

Bakteriel teambuilding – bakterier i biofilm

Bakterier lever oftest i klumper af bakterier og slim, kaldet biofilm. Bakterielle biofilm kan forårsage kroniske infektioner, da bakterier i biofilm i modsætning til fritlevende bakterier er i stand til at modstå både immunforsvaret og antibiotikabehandling.

Af Kasper Nørskov Kragh, ph.d.¹, Stephanie Geisler Crone, ph.d.-studerende¹ og professor Thomas Bjørnsholt, dr.med., ph.d.^{1,2}

¹ Costerton Biofilm Center, Institut for Immunologi og Mikrobiologi, Københavns Universitet

² Kliniske Mikrobiologisk afdeling, Rigshospitalet

Kroniske biofilminfektioner er et stigende problem, og i USA alene koster biofilm-relaterede infektioner årligt samfundet over \$18 mia. og er estimeret til at være skyld i over 200.000 dødsfald hvert år.

Biofilm

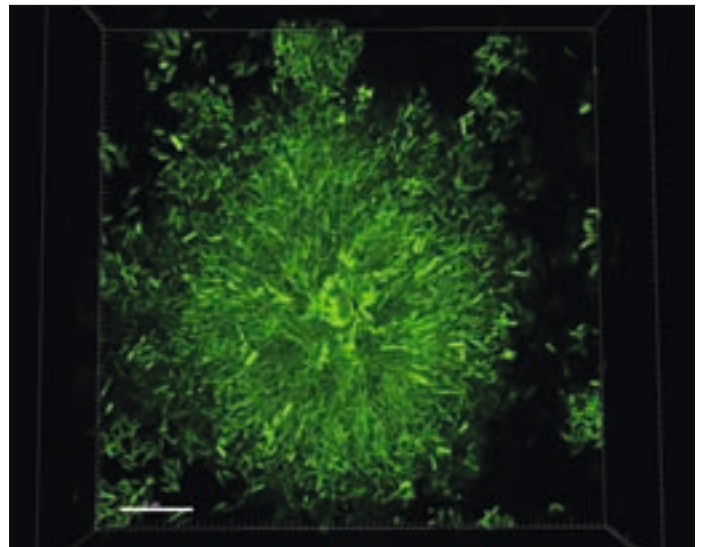
Siden midten af 1800-tallet har vi været opmærksomme på sammenhængen mellem bakterier og infektionssygdomme. I 1880'erne og 90'erne beskrev mikrobiologi-pionererne Louis Pasteur og Robert Koch, ved hjælp af datidens mikroskoper, bakterier som enkeltcellede organismer i flydende kulturer i kolber eller som kolonier på agarplader. Denne forestilling om bakterier som små fritlevende, haletudselignende organismer, der kan give potentielt dødelige infektioner har rodfæstet sig i de fleste, når vi tænker på bakterier og infektioner. Men hvad er det, vi ser, når vi med vor tids mere avancerede metoder undersøger bakteriers livsform i naturen og i infektioner?

Vi ser sjældent disse enkelte, fritlevende bakterier, men finder derimod bakterier i slimede klumper og belægninger indeholdende sammenklumpede bakterieceller. Fænomenet har været kendt af tandlægerne siden 1960'erne, og i slutningen af 1970'erne begyndte medicinske forskere at få øjnene op for denne bakterielle livsstil og navngav den "biofilm".

Bakterielle biofilm består af mange bakterieceller, som ligger tæt samlet, klæbet sammen af slim eller matrix lavet af en blanding af ekstracellulært DNA, proteiner, lipider og store mængder polysakkarider. Denne matrix kan stamme både fra værten eller fra bakterierne selv.

Fra bakteriernes synsvinkel er der mange fordele ved livet i en biofilm frem for livet som fritsvømmende, enkelte celler. Matrixen giver beskyttelse, stabilitet og mulighed for at hæfte sig fast i fordelagtige positioner. Biofilmen kan ses som en bakteriefæstning og den matrix, som bakterierne er omgivet af, kan ses som beskyttende mure mod udefrakommende farer. I naturen yder den beskyttelse mod bakterie-spisende organismer såsom protozoer, og af større vigtighed for os mennesker, beskytter biofilm-livsformen bakterierne mod vores immunforsvar samt øger deres tolerance overfor antibiotika.

