicht schlechter eingestuft. In hygienisch kritischen Bereichen sollte jedoch auf unbehandeltes Holz verzichtet werden, da dieses schlechter zu reinigen ist als Kunststoff. Die Verwendung von antibakteriellen Hölzern im Krankenhaus ist empfehlenswert, jedoch nicht notwendig (Schuster, Schmidt-Eisenlohr und Daschner 2006). Wenn man sich zur Verwendung von Holz im Krankenhaus in hygienisch unkritischen Bereichen entschieden hat, sollte, wie in den eigenen Versuchen nachgewiesen wurde, Kiefer-Hygieneholz bzw. Kiefer-Kernholz oder Eichenholz verwendet werden, da diese Hölzer antibakterielle Eigenschaften besitzen.

### 5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die antibakteriellen Eigenschaften von sieben verschiedenen Hölzern untersucht: Splintholz der Gemeinen Kiefer, Kernholz der Gemeinen Kiefer (Hygieneholz), Reifholz der Weißtanne, Rotbuchen Normal- und Rotkernholz und Kernholz der Eiche und Robinie. Auf die Holzbrettchen wurden nosokomial relevante Mikroorganismen (MRSA, VRE, E. coli, A. baumannii, M. terrae, C. albicans) in zwei unterschiedlichen Konzentrationen aufgetragen und von den Holzoberflächen wurden anschließend zu fünf verschiedenen Zeitpunkten mit dem RODAC-Abklatschverfahren Proben genommen. Nach Inkubation der Platten im Brutschrank erfolgte die Auszählung der Kolonien.

Anhand der durchgeführten Versuche sollte festgestellt werden, ob noch andere Hölzer außer Hygieneholz und Eichenholz antimikrobielle Eigenschaften besitzen.

Insgesamt kann gesagt werden, dass nur dem Hygieneholz und der Eiche eine eindeutige antimikrobielle Wirkung zugeschrieben werden kann, wohingegen solche Eigenschaften für die Rotbuchen und Robinie nicht feststellbar waren. In der Diskussion stehen hingegen das Kiefer-Splintholz und die Weißtanne, die etwas schlechter als das Kiefer-Hygieneholz und die Eiche, aber deutlich besser als die Rotbuchen und die Robinie abschnitten. Um den beiden Hölzern jedoch eine sichere antimikrobielle Eigenschaft zuzuordnen ist es erforderlich weitere Untersuchungen durchzuführen.

Weiterhin konnte man anhand der Versuche erkennen, dass die Wirksamkeit auf die verschiedenen Keime unterschiedlich ist. Die Reduktion des gramnegativen E. coli war auf allen Holzbrettchen am deutlichsten. MRSA und VRE zeigten als Keime mit grampositivem Zellwandaufbau eine wesentlich längere und bessere Überlebenszeit, was man an den deutlich höheren Keimzahlen erkennen konnte. Die eindeutig höchsten Keimzahlen und somit die geringsten Eliminationen waren bei M. terrae, C. albicans und A. baumannii zu erkennen.

Anhand der gewonnenen Versuchsergebnisse können pauschale Vorbehalte gegenüber Holz weiter verringert werden. Antimikrobiell wirksames Holz kann zwar nicht als notwendige und wirksame Hygienemaßnahme eingestuft werden, jedoch zeigen die durchgeführten Versuche, dass dieses Holz eine gute Alternative zu anderen Materialien darstellt. Antimikrobiell wirksames, rohes Holz kann bei Flächen, bei denen kein oder nur ein sehr geringes Verschmutzungsrisiko besteht, gerne zum Einsatz kommen.

## 6. Anhang

#### 6.1. Versuchstabellen

### • Keim: MRSA 2728

Die Zahlenwerte in der Tabelle stellen die abgelesenen Kolonien pro Platte bzw. pro 10 cm² Kontaminationsfläche dar. Es wurden 20  $\mu$ l einer Lösung von 5 x 10<sup>5</sup> KBE/ml auf 10 cm² verteilt (dies entspricht 10<sup>3</sup> KBE/cm²).

