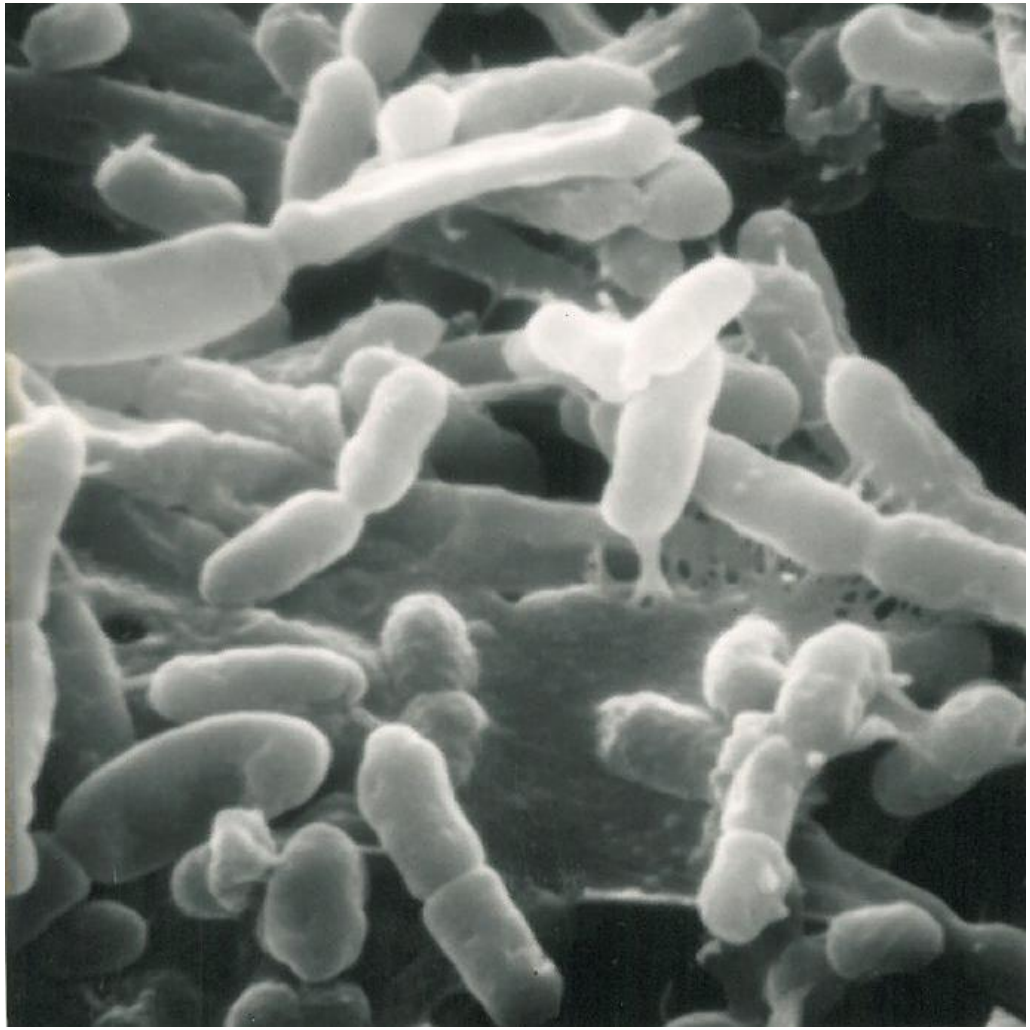
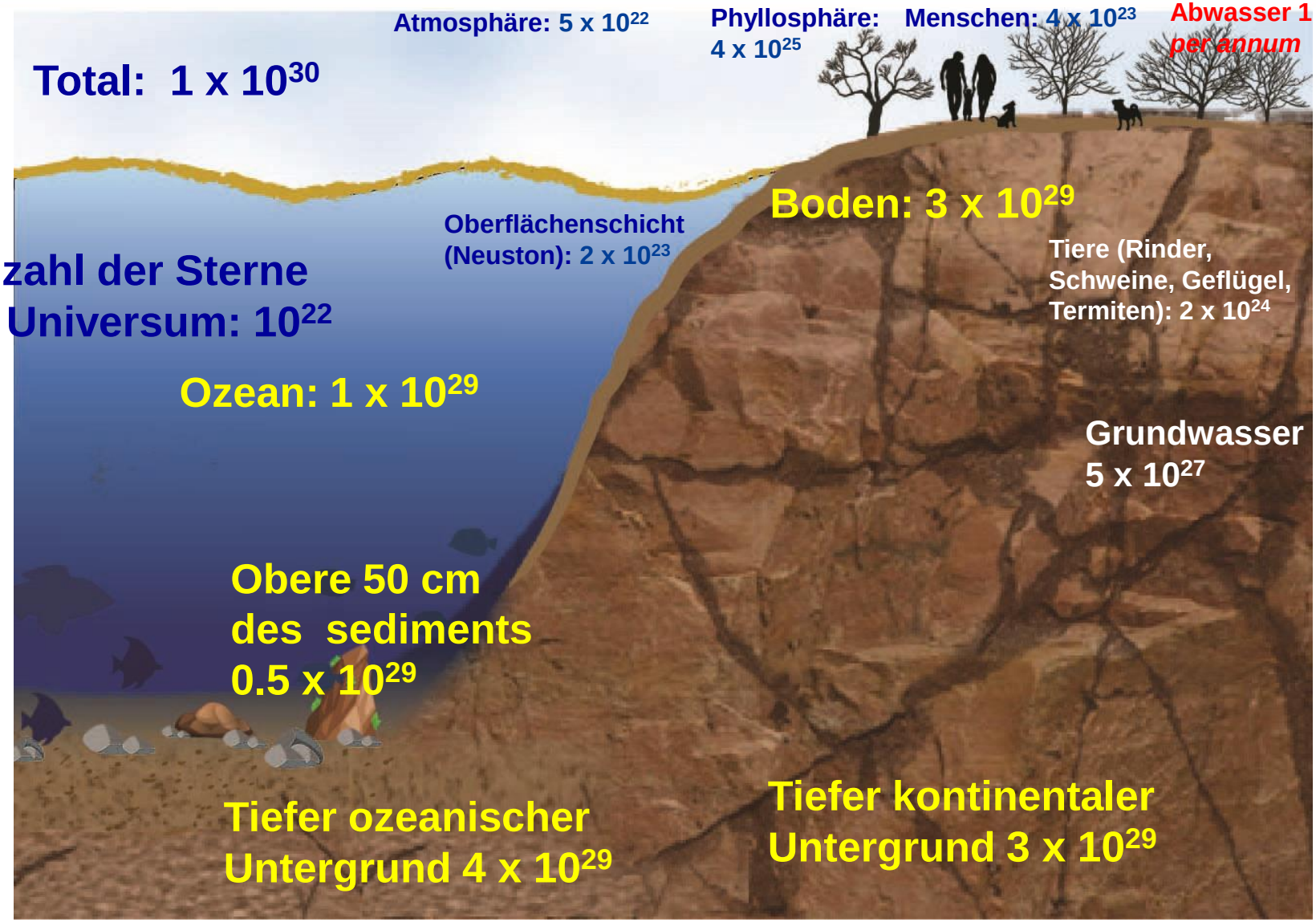
Biofilme: wo Pathogene sich zuhause fühlen



