

DE BIOFILM, EEN LITERATUURSTUDIE

E. Lenselink*

Een biofilm is een door bacteriën gemaakte laag, vastklevend aan een wondbed. Deze laag wordt wel de extracellulaire polysaccharide matrix (EPS) genoemd. In deze laag zijn bacteriën ongevoelig voor de afweer van de gastheer en voor antibiotica. Een biofilm kan de wondgenezing vertragen en geeft een verhoogd risico op herhaaldelijke infecties. Deze gevolgen worden veroorzaakt door genexpressie van bacteriën in de biofilm. Onderzoek naar de behandeling van biofilm bevindt zich nog in de experimentele fase. In vitro lijken sommige antibacteriële middelen (zilver, povidon jood en polyhexanide) enig effect te hebben. Er zijn nog nauwelijks klinische resultaten van een middel dat de biofilm effectief te lijf gaat. Een gecontroleerde studie naar de effectiviteit van middelen die een biofilm kunnen afbreken is hard nodig.

INLEIDING

Een biofilm is een door bacteriën gemaakte laag, vastklevend aan een wondbed. In de praktijk zien we dat de wondgenezing regelmatig stagneert wanneer zo'n biofilm aanwezig is in de wond. Dit gaf mij reden om meer van het fenomeen biofilm en mogelijke behandelingsmogelijkheden te willen weten. Mijn onderzoeksvraag luidt:

Wat is en doet een biofilm en bestaat er een effectieve behandeling om biofilms in een wondbed af te breken.

Subvragen waarop ik een antwoord wil vinden zijn:

1. Wat is en doet een biofilm?
2. Wat zijn mogelijke behandelingen om biofilms af te breken?
3. Is het middel polyhexanide (Prontosan®) effectief?

Ik hoop met deze studie niet alleen een antwoord te geven op bovengenoemde vragen, maar daarnaast is het mijn doel om collega wondverpleegkundigen een handreiking te bieden om moeilijk genezende wonden te behandelen.

METHODE

Na het vaststellen van een onderzoeksvraag en de bijbehorende subvragen werd via het internet gezocht naar relevante artikelen. Met name werd gezocht in Medline (pubmed). Daarnaast werd gezocht in andere databases zoals: Invert, Chinahl, Picarta en World Wide Wounds. Zoektermen waren: biofilm, wonden, lokale antibacteriële behandeling, polyhexanide en Prontosan®. Zoekresultaten: er werden 19 artikelen geselecteerd. Na het lezen van de

artikelen werden acht artikelen uitgesloten omdat ze onvoldoende relevant werden bevonden met betrekking tot de onderzoeksvraag.

Uiteindelijk werd na het beoordelen nog een artikel uitgesloten, omdat het een casestudie (n=1) betrof en de validiteit daardoor niet verzekerd kon worden.

Selectiecriteria: Na het lezen van de samenvattingen werden uitgesloten:

1. artikelen over het maken van een biofilm in een laboratorium
2. artikelen over biofilm zonder wond (op andere lichaamsdelen, zoals tanden en orthopedische prothesen)
3. een artikel in het Deens
4. artikelen over wondinfectie zonder biofilm

Wel werden toegelaten enkele artikelen over lokale antibacteriële behandeling van gekoloniseerde of geïnfecteerde wonden waarbij niet altijd van een biofilm gesproken werd.

Beoordeling artikelen: artikelen werden eerst volledig gelezen en geselecteerd op relevantie met betrekking tot de onderzoeksvraag.

Relevant gevonden artikelen werden getoetst op kwaliteit met behulp van de beoordelingsformulieren van het Evidence Based Richtlijnen Onderzoek.

Geselecteerde artikelen:

RESULTATEN

WAT IS EN DOET EEN BIOFILM?

Edwards en Harding[1] beschrijven in hun review "Bacteria and wound healing" een biofilm als een complexe commune van samengeklonterde bacteriën, die verblijven in een extracellulaire polysaccharide matrix (EPS). Deze matrix wordt door de bacteriën zelf gemaakt wanneer de bacteriën zich op een solide ondergrond bevinden, zoals bijvoorbeeld een wond. Percival[2] beschrijft dat de samenstelling van het wondoppervlak (chemisch en biologisch) bepaalt welk soort micro organisme zich aan het wondoppervlak hecht. Saye[3] beschrijft dat de vorming van een biofilm begint zodra een micro organisme in contact komt met biologisch weefsel. Organische moleculen in de weefselvloeistof vormen een laag op het weefsel, een conditioning film genoemd. In de buurt aanwezige micro organismen kleven hier onmiddellijk aan vast en vormen zo de biofilm. De kolonie is sterk verankerd en omgeven door een lijmachtige matrix die voornamelijk bestaat uit exopolysaccharide. De biofilm heeft een onregelmatig oppervlak en bevat verschillende kolonies. De mate waarin de biofilm zich aan het wondoppervlak hecht, is afhankelijk van de adhesie aan de conditioning film. De EPS beschermt de bacteriën en de EPS