#### Versuch 1

10:000:::					
Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	95	115	115	94	47
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	68	12	19	24	1
Weißtanne	138	98	64	81	39
Rotbuche (Normalkern)	176	190	232	203	144
Rotbuche (Rotkern)	182	204	199	146	89
Eiche	62	86	63	50	5
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

### Versuch 2

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	153	162	141	153	59
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	57	11	10	18	2
Weißtanne	198	126	108	107	71
Rotbuche (Normalkern)	193	238	270	281	185
Rotbuche (Rotkern)	210	187	207	190	97
Eiche	45	42	53	28	1
Robinie	>350	>350	>350	297	>350

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	80	157	118	106	48
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	42	7	15	7	2
Weißtanne	135	103	103	74	58
Rotbuche (Normalkern)	168	180	221	259	119
Rotbuche (Rotkern)	172	194	198	124	53
Eiche	53	51	41	47	4
Robinie	>350	>350	>350	>350	311

## • Keim: MRSA 2728

Die Zahlenwerte in der Tabelle stellen die abgelesenen Kolonien pro Platte bzw. pro 10 cm² Kontaminationsfläche dar. Es wurden 20  $\mu$ l einer Lösung von 5 x 10<sup>7</sup> KBE/ml auf 10 cm² verteilt (dies entspricht 10<sup>5</sup> KBE/cm²).

#### Versuch 1

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	181	13
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

### Versuch 2

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	106	4
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	307	94	3
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

### • Keim: VRE 860

Die Zahlenwerte in der Tabelle stellen die abgelesenen Kolonien pro Platte bzw. pro 10 cm² Kontaminationsfläche dar. Es wurden 20  $\mu$ l einer Lösung von 5 x 10<sup>5</sup> KBE/ml auf 10 cm² verteilt (dies entspricht 10<sup>3</sup> KBE/cm²).

## Versuch 1

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	171	154	161	154	26
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	76	37	47	47	12
Weißtanne	80	72	96	68	52
Rotbuche (Normalkern)	241	218	241	245	101
Rotbuche (Rotkern)	246	211	155	143	72
Eiche	100	47	91	127	19
Robinie	>350	>350	>350	>350	330

#### Versuch 2

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	180	146	116	150	55
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	39	14	29	12	3
Weißtanne	143	111	92	96	65
Rotbuche (Normalkern)	261	190	240	196	122
Rotbuche (Rotkern)	216	180	128	124	64
Eiche	88	75	112	129	53
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	151	125	149	113	39
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	84	28	44	85	1
Weißtanne	121	77	66	64	61
Rotbuche (Normalkern)	292	223	295	211	184
Rotbuche (Rotkern)	220	157	104	155	55
Eiche	60	23	50	71	29
Robinie	>350	>350	>350	>350	294

### • Keim: VRE 860

Die Zahlenwerte in der Tabelle stellen die abgelesenen Kolonien pro Platte bzw. pro 10 cm² Kontaminationsfläche dar. Es wurden 20  $\mu$ l einer Lösung von 5 x 10<sup>7</sup> KBE/ml auf 10 cm² verteilt (dies entspricht 10<sup>5</sup> KBE/cm²).

### Versuch 1

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	350
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

## Versuch 2

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

<u> </u>					
Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

## • Keim: E. coli 1000

Die Zahlenwerte in der Tabelle stellen die abgelesenen Kolonien pro Platte bzw. pro 10 cm² Kontaminationsfläche dar. Es wurden 20  $\mu$ l einer Lösung von 5 x 10<sup>5</sup> KBE/ml auf 10 cm² verteilt (dies entspricht 10<sup>3</sup> KBE/cm²).

### Versuch 1

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	161	119	84	56	1
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	28	35	7	6
Weißtanne	>350	143	134	101	27
Rotbuche (Normalkern)	>350	174	137	147	21
Rotbuche (Rotkern)	>350	112	81	56	11
Eiche	>350	77	35	39	11
Robinie	>350	>350	345	116	32

## Versuch 2

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	189	78	109	59	2
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	70	52	15	11
Weißtanne	>350	178	145	124	22
Rotbuche (Normalkern)	>350	204	155	85	7
Rotbuche (Rotkern)	>350	74	155	115	22
Eiche	>350	93	19	52	1
Robinie	>350	>350	311	152	41

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	127	67	48	32	2
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	92	39	2	7
Weißtanne	306	131	76	62	9
Rotbuche (Normalkern)	>350	173	120	53	21
Rotbuche (Rotkern)	>350	179	158	92	32
Eiche	>350	64	18	21	2
Robinie	>350	>350	271	159	37

## • Keim: E. coli 1000

Die Zahlenwerte in der Tabelle stellen die abgelesenen Kolonien pro Platte bzw. pro 10 cm² Kontaminationsfläche dar. Es wurden 20  $\mu$ l einer Lösung von 5 x 10<sup>7</sup> KBE/ml auf 10 cm² verteilt (dies entspricht 10<sup>5</sup> KBE/cm²).