Prof. Dr. Hans-Curt Flemming,
Universität Duisburg-Essen, Biofilm Centre

Die Welt ist von Biofilmen durchdrungen

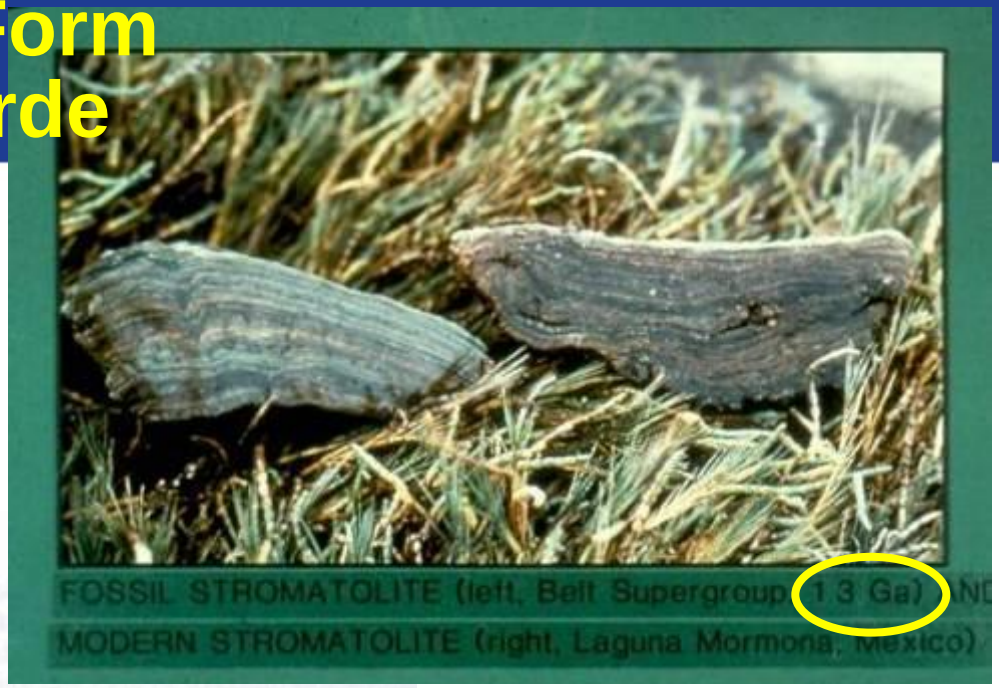


Biofilme: die Stärke der Gemeinsamkeit

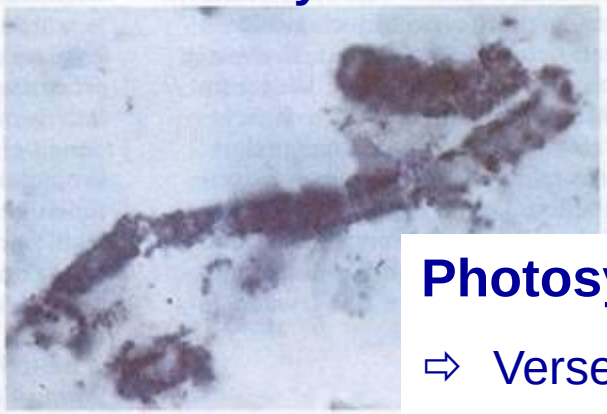
- Biofilme sind Aggregate von Mikroorganismen, eingehüllt in ihre Schleimschicht (EPS), die sich an Grenzflächen, biologischem Gewebe oder aneinander angeheftet haben.
- In ihnen gibt es intensive Wechselwirkungen und sie stellen “erweiterte Organismen” dar, ähnlich wie Wälder, Korallenriffe oder Bienenstöcke
- Ihre Stärke ist die Gemeinsamkeit: zusammen haben sie Eigenschaften, die sie nur im Biofilm, aber nicht singuläre Zellen haben, z.B.
  - ⇨ Erhöhte Toleranz gegenüber Antibiotika und Desinfektionsmitteln
  - ⇨ Externes Verdauungssystem: Exo-Enzyme an die Schleim-Matrix gebunden, erlauben Abbau von Biopolymeren
  - ⇨ Synergismus verschiedener Spezies, die stabile Mikrokonsortien innerhalb der Matrix bilden können
  - ⇨ Hohe Biodiversität durch Gradienten in pH-Wert, Redox-Potential, Sauerstoff-Konzentration etc.
- ***Diese werden als „emergente Eigenschaften“ bezeichnet, ähnlich wie bei Wäldern, Korallenriffen oder Bienenstöcken***

Biofilme: die älteste Form des Lebens auf der Erde

So beginnt der Prozess



Fossile Cyanobakterien



(a) (b)

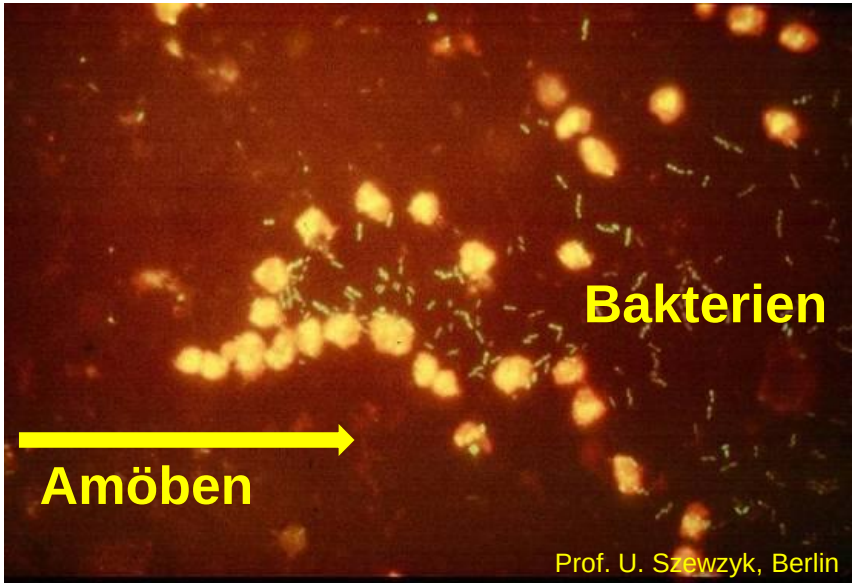
3.23 Urzeitliche Riffe in Australien enthalten fossile Hinweise auf Mikroorganismen, die vor 3.5 Milliarden Jahren im Meer lebten. In die klebrige extrazelluläre Hülle von Cyan[illegible]ge Mengen Sand und Kalkstein eingeschlossen. Nach und nach entstanden daraus die Stromatolithen, die man heute in Hamelin Bay in Westaustralien findet **(a)**. Untersucht man Dünnschnitte der Stromatolithe mit dem Mikroskop, so erkennt man Mikrofossilien fadenförmiger Bakterien (b).

Photosynthese im Biofilm

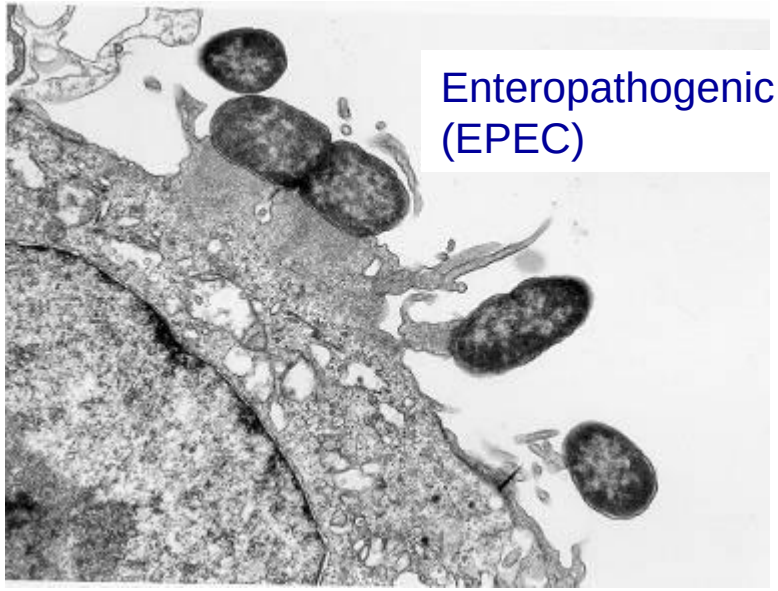
- ⇨ Verseuchung der ursprünglich anaeroben Atmosphäre mit O_2
- ⇨ Globale Umweltkatastrophe für Anaerobier
- ⇨ Unsere Lebensgrundlage

Fressen und gefressen werden im Biofilm: Der Ursprung der Infektion

Amöben beweiden Bakterien



Bakterien greifen Epithelzellen an



http://medschool.umaryland.edu/infeMSD/A&etem.JPG

- Das „Konzept“ der Infektion ist im Biofilm entstanden:
- Konkurrenz zwischen Biofilm-Bewohnern macht auch vor höheren Organismen nicht Halt

Hygienische und technische Probleme durch Biofilme in Trinkwassersystemen

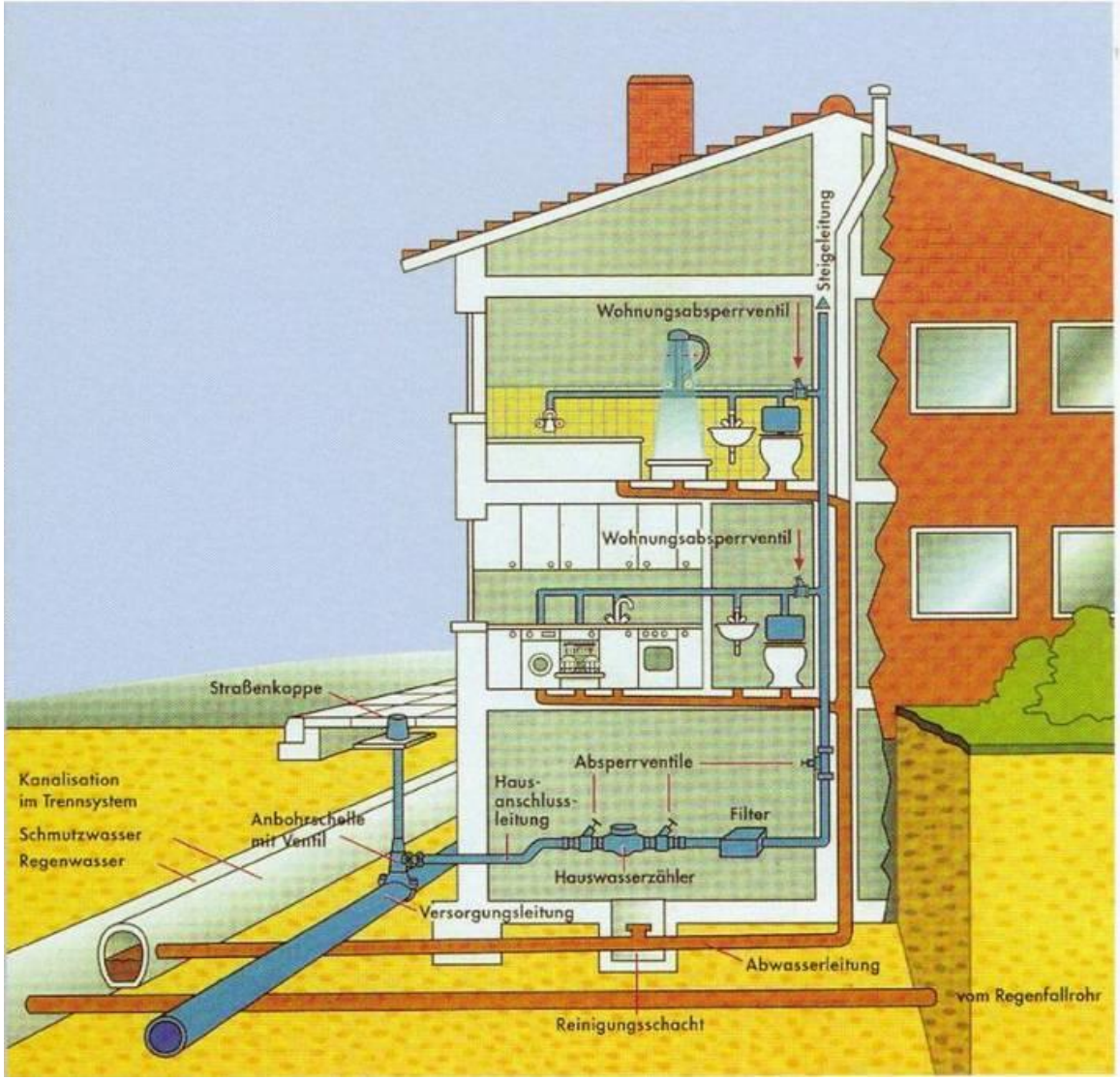
- Kontamination des Wassers durch Biofilm-Mikroorganismen: (Aufkeimung, Freisetzung von Mikroorganismen mit hygienischer Relevanz)
- Erhöhte Toleranz gegenüber Desinfektionsmitteln, Zehrung von Desinfektionsmitteln, Bildung von Nebenprodukten
- Bildung von Geruchsstoffen (z. B. durch Actinomyceten)
- Ursache für Verfärbung und Trübung von Trinkwasser (z. B. durch Eisen- und Manganoxid ablagernde Bakterien)