Onderwerp	Soort studie
Biofilm	4 literatuur reviews
Anti bacteriële behandelingen	1 in vitro onderzoek, 3 reviews
Polyhexanide, prontosan	1 klinische studie, 1 in vitro onderzoek

maakt waterkanalen die naast water, voedingsstoffen, enzymen en afvalproducten doorlaat voor de bacteriën.

Beschreven wordt dat de bacteriën in de biofilm van fenotype veranderen, zodat ze andere virulente factoren produceren en een trager metabolisme krijgen. Dit heeft tot bijzonder gevolg dat bacteriën in de EPS 50 - 1000 keer meer resistent zijn tegen antibiotica therapie. Daarnaast zijn de bacteriën in de matrix ook beschermd tegen de afweerreactie van de gastheer.[1]

Percival beschrijft dat verschillende soorten bacteriën samen (in een commune) een infectie kunnen veroorzaken, terwijl een enkele bacteriestam dit niet zou lukken. Met name in een stabiele volwassen biofilm, waarin zowel aërobe en anaërobe bacteriën voorkomen, lijkt er een toename van het pathogene effect. Dit geeft een groter risico op infectie, vertraagt de wondgenezing en de wond beland in een chronische inflammatoire fase. Langdurige aanwezigheid van bacteriën in een chronische wond leidt tot een vertraagde inflammatoire reactie, resulterend in het vrijkomen van vrije radicalen en proteïnases. Hierdoor worden groeifactoren geremd, hetgeen de celdeling en wondgenezing negatief beïnvloedt.

De al eerder genoemde verandering van fenotype van bacteriën in de EPS wordt verder beschreven door Patricia Mertz[4] in haar artikel over biofilms. Ze beschrijft dat het hierbij gaat om een genverandering. De genexpressie bepaalt de mate van vorming van biofilms, pathogeniteit en virulentie. De genverandering is afhankelijk van de Quorum sensing. Bacteriën zijn in staat om hun omgeving te scannen en daarna te handelen. Ze gaan bijvoorbeeld bepaalde stoffen aanmaken. Deze communicatie tussen bacteriën helpt de biofilm om bedreigingen van buitenaf te weerstaan. Wanneer de quorum sensing signalen uitzendt dat de bacteriën een laag metabolisme moeten aannemen, zullen ze minder snel groeien en daardoor ook minder snel aangevallen worden door de

gastheer. Anders gezegd: wanneer de bacteriën door zich te vermenigvuldigen een bepaalde populatiedichtheid (a quorum) hebben bereikt en genoeg signaal moleculen hebben geproduceerd, reageert (sensing) een bacteriestam door zijn specifieke gen expressie op te leggen aan alle (verschillende soorten) bacteriën in de hele commune [3].

Bacteriën in biofilms zijn verantwoordelijk voor steeds terugkerende infecties. Waarschijnlijk komt dit doordat een biofilm verschillende koloniën bevat en steeds weer een andere kolonie verantwoordelijk kan zijn voor een infectie. Een mogelijke oorzaak voor antibiotica resistentie zou kunnen worden verklaart door de veel hogere bacteriële concentratie in een biofilm dan daar buiten. Maar resistentie is een complex mechanisme en veel daarvan is nog onduidelijk.

Belangrijk, en door meerdere onderzoekers genoemd, [2,3,4] is dat wanneer er voor onderzoek biofilm in het laboratorium gekweekt wordt, dit altijd anders is dan een biofilm op een echt wondoppervlak. Een biofilm op een wondoppervlak is poly microbiel, terwijl een biofilm in het laboratorium vaak uit een soort bacterie wordt gekweekt.

WAT ZIJN MOGELIJKE BEHANDELINGEN OM BIOFILMS AF TE BREKEN?