De fleste, hvis ikke alle, bakterier kan danne biofilm og bakterielle biofilm kan opstå de fleste steder. De findes blandt mange steder ofte på sten i vandløb, i vandrør og dagligt støder de fleste af os på biofilm i form af den plak, bakterier danner



Biofilm dannet af bakterien *Pseudomonas aeruginosa* i et *in vitro*-system. Bakterien er genetisk mærket med green fluorescent protein (GFP). Billedet er taget med et laser scanning konfokal mikroskop i en forstørrelse på 630x.

på vores tænder. Det er netop det, der har givet anledning til navnet "biofilm", biologisk materiale på en overflade. Bakterielle biofilm gror ofte på fugtige overflader, men kan også findes som mere fritflydende klumper.

Biofilm kan skabe problemer

Der er flere grunde til, at der er blevet forsket meget i biofilm de sidste årtier. Bakterielle biofilm kan være et stort problem i kliniske sammenhænge såvel som i industrielle produktioner. I industrien kan biofilm-dannelse resultere i store økonomiske tab, f.eks. når biofilm tilstopper rør og slanger, eller når bakterier fra biofilm kontaminerer produktionen i fødevarer og virksomheder. At fjerne biofilm fra sådanne systemer kan være utroligt svært, da biofilm kan modstå størstedelen af normale rensningsmidler.

I vores gruppe har vi dog fokus på de sundhedsmæssige problemer, biofilm skaber, idet bakterielle biofilm kan forårsage kroniske infektioner.

Det traditionelle billede af akutte infektioner er en infektion, hvor enkelte bakterieceller kommer ind i kroppen. I sådanne situationer vil immunforsvaret oftest hurtigt nedkæmpe bakterierne, måske med hjælp fra en antibiotikakur. Den normale bakterielle halsbetændelse eller lungebetændelse med feber og ubehag er eksempler på akutte infektioner. Hos mennesker, der f.eks. har et svækket immunforsvar, som lider af diabetes eller har fået indsat et implantat, kan immunforsvaret have svært ved at nedkæmpe bakterierne, og muligheden for at etablere en biofilm

opstår. Bakterier i biofilm kan som tidligere nævnt modstå selv et meget kraftigt immunrespons, og de er meget modstandsdygtige overfor antibiotika. Herved kan en kronisk infektion opstå.

Biofilminfektionen

Vi har fundet bakterier i biofilm i alle kroniske bakterielle infektionssygdomme, vi har undersøgt, deriblandt kroniske sår, urinvejsinfektioner, lungeinfektioner hos personer med cystisk fibrose og i implantat-relaterede infektioner.

Kroniske biofilminfektioner er karakteriseret ved at være mere lokale, og immunforsvaret reagerer ikke så kraftigt. Det betyder, at man ikke får feber og ikke bliver generelt påvirket af infektionen. Klumperne af biofilm er sporadisk fordelt i infektionsområdet, og det er oftest mindre klumper. Derfor kan biofilminfektioner være svære at diagnosticere og svære at behandle, fordi behandlingen ikke startes i tide.

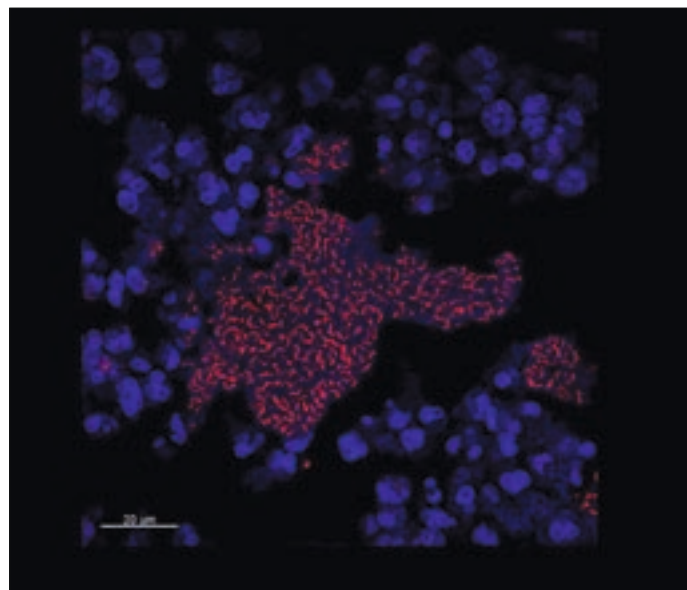
Vores forskning peger i retning af, at selve den måde hvorpå bakterierne er "pakket ind", når de kommer ind i kroppen, kan være bestemmende for, om en infektion bliver akut eller kronisk. Er bakterierne allerede i en lille klump biofilm, når de kommer ind i kroppen, vil de have meget større overlevelseschancer, end hvis de kommer ind som enkeltcellede bakterier. På den måde er sandsynligheden for, at der etableres en kronisk biofilminfektion større end hvis bakterierne kommer ind i kroppen som enkelte celler.