## Versuch 1

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	177
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	329
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

### Versuch 2

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	136
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

<del> </del>					
Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	190
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

## • Keim: Acinetobacter baumannii RUH 874

Die Zahlenwerte in der Tabelle stellen die abgelesenen Kolonien pro Platte bzw. pro 10 cm² Kontaminationsfläche dar. Es wurden 20  $\mu$ l einer Lösung von 5 x 10<sup>5</sup> KBE/ml auf 10 cm² verteilt (dies entspricht 10<sup>3</sup> KBE/cm²).

#### Versuch 1

101000111					
Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	162
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	104	71	59	8	1
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	179
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	257
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	250
Eiche	166	75	72	93	28
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

### Versuch 2

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	164
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	72	35	21	31	1
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	178
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	251
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	212
Eiche	142	73	94	76	13
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	143
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	73	38	20	13	3
Weißtanne	>350	>350	302	257	126
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	175
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	147
Eiche	156	79	71	48	10
Robinie	>350	>350	>350	>350	323

## • Keim: Acinetobacter baumannii RUH 874

Die Zahlenwerte in der Tabelle stellen die abgelesenen Kolonien pro Platte bzw. pro 10 cm² Kontaminationsfläche dar. Es wurden 20  $\mu$ l einer Lösung von 5 x 10<sup>7</sup> KBE/ml auf 10 cm² verteilt (dies entspricht 10<sup>5</sup> KBE/cm²).

#### Versuch 1

<del></del>					
Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

### Versuch 2

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

10:000:10					
Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	313
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

## • Keim: Mycobacterium terrae

Die Zahlenwerte in der Tabelle stellen die abgelesenen Kolonien pro Platte bzw. pro 10 cm² Kontaminationsfläche dar. Es wurden 20  $\mu$ l einer Lösung von 5 x 10<sup>5</sup> KBE/ml auf 10 cm² verteilt (dies entspricht 10<sup>3</sup> KBE/cm²).

### Versuch 1

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	257	132	125	32	3
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	57	5	4	2	0
Weißtanne	>350	260	216	161	68
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	181
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	237	91
Eiche	261	56	54	36	2
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

## Versuch 2

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	322	216	218	81	7
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	124	58	16	4	0
Weißtanne	>350	>350	297	196	90
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	198
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	248	97
Eiche	266	121	104	14	0
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	344	147	144	34	0
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	135	10	13	2	0
Weißtanne	>350	285	210	142	48
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	206
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	274	78
Eiche	275	114	91	5	2
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

## • Keim: Mycobacterium terrae

Die Zahlenwerte in der Tabelle stellen die abgelesenen Kolonien pro Platte bzw. pro 10 cm² Kontaminationsfläche dar. Es wurden 20  $\mu$ l einer Lösung von 5 x 10<sup>7</sup> KBE/ml auf 10 cm² verteilt (dies entspricht 10<sup>5</sup> KBE/cm²).

## Versuch 1

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	85
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	111
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	78
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

## Versuch 2

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	68
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	132
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	99
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	98
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	37
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	41
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

## • Keim: Candida albicans 40

Die Zahlenwerte in der Tabelle stellen die abgelesenen Kolonien pro Platte bzw. pro 10 cm² Kontaminationsfläche dar. Es wurden 20  $\mu$ l einer Lösung von 5 x 10<sup>5</sup> KBE/ml auf 10 cm² verteilt (dies entspricht 10<sup>3</sup> KBE/cm²).