In haar review over infecties in chronische wonden probeert Aynthia Fleck[5] een antwoord te geven op de vraag: wat is de beste weg om bioburden en biofilm in chronische wonden te bestrijden. Antiseptica zijn niet de eerste middelen van keus omdat deze cytotoxisch voor cellen kunnen zijn. Systemische antibiotica is niet altijd betrouwbaar omdat het niet altijd het wondoppervlak bereikt. Vervolgens geeft Fleck een aantal voorbeelden van wondproducten die in vitro bewezen hebben bacteriële kolonisatie te minimaliseren. Deze producten zijn: zilver, polyhexamethyleen biuanide (PHMB) en iodine.

Rose Cooper[6] geeft aan dat, wanneer er sprake is van een zichtbare

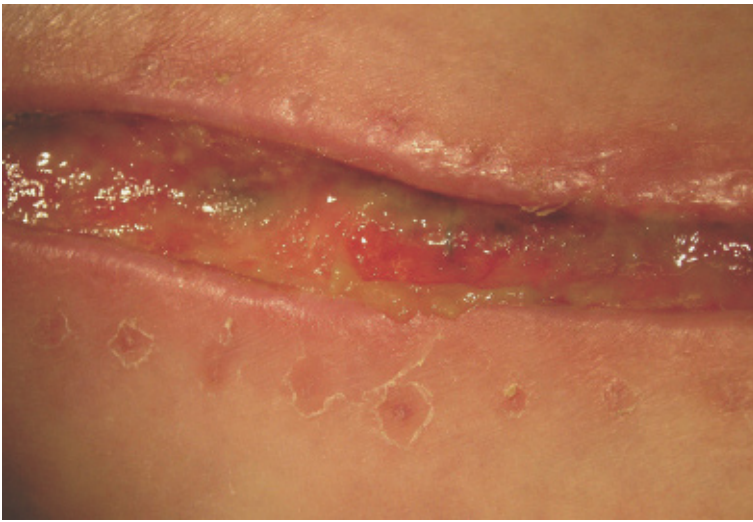
wondinfectie met de klassieke verschijnselen deze behandeld dient te worden met antibiotica. Echter, in vele wonden komen relatief stabiele kolonies van verschillende micro-organismen voor die niet de klassieke tekenen van een infectie vertonen. Wanneer er sprake is van vier of meer verschillende kolonies wordt de wondgenezing vertraagd. In deze situatie lijkt systemische antibiotica niet op zijn plaats, maar valt er veel te zeggen voor lokale antimicrobiële behandeling. Deze behandelingen zijn echter controversieel vanwege het gevaar van cytotoxiciteit voor granulatieweefsel.

ANTISEPTICA

Povidon jodium is effectief tegen bacteriën, schimmels, protozoën en virussen. In vitro is aangetoond dat het de groei van biofilms remt. In klinische studies is veiligheid en effectiviteit op wonden onvoldoende aangetoond. Iodine bevattende producten kunnen namelijk cytotoxisch zijn. Inmiddels bestaan er ook producten die iodine vertraagd kunnen afgeven en daardoor niet cytotoxisch maar wel antiseptisch werken. Chloorhexidine is een gebruikt middel in wondmanagement. Het product heeft een snelle bacteriedodende werking tegen een breed spectrum van bacteriën. Omdat onvoldoende de veiligheid van het product is onderzocht, dient er verder klinisch onderzoek plaats te vinden om deze methode aan te bevelen. Waterstofperoxide wordt vooral gebruikt voor het reinigen van traumatische wonden. Het heeft een breed spectrum anti-microbacterieel effect, vooral bij grampositieve stammen. Er is bewezen dat het middel geen negatieve effecten heeft, maar er kon echter niet een positieve bijdrage aan wondgenezing worden bewezen. In vitro lijkt waterstofperoxide een bijdrage te leveren aan de afbraak van een biofilm.

ANTI BACTERIËLE MIDDELEN

Bewijs voor de anti bacteriële werking van honing is uitgebreid. Mogelijk speelt honing ook een rol in de afbraak van biofilms door het vrijkomen van peroxide in de wond.



Sinds de 19e eeuw is bekend dat zilver een remmende werking heeft op een breed spectrum bacteriën. Daarnaast zijn ook antivirale en antischimmel effecten aangetoond. Tegenwoordig bestaan er veel verbandmiddelen met continue afgifte van een lage concentratie zilverionen. Dit blijkt zowel de wondgenezing te stimuleren als de groei van bacteriën te remmen.