⇨ Probleme: Totstränge, wenig durchflossene Leitungen, Stagnation, ungeeignete Materialien

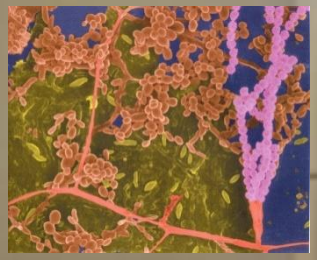
Hausinstallation als Grauzone

Risikofaktoren:

- Viele verschiedene, oft ungeprüfte Werkstoffe
- Totstellen/-stränge
- Unregelmäßige Verbrauchs-Charakteristik
- Stagnation (Nacht, (Wochenende, Urlaub)
- Im Wassersystem reichern sich Bakterien und Metalle aus der Installation an
- ABLAUFEN LASSEN!

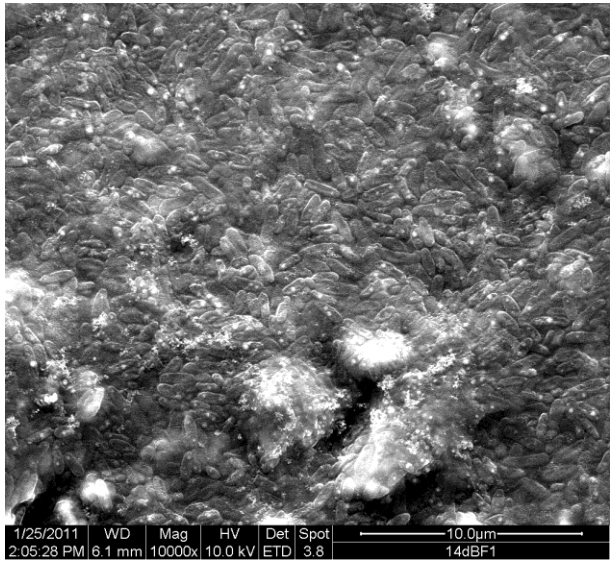


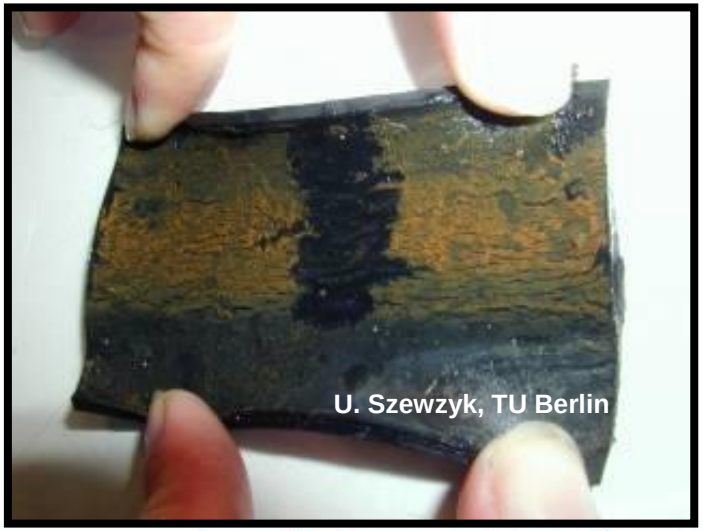
Der Biofilm zuhause (1) - die Küche

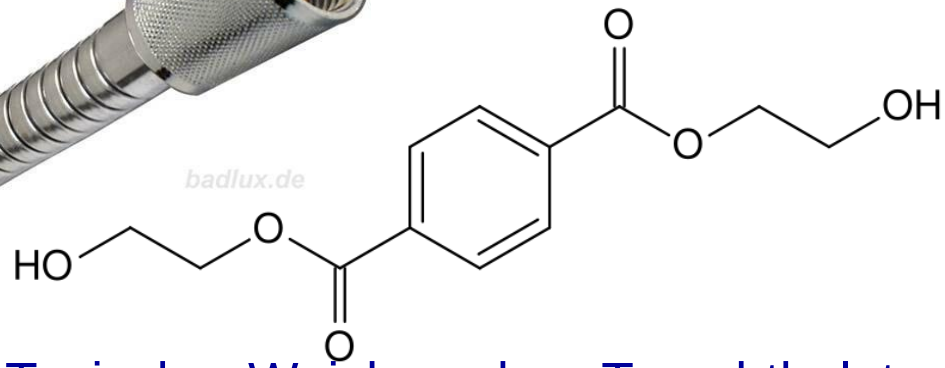


Der Biofilm zuhause (2): Dusch-Schlauch

- Gummi enthält Weichmacher und andere Zusätze, die mikrobiell verwertbar sind
- Es bilden sich Biofilme
- Zu den bedenklichen Kontaminanten gehören *Legionella pneumophila, Pseudomonas aeruginosa* u.a.







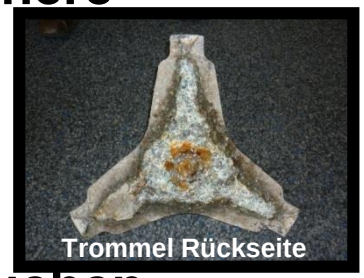
Typischer Weichmacher: Terephthalat (mikrobiell verwertbar)

Der Biofilm zuhause (3): Waschmaschine

- Pilzwachstum hinter der Einfüllkammer
- Schleimbildung i. Schläuchen u. Rohren
- Wäsche riecht, wenn lange feucht
- Ansteckung über Wäsche

Ursache: Biofouling – aufgrund von Umwelt- und Faserschutz

- Biologisch gut abbaubare Waschmittel
- Wasser sparen ☞ höhere Waschmittel-Konzentrationen
- Flüssigwaschmittel haften stärker an den Wänden – höhere Konzentrationen an Grenzflächen
- Niedrigere Waschtemperaturen (Energiesparen)
- Keine Peroxide oder Bleichmittel mehr im Waschmittel
- Wasser mit Waschmittelresten verbleibt lange in Schläuchen (konstruktionsbedingt) – gute Wachstumsbedingungen
- Reservoir und Verteilungssystem für Pathogene



Biofilme: Mögliche Reservoirs für Pathogene

Waschbecken im Duschraum einer Schule, Befund: Kontamination des Wassers mit *P. aeruginosa*

Armatur mit Biofilm: Quelle der Kontamination des Wassers mit *P. aeruginosa*

B. Lange, IWW

Einzelteile schwer zu desinfizieren

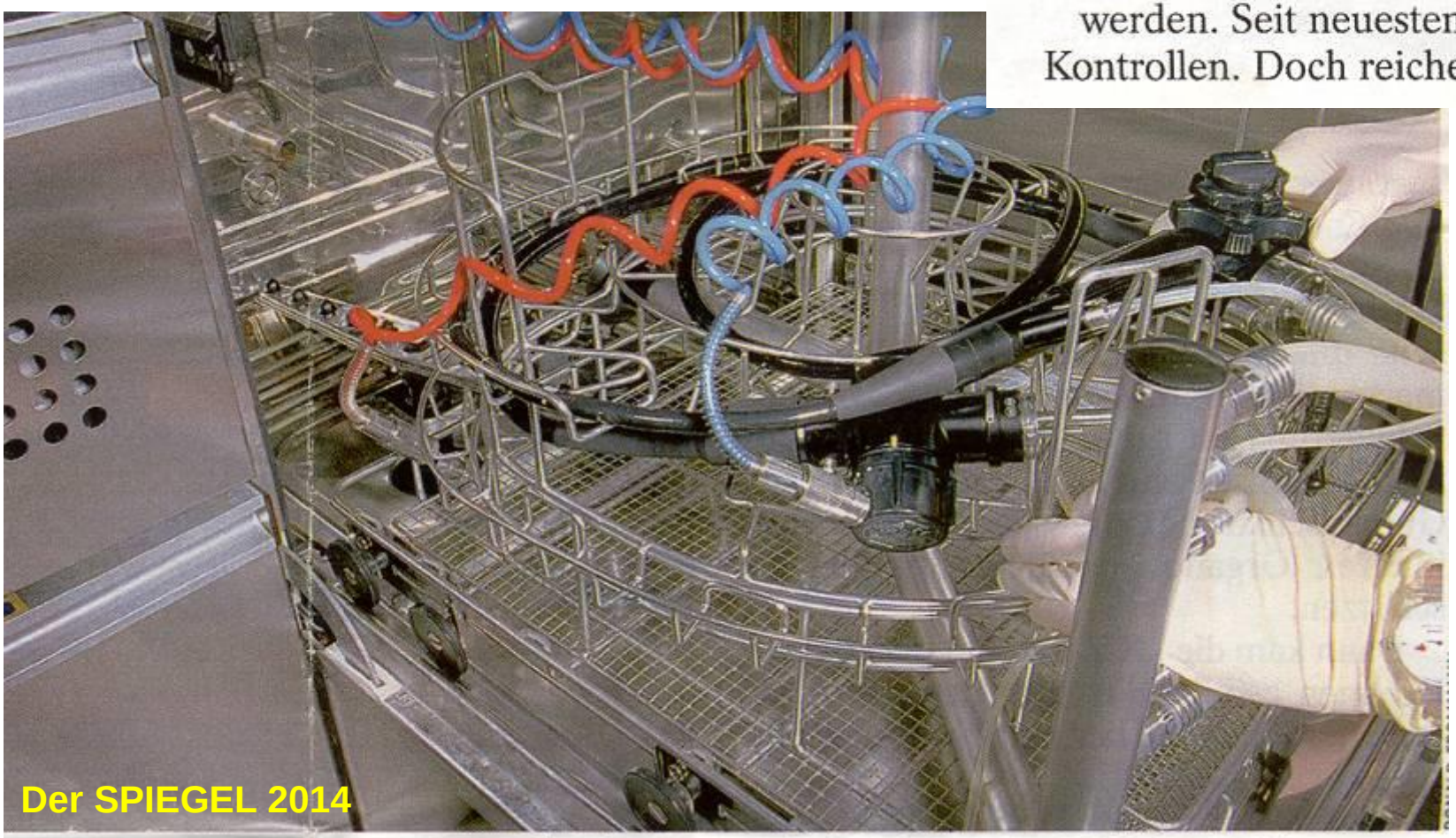
Auch: berührungslose Armaturen!