Små bakterieklumper kan komme ind i kroppen i forbindelse med en operation, f.eks. når en hofteprotese indsættes. På huden findes naturligt mange bakterier, i særdeleshed i hudens små folder, hårsække og porer. Før en operation rengøres huden med sprit eller jod, som vil dræbe mange af de bakterier, som findes på overfladen, men nede i porer og hårsække ligger bakterierne godt beskyttet i biofilm. Ved en operation kan små klumper biofilm fra huden overføres til operationsområdet. Bakterierne, som på huden var harmløse, er nu i et andet miljø og kan blive virulente (sygdomsfremkaldende). Da bakterierne allerede ligger beskyttet i biofilmen, har de mulighed for at inficere en protese eller blive overført til blodbanen og spredes videre i kroppen. En proteseinfektion kan resultere i en akut infektion med kraftig inflammation, som oftest kan behandles med antibiotika. Men hvis en protese inficeres med en klump bakterier, der danner biofilm, kan der gå flere år, før man opdager, der er noget galt. Med tiden kan den biofilm-inficerede protese blive løs eller give gener såsom ømhed. Da er det for sent at behandle med antibiotika, og protesen må skiftes.

Et alvorligt problem - nu og i fremtiden

På Costerton Biofilm Center på Københavns Universitet forsøger vi at forstå kroniske biofilminfektioner bedre samt at forbedre diagnostikken og behandlingen af disse infektioner. Der har været meget fokus på bakteriernes udvikling af antibiotikaresistens i både videnskabelige kredse og samfundet som helhed. En potentiel situation, hvor vi løber tør for virksomme typer antibiotika, skal tages særdeles alvorligt, men med det sagt, skal den kroniske biofilminfektion også tages alvorligt. Den amerikanske sundhedsstyrelse (NIH) har anslået, at der årligt er over 13 mio. kroniske biofilminfektioner i USA alene, og kroniske biofilminfektioner er et stigende problem i takt med, at mennesker bliver ældre, får flere livsstilssygdomme og får indsat flere implantater.

Biofilm er ikke et fremtidigt problem, men en urgammel bakteriel livsstil, som giver store problemer i nutidens behandling af infektioner. Størstedelen af alle typer antibiotika i vores nuværende arsenal er udviklet til at behandle de enkeltcellede og hurtigt voksende bakterier, og de er i stort omfang ikke virksomme overfor bakterier i biofilm.



Biofilm indhyllet i inflammatorisk mucus i transplanteret lungevæv fra patient med cystisk fibrose. Patienten havde en kronisk lungeinfektion med bakterien *Pseudomonas aeruginosa*. Bakterierne, som ligger samlet i en tæt biofilm, var mærket med en rød PNA-FISH probe, som meget specifikt farver bakterier af netop denne art ved at ramme det ribosomale 16s RNA. Omkring biofilmen ses humane immune celler farvet med en uspecifik DNA-farve, der farver cellernes kerner blå. Billedet er en forstørrelse på 630x.

Derfor er der brug for et paradigmeskift i udviklingen af antimikrobielle medikamenter. Antimikrobielle midler skal udvikles med fokus på at være virksomme overfor bakterierne under de forhold, bakterierne i stor stil lever under og skaber problemer i; nemlig i biofilm.

Der er ligeledes brug for et paradigmeskift i, hvordan vi undersøger og forsker i bakterier. Hidtil er langt de fleste bakterielle studier lavet med bakterier i rystekulturer, hvor bakterierne er fritsvømmende og hurtigt voksende. Da stort set alle bakterier i naturen samt på og i vores krop lever som biofilm, skal vi også dyrke dem i biofilm i laboratoriet. Således kan vi nærme os de faktiske forhold og i mindre grad beskrive bakteriernes egenskaber ud fra en livsform, som stort set kun findes i laboratoriet.

Her mere end 100 år efter opdagelsen af sammenhængen mellem bakterier og sygdomme erklærer vi hermed mikrobiologiens anden æras begyndelse.

E-mail:

Thomas Bjarnsholt: tbjarnsholt@sund.ku.dk

Pipetteservice

Akkrediteret kalibrering
Reparation • Vedligeholdelse

Gilson Center of Excellence • Certificerede teknikere • 20 års erfaring
• Alle førende fabrikater • Elektroniske certifikater • Serviceaftaler

Biolab A/S,
Sindalsvej 29, DK-8240 Risskov,
Tlf: 8621 2866 Fax: 8621 2301
E-mail: pipetteservice@biolab.dk
www.biolab.dk

DANAK
Cal. Reg. Nr. 482