Percival et al.[7] onderzochten de antimicrobiële werking van twee verschillende zilververbanden op een in vitro biofilm model. In het onderzoek werd een zilver bevattende hydrofiber vergeleken met een nanocrystaline verband. Beide verbanden bleken effectief tegen een heleboel verschillende stammen bacteriën. In deze studie werd

de antibacteriële werking getest bij bacteriën los van, en bacteriën in een biofilm. Uit de resultaten bleek een duidelijk verschil in gevoeligheid, die in de biofilm vorm veel minder groot was. Over het algemeen was de hydrofiber (met een relatief lage concentratie zilverionen) meer effectief dan het nanocrystaline verband. Uit dit onderzoek blijkt dus dat een verband met een hoge concentratie zilver niet beter werkt en dat de antibacteriële werking van zilververbanden bij biofilms niet het zelfde resultaat hebben als bij losse bacteriën.

Mertz [3] beschrijft verschillende mogelijkheden om biofilms te bestrijden. Hierna genoemde voorbeelden zijn echter nog in het beginstadium van onderzoek en nog niet getest in de klinische praktijk. Allereerst noemt Mertz dat Sing et al hebben ontdekt dat Lactoferrin, een stof die door mensen wordt uitgescheiden, bacteriën verhindert zich tot een biofilm te verenigen. Een ander veel belovend onderzoek zet in op een (niet nader benoemd) nieuw medicijn dat de quorum sensing verstoort. Saye geeft aan dat de definitieve behandeling van biofilms zich nog in de onderzoekssfeer bevindt en dat dit nog niet echt de klinische praktijk heeft bereikt. Resultaten die beschikbaar zijn komen vaak van dieren of uit het laboratorium waar onderzoek onder ideale omstandigheden plaats vond. Daarom staat het zeker niet vast dat deze resultaten ook bij mensen dezelfde resultaten geeft.

Alles samenvattend blijkt het bewijs van de effectiviteit van antibacteriële middelen om wonden te behandelen toch verwarrend. Er is vooral veel bewijs wat afkomstig is uit laboratoriumstudies en dierstudies.

IS HET MIDDEL POLYHEXANIDE EFFECTIEF?

In een literatuur review van White RJ et al[8], waarin wordt gekeken naar de lokale antibacteriële middelen om bioburden te lijf te gaan, wordt aangegeven dat polyhexanide zowel in vitro als in klinische studies effectief is tegen een breed spectrum micro-organismen, inclusief HIV. Polyhexanide maakt de membraan van het micro-organisme kapot. Hierbij wordt echter niet genoemd of polyhexanide effectief is om biofilms af te breken.

Seipp HM et al[9] vergeleken verschillende wond reinigende vloeistoffen, waaronder polyhexanide, met elkaar, in hun effectiviteit om biofilms af te breken. Het onderzoek werd uitgevoerd in vitro. De biofilm werd gekweekt uit vier verschillende stammen *Pseudomonas aeruginosa*. De gekweekte biofilms werden behandeld met: Natrium Chloride, Ringer-

oplossing en polyhexanide (prontosan®). Na behandeling met polyhexanide was de biofilm verminderd met 78%. Beide andere isotone oplossingen hadden geen zichtbaar effect op de biofilm.

Ann Horrocks[10] heeft in een kleine ongecontroleerde studie (tien patiënten) het effect van prontosan® op biofilms in wonden onderzocht. Hiervoor werden patiënten geselecteerd met een chronische wond die al meer dan een maand met Natrium Chloride werden gespoeld. Daarnaast vertoonden de wonden zichtbaar een biofilm. Uitkomstmaten waren: verwijderen van biofilm binnen drie weken, afname wondgrote, het gebruik van antimicrobacteriële middelen gedurende het gebruik van prontosan®, comfort patiënt, gebruiksvriendelijkheid en bijwerkingen. Methode: eerst werd de wond gespoeld met prontosan® en vervolgens werd er een gaas, dat met de vloeistof doordrenkt was, tien minuten op de wond gelegd. In diepe wonden werd er een laag van 3 millimeter dik prontosan® gel aangebracht. Wonden die met gel werden behandeld kregen secundair een traditioneel gaas. In principe vond er een keer per dag een behandeling met de vloeistof plaats. Maar de auteur zegt ook goede resultaten te zien bij minder frequente verbandwisselingen. Resultaten: bij zeven van de tien patiënten werden enorme verbeteringen gezien binnen drie weken. Resultaten waren: verdwijnen van biofilm, duidelijke afname van exudaat en afname van de wondgrote. Zowel patiënten als behandelaar meldden afwezigheid van slechte reuk, bij wonden die dit eerst wel vertoonden. Gedurende de behandeling bleek dat zes van de zeven patiënten geen antibacterieel verbandmiddel meer nodig hadden. Bij een patiënt werd na twee maanden de behandeling gestaakt, omdat er geen resultaat werd gezien. Bij de twee andere patiënten werd na drie weken de behandeling gestaakt op verzoek van de patiënt. In beide gevallen was er geen zichtbare verbetering. Alle patiënten gaven aan dat de kwaliteit van leven met het gebruik van bovenstaande middelen