Den Biofilm loswerden?

Reinigung medizinischer Geräte:
Beseitigung von Biofilmen

Keime im Kanal

Bei Darmspiegelungen können lebensgefährliche Erreger wie Hepatitis- oder Aidsviren übertragen werden. Seit neuestem gibt es Kontrollen. Doch reichen sie aus?



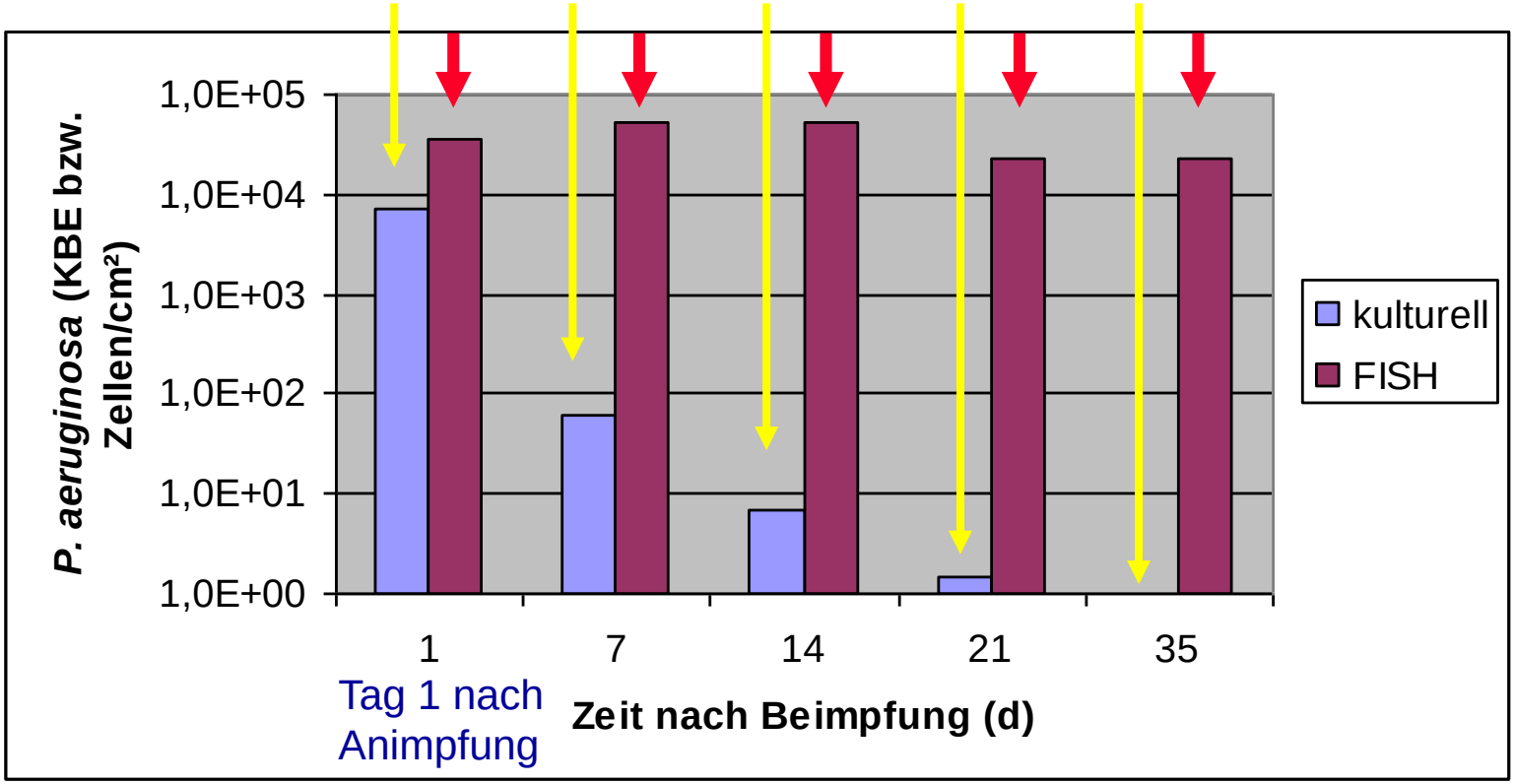
Der SPIEGEL 2014

Endoskop-Waschmaschine: *Die Mikroben verstecken sich in einer Schleimschicht*

Kann man Pathogene auswaschen? Persistenz von *P. aeruginosa* im Biofilm

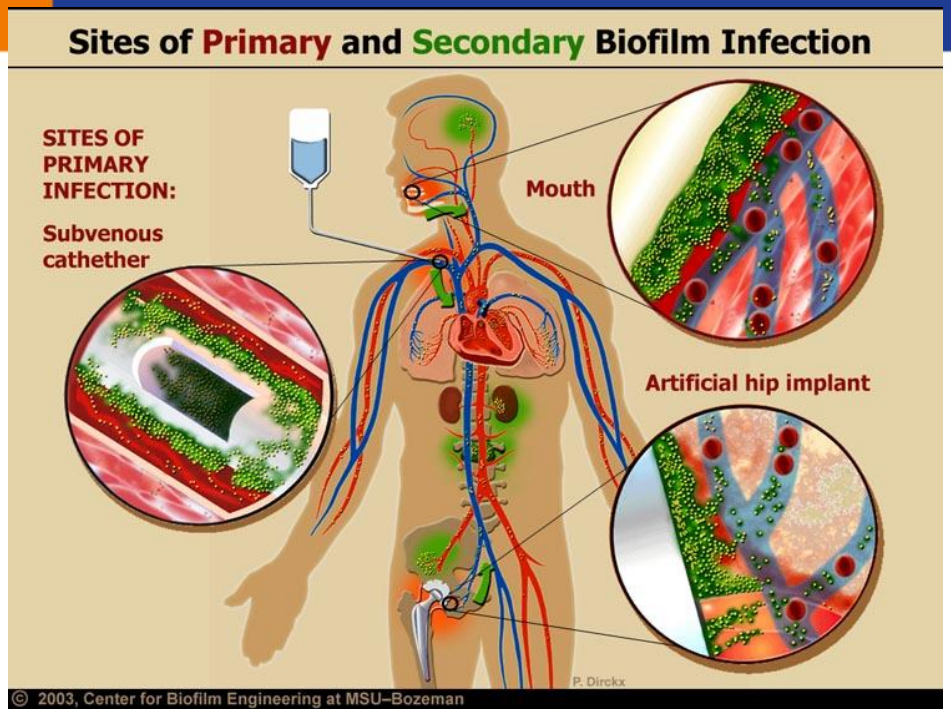
***P. aeruginosa*-Isolat aus einem Schadensfall**

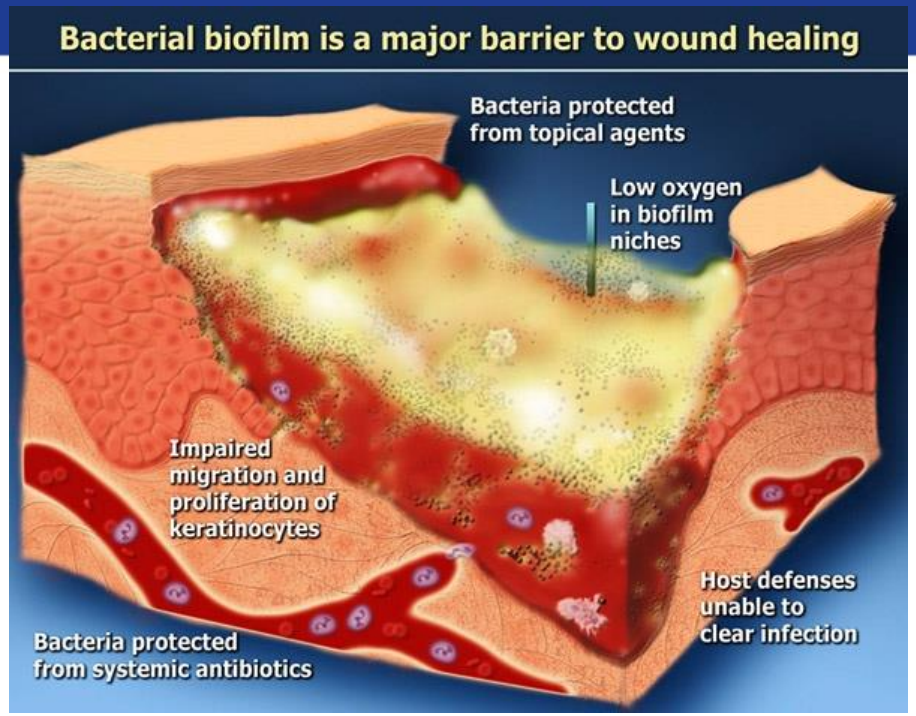
- im Biofilm (auf EPDM, zugelassen nach W270) kulturell auf CN-Agar
- FISH (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung), Gensonde Psae16S-182.