#### Versuch 1

<u> </u>					
Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	60
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	213	156	261	9
Weißtanne	>350	>350	335	>350	36
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	17
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	32
Eiche	>350	101	125	287	9
Robinie	>350	>350	>350	>350	203

## Versuch 2

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	104
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	194	150	250	3
Weißtanne	>350	291	286	346	24
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	338	>350	17
Rotbuche (Rotkernkern)	>350	>350	>350	>350	22
Eiche	>350	129	93	300	7
Robinie	>350	>350	>350	>350	241

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	76
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	174	168	219	4
Weißtanne	>350	>350	269	334	93
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	56
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	65
Eiche	>350	125	116	246	1
Robinie	>350	>350	>350	>350	162

## • Keim: Candida albicans 40

Die Zahlenwerte in der Tabelle stellen die abgelesenen Kolonien pro Platte bzw. pro 10 cm² Kontaminationsfläche dar. Es wurden 20  $\mu$ l einer Lösung von 5 x 10<sup>7</sup> KBE/ml auf 10 cm² verteilt (dies entspricht 10<sup>5</sup> KBE/cm²).

#### Versuch 1

<del></del>					
Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

### Versuch 2

Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

10:000:10					
Holz	0 min	30 min	1 h	4 h	24 h
Gemeine Kiefer (Splintholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Gemeine Kiefer (Hygieneholz)	>350	>350	>350	>350	>350
Weißtanne	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Normalkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Rotbuche (Rotkern)	>350	>350	>350	>350	>350
Eiche	>350	>350	>350	>350	>350
Robinie	>350	>350	>350	>350	>350

# 7. Abbildungs- und Diagrammverzeichnis

• <u>Abbildungen:</u>		
Abbildung 1:	Aufbau eines Holzstammes·····	13
	(www.holzwurm-page.de/holz/baum/aufbaustamm.htm)	
Abbildung 2:	Pinus sylvestris·····	19
	(www.wald.de)	
Abbildung 3:	Abies alba·····	20
	(www.wikipedia.de)	
Abbildung 4:	Abies alba·····	20
	(www.baum-des-jahres.de)	
Abbildung 5:	Fagus sylvatica······	20
	(www.baum-des-jahres.de)	
Abbildung 6:	Quercus sp.	21
	(www.wikipedia.de)	
Abbildung 7:	Robinia pseudoacacia······	21
	(www.drzewa.nk4.nazwa.pl/zasoby/atlas/robinia/	
	robinia_akacjowa/robinia_akacjowa_000.jpg)	
Abbildung 8:	Verdünnungsschritte von 1 x 10 <sup>8</sup> KBE/ml auf 5 x 10 <sup>5</sup> KBE/ml···	26
Abbildung 9:	Verdünnungsschritte von 1 x 10 <sup>7</sup> KBE/ml auf 5 x 10 <sup>5</sup> KBE/ml···	26
Abbildung 10:	Verdünnungsschritte von 1 x 10 <sup>8</sup> KBE/ml auf 5 x 10 <sup>7</sup> KBE/ml···	27
Abbildung 11:	Herstellung der C. albicans - Suspension mit 1 x 10 <sup>7</sup> KBE/ml··	27
Abbildung 12:	Darstellung des Versuchsablaufes······	29
	<b>3</b>	
• Diagramme:		
Diagramm 1:	Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit	
Diagramm 1.	MRSA 10 <sup>3</sup> KBE/cm <sup>2</sup>	31
Diagramm 2:	Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit	31
Diagramm 2:	MRSA 10 <sup>5</sup> KBE/cm <sup>2</sup>	22
Diogramm 2-		32
Diagramm 3:	Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation mit VRE 10 <sup>3</sup> KBE/cm <sup>2</sup> .····································	20
Diamer 4		33
Diagramm 4:	Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation	<b>.</b>
	mit VRE 10 <sup>5</sup> KBE/cm <sup>2</sup> .·····	34