verbeterd was. In het bijzonder werd afname van pijn genoemd. Er werden geen bijwerkingen gezien.

DISCUSSIE

Als eerste moet vermeld worden dat er nog heel weinig klinisch wetenschappelijk onderzoek is verricht naar de effectieve afbraak van biofilms in wonden. Meer onderzoek is verricht naar kritisch gekoloniseerde en geïnfecteerde wonden en hun behandeling. Maar dit betreft behandeling van 'los' zwevende bacteriën, zonder bescherming van de biofilm. De enige klinische studie die de werking van prontosan® onderzoekt is ongecontroleerd en betreft slechts een beperkte groep van tien patiënten.

CONCLUSIES EN AANBEVELING

Biofilms stagneren een ongecompliceerde wondgenezing. Het is waarschijnlijk dat biofilms een belangrijk aandeel hebben in wondinfecties. Groot probleem is dat bacteriën in biofilms ongevoelig zijn voor de afweerreactie van de gastheer en voor antibiotica. Daarnaast is het zo dat hun pathogene eigenschappen in een biofilm ook nog eens versterkt worden. Het tot nog toe geldende advies luidt dus: de biofilm moet verwijderd worden.

In in-vitro studies wordt aangetoond dat zilver, povidon jodium, waterstofperoxide en polyhexanide enigszins effect hebben als het gaat om het afbreken van een biofilm. Dit effect is echter veel geringer dan het antibacteriële effect op bacteriën in een wond zonder biofilm. Helaas is de afbraak van de biofilm in menselijke wonden nog niet goed onderzocht. Er zijn enkele case studies beschreven waarbij behandeling met prontosan® een positief effect heeft op de afbraak van biofilm en op de wondgenezing. Dit bewijs is echter onvoldoende om conclusies uit te trekken.

In de toekomst is het noodzakelijk dat producten in de klinische praktijk worden getest op hun effect op biofilms. Hierbij is het belangrijk dat dit gebeurt in gecontroleerde studies.

* **Ellie Lenselink, wond en decubitus consulent Medisch Centrum Haaglanden**
1e jaars opleiding wond en decubitus consulent, Erasmus Rotterdam

Artikel geschreven als oefening voor de eindopdracht van het vak Evidence Based Practice

LITERATUUR

1. Edwards R, Harding KG. Bacteria and wound healing. *Current opinion in infectious diseases* 2004; 17(2) april: 91-96.
2. Percival S, Bowler P. Understanding the effects of bacterial communities and biofilms on wound healing. www.worldwidewounds.com/2004/july/percival/community-interactions-wounds. 2004; juli.
3. Saye DE. Feature: recurring and antimicrobial-resistant infections: considering the potential role of biofilms in clinical practice. *Ostomy wound management* 2007; april 53(4): 46-8, 50, 52.
4. Mertz PM. Biofilm: friend or foe? *Wounds* 2003; 15:129-132.
5. Fleck CA. Fighting infection in chronic wounds. *Advances in skin&wound care* 2006; may 19(4): 184,186,188.
6. Cooper R. A review of the evidence for the use of topical antimicrobial agents in wound care. www.worldwidewounds.com/2004/february/cooper/topical-antimicrobial-age 2004; februari.
7. Percival SL, Bowler PG, Dolman J. Antimicrobial activity of silver-containing dressings on wound microorganisms using an in biofilm model. *International wound journal* 2007; jun. 4(2): 186-91.
8. White RJ, Cutting K, Kingsley A. Topical antimicrobials in the control of wound bioburden. *Ostomy wound manage* 2006 aug; 52(8): 26-58.
9. Seipp HM, Hofmann S, Hack A, Skowronsky A, Hauri A. Efficacy of various wound irrigants against biofilms
10. Horrocks A. Prontosan wound irrigation and gel: management of chronic wounds. *British Journal of Nursing* 2006; 15(22); 1222-1228.