- **Hinweis auf Persistenz von *P. aeruginosa* im Trinkwasser-Biofilm auf EPDM in nicht-kultivierbarem Zustand (VBNC)!**
- **Infektiös nach „Wiederbelebung“ (resuscitation)**

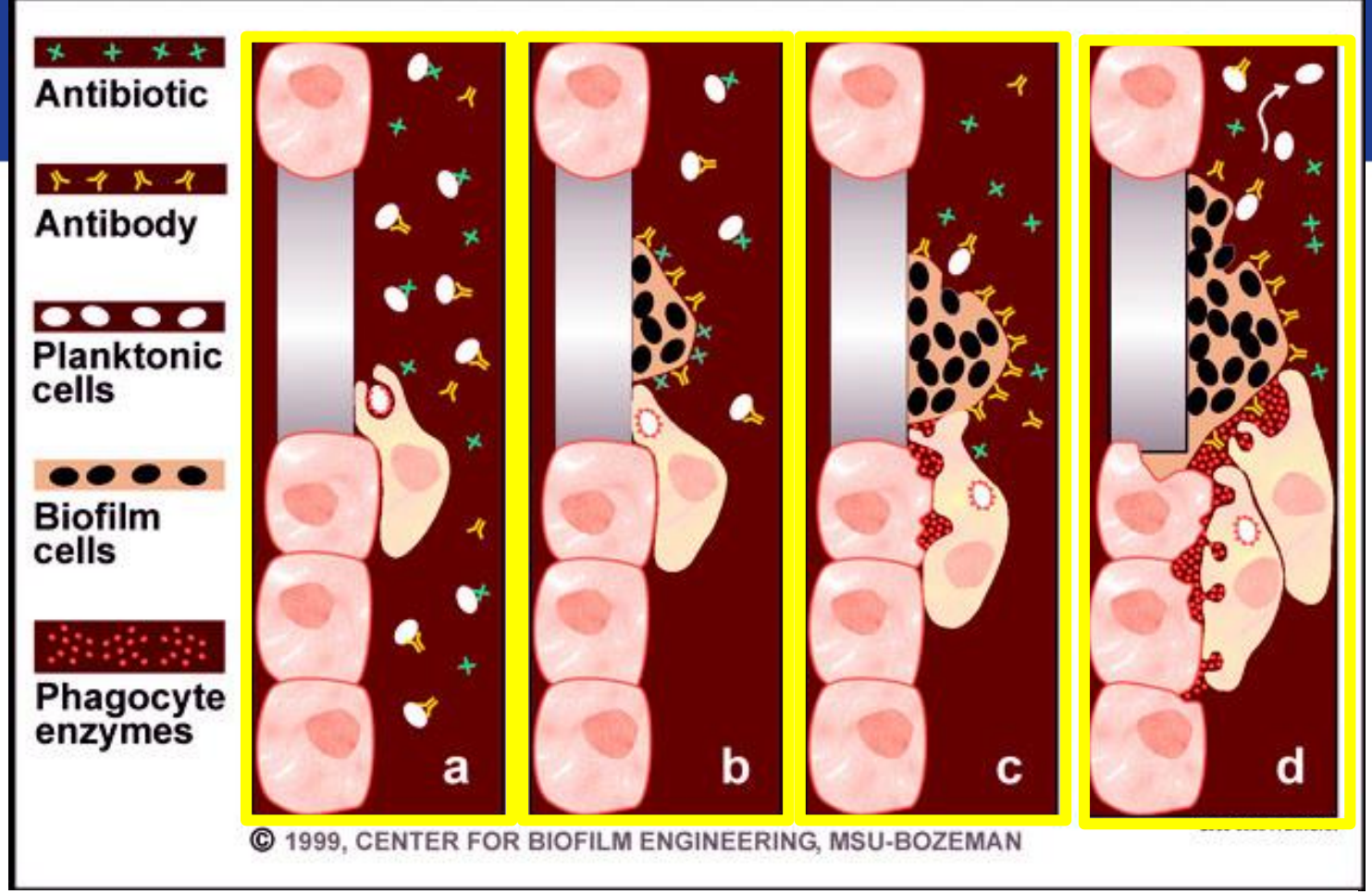
Biofilm-Infektionen





- Katheter und Implantate
- Chronische Wunden
- Knocheninfektionen
- Karies

Biofilm und das frustrierte Immun-System



(a) Planktonische Bakterien können von Phagozyten vernichtet und von Antibiotika bekämpft werden

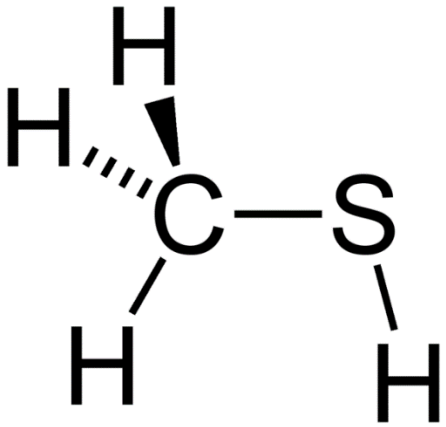
(b) Angeheftete Bakterien formen Biofilme, besonders auf inerten Oberflächen, und sind dort resistent gegenüber Antikörpern, Phagozyten und Antibiotika

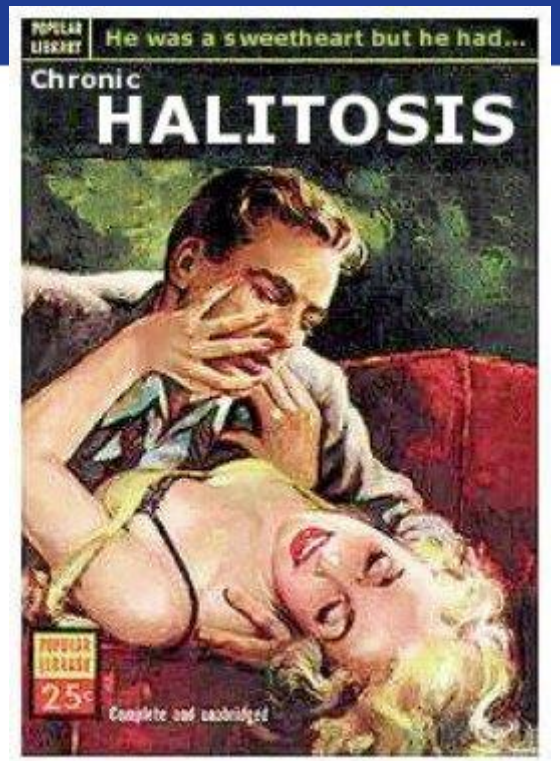
(c) Phagozyten werden von den Biofilme angelockt, können sie aber nicht angreifen. Aber die phagozytischen Enzyme werden ausgeschieden

(d) Phagozytische Enzyme schädigen das Gewebe um den Biofilm, planktonische Bakterien werden freigesetzt, wodurch Nachbargewebe infiziert wird

(*Science*, 21 May, 1999, VOL 284)