Diagramm 5:	Obernachenvergieich der Holzbrettchen nach Inokulation	
	mit E. coli 10 <sup>3</sup> KBE/cm <sup>2</sup> .·····	35
Diagramm 6:	Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation	
	mit E. coli 10 <sup>5</sup> KBE/cm².·····	36
Diagramm 7:	Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation	
	mit A. baumannii 10 <sup>3</sup> KBE/cm².·····	37
Diagramm 8:	Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation	
	mit A. baumannii 10 <sup>5</sup> KBE/cm².····	38
Diagramm 9:	Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation	
	mit M. terrae 10 <sup>3</sup> KBE/cm <sup>2</sup> .·····	39
Diagramm 10:	Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation	
	mit M. terrae 10 <sup>5</sup> KBE/cm².·····	40
Diagramm 11:	Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation	
	mit C. albicans 10 <sup>3</sup> KBE/cm <sup>2</sup> .·····	41
Diagramm 12:	Oberflächenvergleich der Holzbrettchen nach Inokulation	
	mit C. albicans 10 <sup>5</sup> KBE/cm².·····	42
Diagramm 13:	Keimzahlvergleich auf dem Kiefer-Splintholz nach	
	Kontamination mit 6 verschiedenen Keimen in einer	
	Konzentration von 10 <sup>3</sup> KBE/cm².·····	43
Diagramm 14:	Keimzahlvergleich auf dem Kiefer-Hygieneholz nach	
	Kontamination mit 6 verschiedenen Keimen in einer	
	Konzentration von 10 <sup>3</sup> KBE/cm².·····	44
Diagramm 15:	Keimzahlvergleich auf der Weißtanne nach Kontamination	
	mit 6 verschiedenen Keimen in einer Konzentration von	
	10 <sup>3</sup> KBE/cm <sup>2</sup> .····	45
Diagramm 16:	Keimzahlvergleich auf dem Rotbuche-Normalkernholz nach	
	Kontamination mit 6 verschiedenen Keimen in einer	
	Konzentration von 10 <sup>3</sup> KBE/cm <sup>2</sup> .·····	46
Diagramm 17:	Keimzahlvergleich auf dem Rotbuche-Rotkernholz nach	
	Kontamination mit 6 verschiedenen Keimen in einer	
	Konzentration von 10 <sup>3</sup> KBE/cm <sup>2</sup> .·····	47
Diagramm 18:	Keimzahlvergleich auf der Eiche nach Kontamination mit	
	6 verschiedenen Keimen in einer Konzentration von	
	10 <sup>3</sup> BF/cm <sup>2</sup>	48

Diagramm 19:	Keimzahlvergleich auf der Robinie nach Kontamination mit	
	6 verschiedenen Keimen in einer Konzentration von	
	10 <sup>3</sup> KBE/cm <sup>2</sup> .····	49

#### 8. Literaturverzeichnis

- **1 Ak, N.O., Cliver, D.O., Kaspar, C.W.** (1994a). Cutting Boards of Plastic and Wood Contaminated Experimentally with Bacteria. Journal of Food Protection 57, 16-22.
- **2 Ak, N.O., Cliver, D.O., Kaspar, C.W.** (1994b). Decontamination of Plastic and Wooden Cutting Boards for Kitchen Use. Journal of Food Protection 57, 23-30.
- **3 Boursillon, D., Riethmüller, V.** (2005). Die Verwendung von Schneidebrettern aus Holz ist hygienisch sicher. Hochschule Albstadt-Sigmaringen. Fachbereich Life Sciences Lebensmittelmikrobiologie und Hygiene.
- **4 Braun, A.** (2006). Die "Falsche Akazie" aus Amerika. Robinie wird in der Ortenau bekämpft/Verursacht sinkende Wasserqualität/Die Samen sind giftig. Kehler Zeitung.
- 5 Conrad, A., Wenzler, S., Daschner, F., Mlangeni, D., Dettenkofer, M., Meyer, E., Jonas, D. (2006). Skript Krankenhaushygiene. Institut für Umweltmedizin und Krankenhaushygiene Freiburg. S.33-43.
- **6 Fengel, G., Grosser, D.** (1975). Chemische Zusammensetzung von Laub- und Nadelhölzern. Holz als Roh- und Werkstoff 33: 32-34:
- **7 Field, J.A., Lettinga, G.** (1992). Toxicity of tannic compounds to microorganisms. Basic Life Sci.: Plant Polyphenols. Edited by R.W. Hemingway und P.E. Laks, Plenum Press, New York, 673-692.
- **8 Gebken, S.** (2004). Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirkung von Holz unter Berücksichtigung praktischer Anwendungsbereiche. Diplomarbeit an der Fachhochschule Oldenburg.