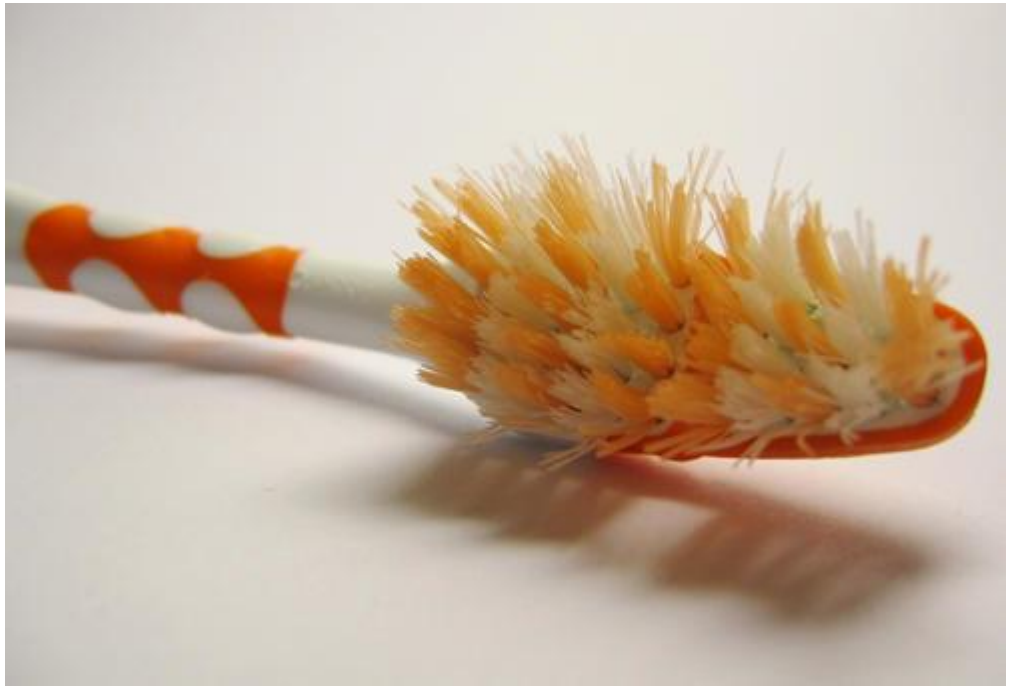
Biofilm und Mundgeruch: Methantiol



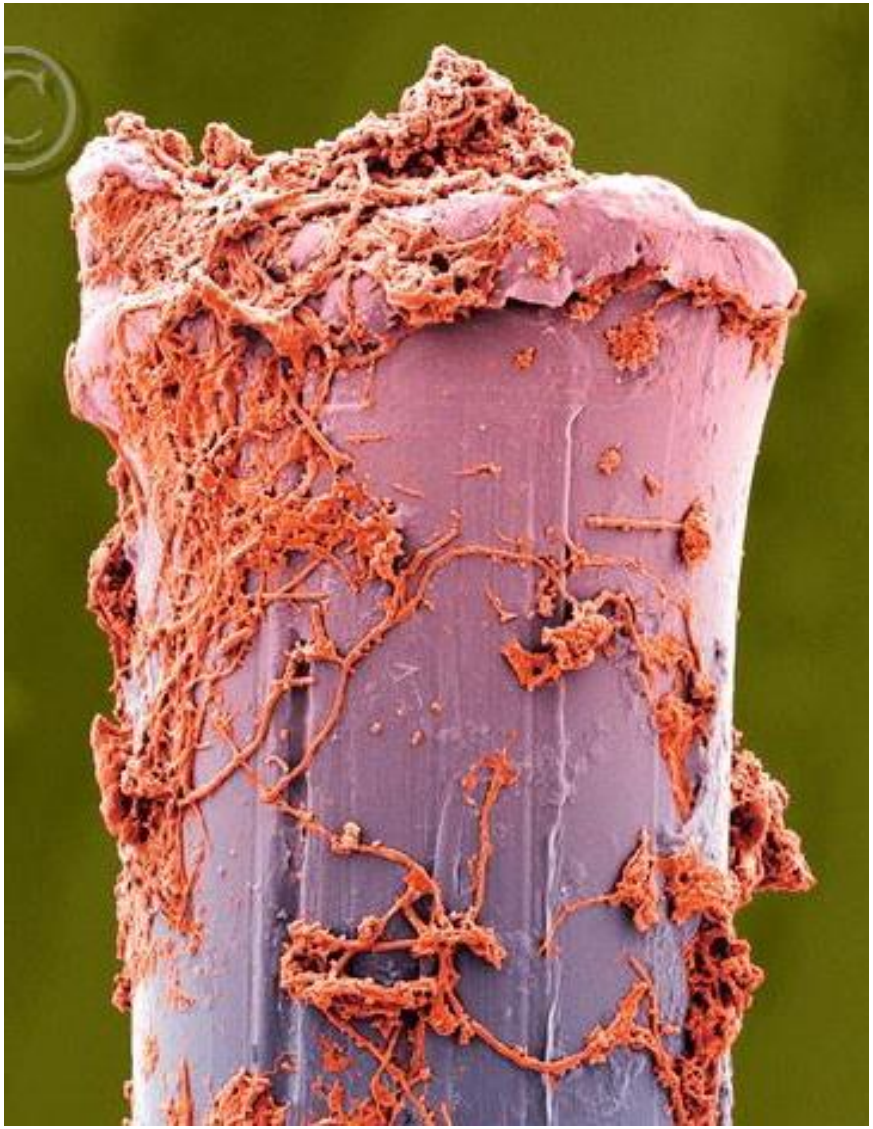


Geheimtip:
Zungenschaber

Biofilm auf Zahnbürsten-Borsten



Familienzahnbürste



http://www.clinicagerminacao.com.br/wp-content/uploads/2013/01/biofilme-na-escova-dental.png

Verlauf einer Infektion und Biofilm-Bildung

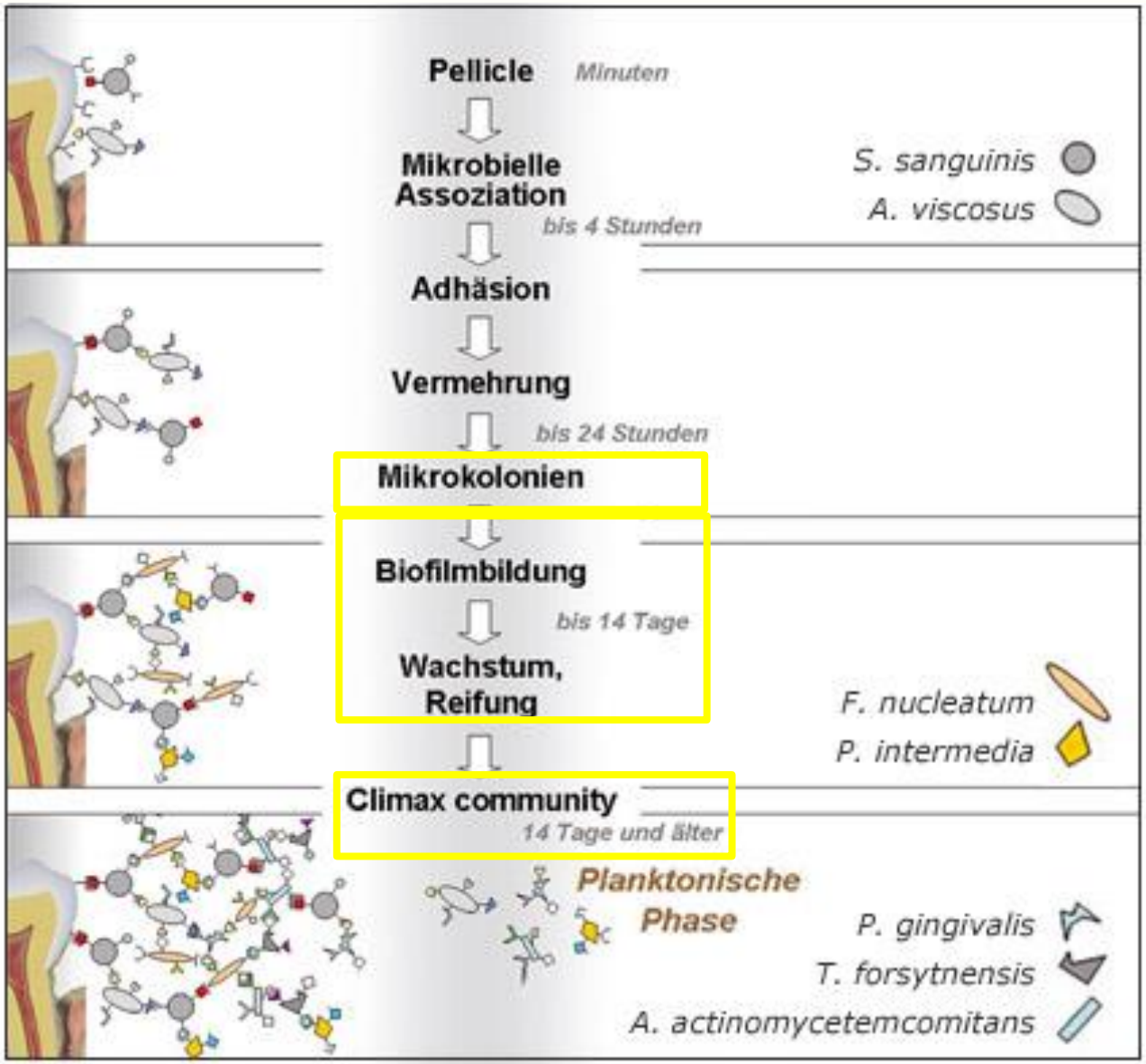
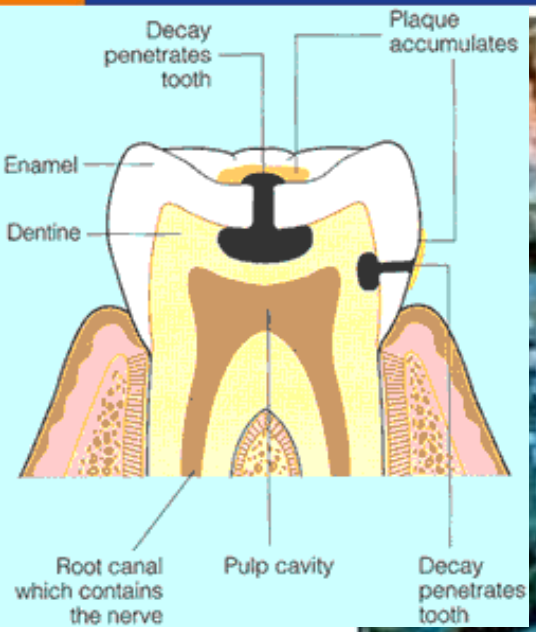
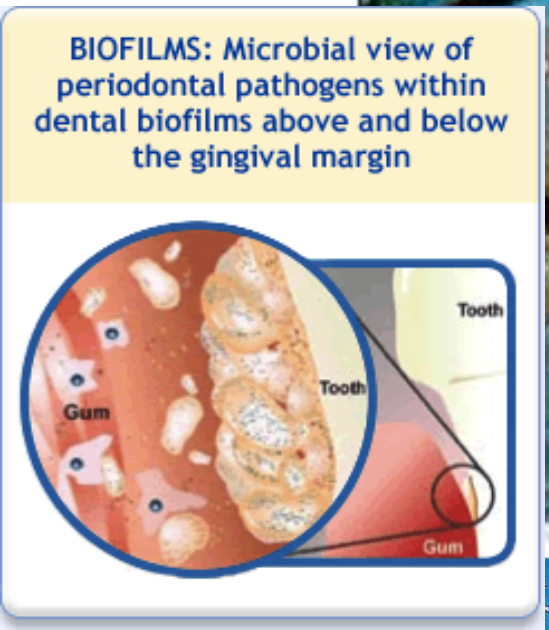


Abb.1: Schematische Darstellung der Biofilmbildung.

Jaroch und Kielbassa, ZWP online, 2009

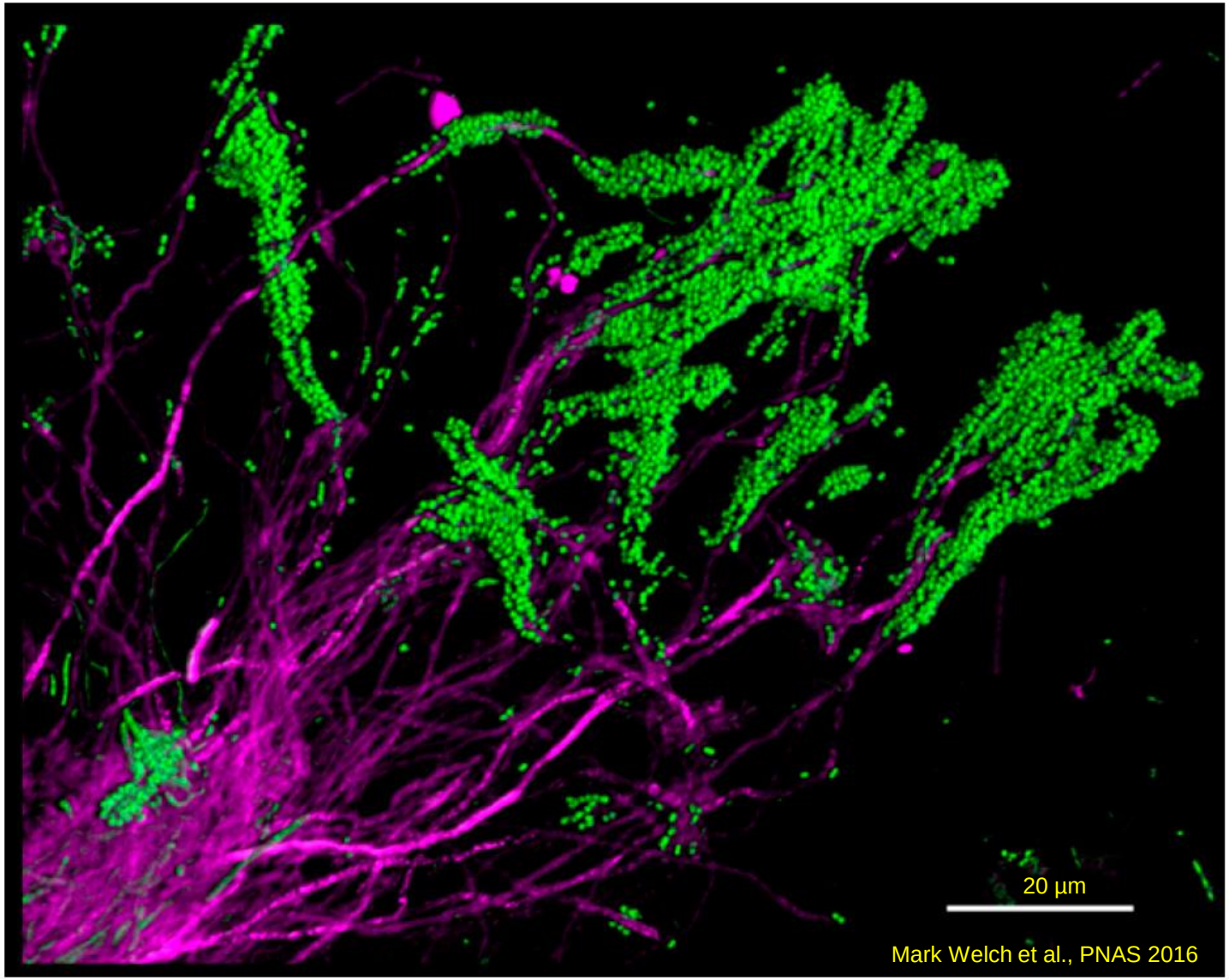
Plaque in verschiedenen Dimensionen





http://fiveparksdental.com/yahoo_site_admin/assets/images/img_tooth_decay.136143318.gif

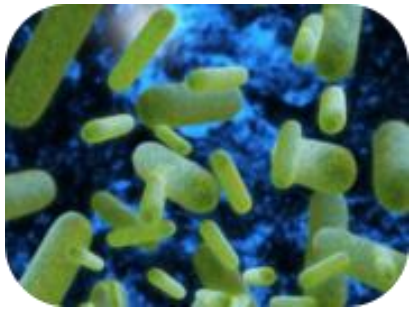
Filamente von *Corynebacterium* (lila) mit Kokken (grün) wohlstrukturiert in Plaque



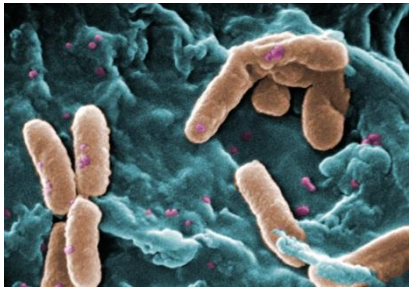
Mark Welch et al., PNAS 2016

Krankheitserreger im Wasser der Zahnarztpraxis

- **Wasser in der Zahnarztpraxis: potentielle Infektionsquelle für Patienten als auch für das Personal durch darin enthaltene Krankheitserreger**
- Wasser wird bei der Behandlung vom Patienten verschluckt und gelangt in Schleimhautläsionen, und wird außerdem als Aerosol von ihm, dem behandelnden Arzt und der Helferin eingeatmet.



- Krankheitserreger, die im Wasser der Zahnarztpraxis häufig vorkommen, sind **Legionellen, coliforme Keime, *E. coli* und *Pseudomonas aeruginosa.***



- Alle von ihnen kommen in Biofilmen vor und können sich darin vermehren
- Studie der Canadian Dental Association: Bei zahnmedizinischem Personal häufigere Legionellen-Antikörper und eine veränderte Besiedlung der Nasenschleimhaut
- Besonders für immunsupprimierte Patienten kann kontaminiertes Wasser aus der Dentaleinheit zur Gefahr werden, da selbst eine geringe Anzahl an Krankheitserregern zu Infektionen führen kann.

Biofilme überall

- Rohrleitungen, Schläuche, Armaturen:
  - Ungeeignetes Leitungs- und Armaturenmaterial
  - Unregelmäßige Entnahmecharakteristik, Stagnation
  - Totstränge im Haus
  - Geringe Überwachung und Wartung