- **9 Gehrig, M., Schnell, G., Zürcher, E., Kucera, L.J.** (2000). Hygienische Eigenschaften von Holz- und Kunststoffbrettern in der Nahrungsmittelverarbeitung und –präsentation: Ein Vergleich. Holz als Roh- und Werkstoff 58, 265-269.
- **10 Gilbert, R.J., Watson, H.M.** (1971). Some laboratory experiments on various meat preparation surfaces with regard to surface contamination and cleaning. J. Fd. Technol. 6, 163-170.
- **11 Großklaus, D., Levetzow R.** (1967). Neue Untersuchungen über die hygienischtechnologische Eignung von Schneideunterlagen aus Kunststoff. Fleischwirtschaft 47, 38-40.
- **12** Heuer, H., Wieland, G., Schönfeld, J., Schönwälder, A., Gomes, N.C.M., Smalla, K. (2001). Bacterial Community Profiling Using DGGE or TGGE Analysis. Environmental Molecular Microbiology: Protocols and Applications (P. Rouchelle, Hrg.), Horizon Scientific Press, Wymondham, 177-190.
- **13 Hof, H., Dörries, R.** (2002). Medizinische Mikrobiologie. Duale Reihe. 2. Auflage. Georg Thieme Verlag GmbH Stuttgart. S. 275-283, 298-300, 330-331, 352, 373-376, 457-462.
- **14 Kampelmacher**, E.H., Mossel, D.A.A., van Schothorst, M., van Noorle **Jansen**, L.M. (1971). Quantitative Untersuchungen über die Dekontamination von Holzflächen in der Fleischverarbeitung. Alimenta Sondernummer, 70-76.
- **15 Kelch, F., Palm, A.** (1958). Vergleichende Untersuchungen über den Oberflächenkeimgehalt von Holz- und Metalltischflächen in Fleisch verarbeitenden Betrieben. Fleischwirtschaft 10, 17-20.
- **16 Kempe, K.** (1999). Dokumentation Holzschädlinge. Holzzerstörende Pilze und Insekten an Bauholz. 1. Auflage. Verlag Bauwesen Berlin. S. 43-73.
- **17 Laks, P.E., Mc Kaig, P.A.** (1988). Flavonoid Biocides: Wood Preservatives Based on Condensed Tannins. Holzforschung 42, 299-306.

- **18 Lukowsky, D.** (1994). Holz oder Kunststoff Was ist hygienischer? Holz-Zentralblatt, Stuttgart Nr. 65 / 66, 1079.
- 19 Niemz, P., Baum, S., Junghans, K., Bächle, F., Sonderegger, W. (2006). Holzphysik. Skript zur Vorlesung. Eidgenössische Technische Hochschule Zürich. Institut für Baustoffe, Werkstoffchemie und Korrosion. Vorlesungsskript, 3-22.
- **20 Milling, A.** (2005). Holz ein natürlicher Werkstoff mit antibakteriellen Eigenschaften? Vergleichende Untersuchungen zum Überleben von Bakterien auf Holz und Kunststoff mit mikrobiologischen und molekularen Methoden. Dissertation an der TU Braunschweig.
- **21 Milling, A., Kehr, R., Wulf, A., Smalla, K.** (2005a). Survival of bacteria on wood and plastic particles: Dependence on wood species and environmental conditions. Holzforschung 59, 72-81.
- **21 Milling, A., Kehr, R., Wulf, A., Smalla, K.** (2005b). The use of wood in practice a hygienic risk? Holz als Roh- und Werkstoff 63, 463-472.
- **22 Milling, A., Gomes, N.C.M., Oros-Sichler, M., Götz, M., Smalla, K.** (2005c). Nucleic acid extraction from environmental samples. Molecular Microbial Ecology (A.M. Osbourne, C.J. Smith, Hrg.), Garland-Bios, Oxford.
- **23 Rödel, W., Hechelmann, H., Dresel, J.** (1994). Hygieneaspekte zu Schneideunterlagen aus Holz und Kunststoff. Fleischwirtschaft 74 (8), 814-821.
- **24 Schönwälder, A.** (1999). Hygienische Aspekte bei Holz und Holzprodukten. AFZ Der Wald 15, 789-791.
- **25 Schönwälder, A., Kehr, R., Wulf, A., Smalla, K.** (2000), Antibakterielle Eigenschaften von Holz beachtenswert. Holz-Zentralblatt 147: 2037-2038.
- **26 Schönwälder, A., Kehr, R., Wulf, A., Smalla, K.** (2002). Wooden boards affecting the survival of bacteria. Holz als Roh- und Werkstoff 60, 249-257.