Ein Wasserhahn von innen

Fehlerhafte Reinigung:
Vom Siphon zum Wasserhahn

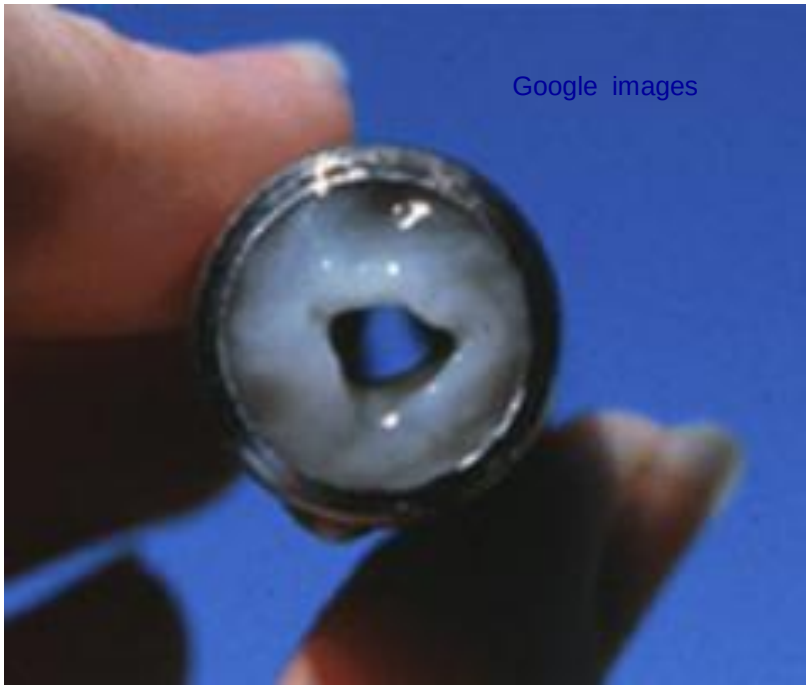
Prof. M. Exner, Univ. Bonn

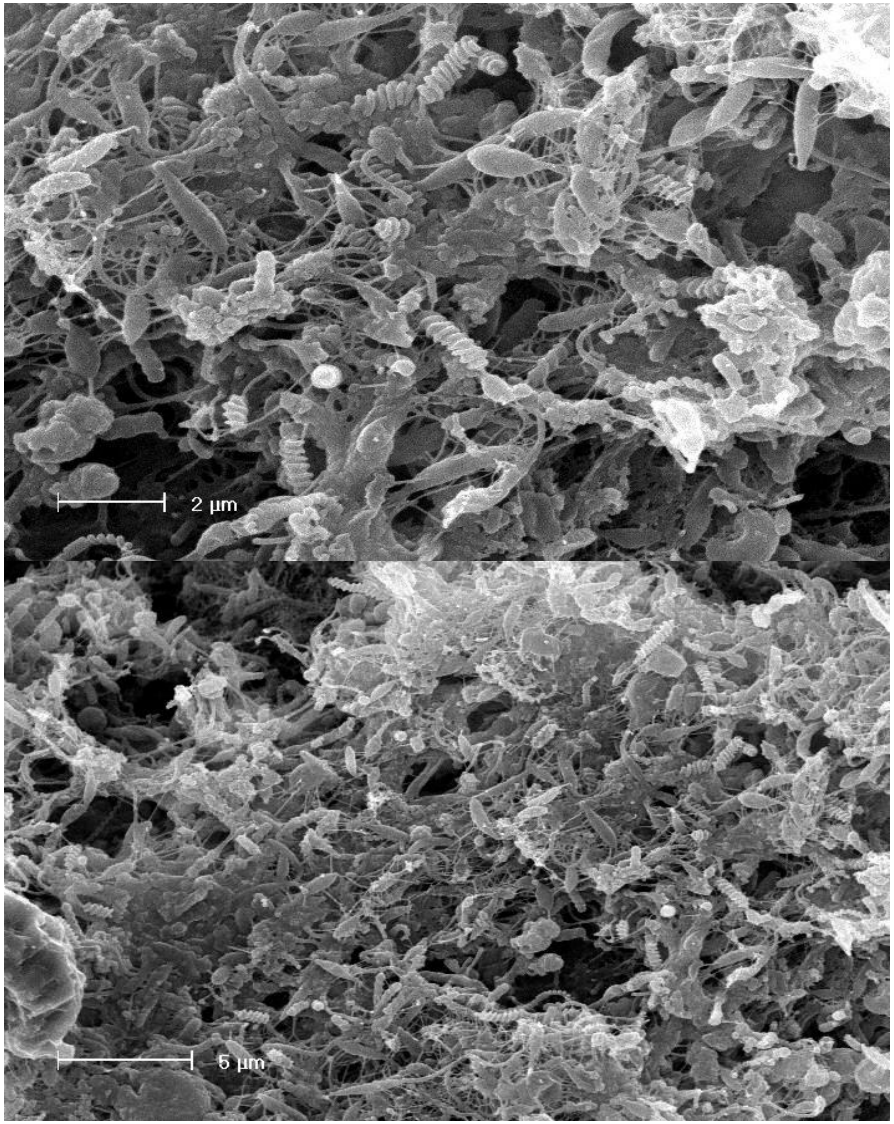
Biofilme überall: Waschbecken

- Das **Waschbecken im Behandlungsraum** muss die vorgeschriebene Hygieneausstattung aufweisen.
- In einem **Hygieneplan** der Zahnarztpraxis werden die regelmäßigen Maßnahmen zur Erhaltung der Hygiene dokumentiert.
- **Absolut vermeiden**: Seifenstücke, Textilhandtücher oder Händetrockner am Waschbecken im Behandlungsraum, da die Gefahr einer Keimbesiedelung zu hoch ist.
- **Gebläsetrockner** vermeiden, sie verbreiten Aerosole
- **Mobiliar:** glatte, desinfizierbare Oberflächen
- **Keine Flüssigabfälle** ins Waschbecken im Behandlungsraum
- Diesen Bereich **regelmäßig reinigen und desinfizieren**
- Der Austausch der Armaturen am Waschbecken im Behandlungsraum wird dem Zahnarzt nicht explizit vorgeschrieben, jedoch sollte der **Perlator von Zeit zu Zeit gründlich gereinigt oder erneuert** werden.
- Eine regelmäßige **Wasseranalyse** (*mindestens* 3-4 mal im Jahr) kann das Risiko aus der Leitung frühzeitig lokalisieren.

Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg: Hygienegerechte Ausstattung der Arztpraxis. Link: http://www.gesundheitsamt-bw.de/SiteCollectionDocuments/30_Gesundheitsth_Hygiene/Praxisausstattung.pdf

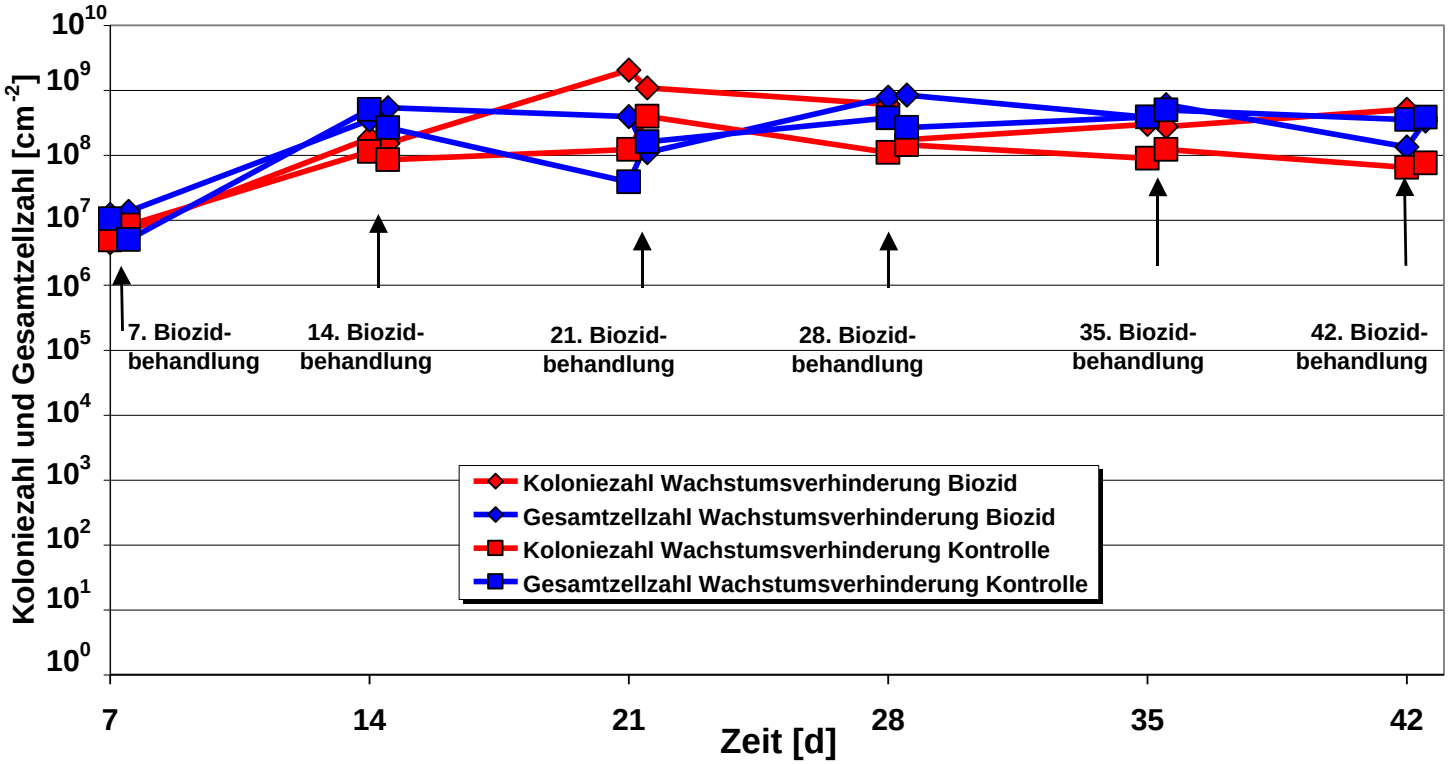
Biofilme im Lumen flexibler Schläuche
(SEM with kind permission of David Harper and Dr Tom Makin)





Wasserstoff-Peroxid

- **Enzymatische Inaktivierung von H_2O_2 durch Katalase**



Bestimmung der Koloniezahlen und der Gesamtzellzahlen vor und nach Biozidbehandlung mit 12,6 mg/L H_2O_2 für 15 min an 42 aufeinander folgenden Tagen. Biozidbehandlung ab dem ersten Tag (Schulte, Diss. 2003)

Chemische Desinfektion – die Lösung?

Inaktivierung ist keine Reinigung!

Wirkstoff	Zudosierung	Konzentration [mg/l]	Behandlung	Reduktion [KBE/cm^2]	Reduktion [GZZ/cm^2]
Cl_2 (ECA)*	kontinuierlich	0,3	70 Tage	6 log	2 log
Cl_2 (ECA)*	Stossbehandlung	25	6 Stunden	6 log	6 log
ClO_2	kontinuierlich	0,2	70 Tage	6 log	3 log
ClO_2	Stossbehandlung	10	6 Stunden	6 log	1 log
H_2O_2+Fruchtsäure	Stossbehandlung	1.000	4 Stunden	6 log	1 log
H_2O_2+Ag	Stossbehandlung	10.000	4 Stunden	6 log	1 log
O_3	diskontinuierlich	0,1	14 Tage	6 log	6 log

> 6 lg= unter Nachweisgrenze (0 KBE/cm^2 ; 7,65x10^3 GZZ/cm^2)

* ECA=elektrochemisch aktiviert

- Bei effektiver Anwendung können mit allen getesteten Produkten im Hinblick auf KBE sehr gute Ergebnisse erzielt werden
- Die Betrachtung der GZZ zeigt: Biomasse bleibt

Gebel et al., 2010

Was tun, um die Infektionsquelle Wasser unter Kontrolle zu behalten?

- Wasser an allen Entnahmestellen der Behandlungseinheiten in der Zahnarztpraxis für **mindestens zwei Minuten ablaufen lassen.**
- Dadurch wird die während der Stagnation entstandene mikrobielle Belastung erheblich reduziert.
- Nach der Behandlung eines Patienten sollten die benutzten **Entnahmestellen für ca. 20 sec durchgespült werden.**
- Ebenso: Einrichtung einer **Dauerentkeimung des Wassers** in der Zahnarztpraxis sowie einmal tägliche Intensivdekontamination
- Die Aufbereitung von Wasser kann mittels **UV-Entkeimung** (Vorsicht: Trübung!) oder Desinfektionsmittelzugabe erfolgen.
- Einige Dentaleinheiten erhitzen das Wasser im Vorratsbehälter auf ca. **70 bis 80°C**, wodurch Krankheitserreger im Wasser weitgehend unterdrückt werden
- Abkühlung dieses Wassers vor Patientenkontakt wird höflich erbeten

Fazit: am Ende gewinnt immer der Biofilm

- Biofilme sind die älteste, erfolgreichste und am weitesten verbreitete Lebensform auf der Erde
- Biofilme: Habitat für hygienisch relevante und pathogene Mikroorganismen
- Biofilme: Ursache für Infektionen, kontaminierte Katheter und Implantate
- Problem: erhöhte Toleranz gegenüber Antibiotika und Desinfektionsmitteln
- Biofilme spielen eine wichtige Rolle als Keim-Reservoir bei der hygienischen Sicherheit von Wasser in Dentaleinheiten
- *Keine KBE heißt nicht, dass alle Keime tot sind!*
- Besonderes Problem: lange Leitungen und Schläuche, Dichtungen, Armaturen, Rohrsysteme der Hausinstallation, geringe Überwachung
- Abtötung ist keine Reinigung

Ratschläge:

- ⇨ Spülen, spülen, spülen!
- ⇨ Leitungssysteme überprüfen
- ⇨ „Totleitungen“ eliminieren
- ⇨ Regelmäßige Wasseranalysen
- ⇨ Regelmäßige Desinfektionsmaßnahmen
- ⇨ Qualitätsmanagement und Hygieneplan
- ⇨ Bei hartnäckigen Kontaminationen:
  - ☞ Kontaminationsquelle ermitteln,
  - ☞ weitergehende Analytik!

Beim Bio-Zahnarzt