- 27 Schönwälder, A., Kehr, R., Wulf, A., Smalla, K. (1996-2001). Bericht zum Forschungsprojekt. Untersuchungen zu den hygienischen und phytosanitären Eigenschaften von Holz und Holzprodukten. Biologische Bundesanstalt für Landund Forstwirtschaft, Institut für Pflanzenvirologie, Mikrobiologie und biologische Sicherheit Braunschweig.
- **28 Schulz, H.** (1995). Holz in Kontakt mit Lebensmitteln. Hat Holz antibakterielle Eigenschaften? Holz-Zentralblatt, Stuttgart Nr. 84, 1395-1396.
- **29 Schuster, A., Schmidt-Eisenlohr, E., Daschner, F.** (2006). Wie hygienisch und sinnvoll ist Holz in Patientenzimmern? Krh.-Hyg. Inf. Verh. 28 (4): 131-137.
- 30 Simon, A., Gröger, N., Engelhart, S., Molitor, G., Exner, M., Bode, U., Fleischhack, G. (2004). Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) Übersicht zu Bedeutung, Prävention und Management in der Pädiatrie. Hygiene und Medizin 29: 259-270.
- **31 Siegrist, H.H.** (2000). Acinetobacter spp.: Nosokomiale Infektionen, Epidemiologie und Antibiotikaresistenz. Swiss-NOSO Band 7, Nr. 1, 6-
- **32 Steinkamp, H., Wilms, H.** (2001). Kiefernkernholz ist ein effektiver Keimkiller. In puncto Hygiene schneiden Holzpaletten deutlich besser ab als die Kunststoffkonkurrenz. Lebensmittel-Zeitung 24.
- **33 Stiebing, A.** (2002). Holz sehr eingeschränkt zugelassen Zur Verwendung von Holzpaletten in fleischverarbeitenden Betrieben. Fleischwirtschaft 1, 34-35.
- **34 Strasburger, E., Denffer, D.** (1983). Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. 32. Auflage. Gustav Fischer Verlag: 163-171.
- **35 Strehlein, M., Wirmer, J., Schmidt-Eisenlohr, E., Daschner, F.** (2004). Nutzung von Holz im Krankenhaus unbedenklich. Holz-Zentralblatt 71: 951-952.
- **36 Sutter, H.P.** (1992). Holzschädlinge an Kulturgütern erkennen und bekämpfen. 3. Auflage. Verlag Paul Haupt Bern, Stuttgart, Wien. S. 13-27.

**37 Wirmer, J.** (2005). Antimikrobielle Wirkung von Kieferkernholz. Doktorarbeit aus dem Institut für Umweltmedizin und Krankenhaushygiene der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau.

#### 9. Internetverzeichnis

www.baum-des-jahres.de

www.baumkunde.de

www.biologie.uni-ulm.de/lehre/allgbot/sekachse.html

www.drzewa.nk4.nazwa.pl

www.forst.uni-muenchen.de

www.holzwurm-page.de

www.infektionsnetz.at

www.meb.uni-bonn.de/giftzentrale/robinie.html

www.portal.wko.at/wk/dok\_detail\_file.wk?AngID=1&DocID=312820

www.proholz.at

www.rki.de

www.tu-cottbus.de/stahlbau/lehre/holzbau/vertiefung\_holz

www.wald.de

www.wilms.com

## 10. Lebenslauf

#### Persönliche Daten

Name: Fürst

Vorname: Denise

Anschrift: Rehfusplatz 5, 77694 Kehl

Geburtstag: 19.03.1982

Geburtsort: Offenburg

Staatsangehörigkeit: deutsch

Familienstand: ledig

Konfession: römisch-katholisch

#### **Schulischer Werdegang**

1988 – 1992: Grundschule in Kehl

1992 – 2001: Einstein-Gymnasium Kehl

2001: Allgemeine Hochschulreife

#### Studium

Wintersemester 2001: Humanmedizin an der Albert-Ludwigs-Universität in

Freiburg

August 2003: Physikum

August 2006 – Juni 2007: Praktisches Jahr am Klinikum Offenburg