

BIOFILM AUF DER WUNDE

oder

Ein glückliches Leben im Schleim

Schriftliche Abschlussarbeit im Rahmen der
Weiterbildung Wundmanagement 2013

am

Ausbildungszentrum West für Gesundheitsberufe in Innsbruck

vorgelegt von
Barbara Kaliwoda

Innsbruck, im August 2013

	SEITE
INHALTSVERZEICHNIS	I
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	III
GLOSSAR	IV
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	V
<u>1. EINLEITUNG.....</u>	<u>1</u>
<u>2. WAS SIND BIOFILME?</u>	<u>2</u>
<u>3. WIE BILDEN SICH BIOFILME?.....</u>	<u>4</u>
3.1. WIE „SCHÜTZEN“ REIFE BIOFILME DIE BAKTERIEN?	6
3.2. WENN SICH BAKTERIEN BEEINFLUSSEN – DAS QUORUM SENSING	7
3.3. UMWELTBEDINGUNGEN FÜR BAKTERIEN IN EINEM BIOFILM.....	9
<u>4. DER BIOFILM AUF DER WUNDE.....</u>	<u>10</u>
4.1. DIE BAKTERIENFLORA DER HAUT.....	10
4.2. DIE POTENTIELLE BEDEUTUNG VON BIOFILMEN INNERHALB VON WUNDEN	13
4.3. WIE SCHNELL BILDEN SICH BIOFILME?	15
<u>5. BEHANDLUNG VON WUNDEN MIT BIOFILM.....</u>	<u>17</u>
5.1. WIE ERKENNE ICH EINEN BIOFILM AUF DER WUNDE?	18
5.2. WIE KANN DER BIOFILM REDUZIERT WERDEN?	19
5.3. WIE KANN DIE REKONSTITUTION DES BIOFILMS VERHINDERT WERDEN? ...	24
5.4. WANN IST EIN BIOFILM BESEITIGT?	25

6. ZUSAMMENFASSUNG 27

7. LITERATURVERZEICHNIS 28

Abbildungsverzeichnis

	SEITE
ABBILDUNG 1: GRUNDBAUPLAN DER BAKTERIEN (KAYSER 2010).....	1
ABBILDUNG 2: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG EINER POLYMIKROBIELLEN BIOFILM- BILDUNG (PHILIPS P, SAMPSON E, YANG Q. BACTERIAL BIOFILMS IN WOUNDS 2008)	3
ABBILDUNG 3: EXTRAZELLULÄRE POLYMERE SUBSTANZ.....	4
ABBILDUNG 4: ZUSAMMENHANG ZWISCHEN MIKROBIELLER BESIEDLUNG UND BIOFILMBILDUNG IN WUNDEN (WOUNDS 2004 HEALTH MANAGMENT PUBLIKATIONS)	14
ABBILDUNG 5: ENTWICKLUNG EINES BIOFILM IN EINER CHRONISCHEN WUNDE (IN ANLEHNUNG AN BJARNSHOLT 2007). NACH DEM ANHEFTEN AM WUNDGRUND ERFOLGT IN WEITEREN SCHRITTEN EINE VERMEHRUNG DER ANGESIEDELTE BAKTERIEN. MITTELS CHEMISCHER SIGNALE KOMMUNIZIEREN DIE MIKROORGANSIMEN UNTEREINANDER UND UMMANTELN SICH MIT EINEM BIOFILM. (DARSTELLUNG: H.-D. HOPPE).....	16
ABBILDUNG 6: BIOFILM (FOTO HINTNER MARIANNE)	18
ABBILDUNG 7: INAKTIVIERUNG EINES 1 WOCHEN ANGEZÜCHTETEN BIOFILMS VON PSEUDOMONAS AERUGINOSA AUF POLYCARBONAT-OBJEKTTRÄGERN NACH 60 MIN KONTAKT MIT VERSCHIEDENEN WUNDSPÜLLÖSUNGEN (HARBS UND SIEBERT 2007)	19
ABBILDUNG 8: OCTENILIN® WUNDSPÜLLÖSUNG	20
ABBILDUNG 9: OCTENILIN®-WUNDGEL (SCHÜLKE & MAYR 2009)	21
ABBILDUNG 10: PRONTOSAN® WUNDSPÜLLÖSUNG UND PRONTOSAN® WOUND GEL (B. BRAUN MELSUNGEN AG 2009).....	22

Glossar

<i>Homöostase</i>	Die Homöostase (auch <i>Selbstregulation</i> , von griechisch: <i>Homoiostase</i> - Gleich-Stand) bezeichnet die Fähigkeit eines Systems (Organismus), sich innerhalb gewisser Grenzen in einem stabilen Zustand zu halten ¹ .
<i>hydrophil</i>	Wasserfreundlich, wasserliebend. Der hydrophile Charakter einer Substanz wird i.d.R. durch die Eigenschaft bestimmt, sich in Wasser zu lösen. Verbindungen, die sowohl hydrophile als auch hydrophobe Eigenschaften aufweisen sind grenzflächenaktive Substanzen (Tenside) ² .
<i>Persistieren</i>	bestehen bleiben
<i>Remanenzwirkung</i>	Die Remanenzwirkung bezeichnet den antimikrobiellen Effekt eines Wirkstoffes auf Keime, welche nachträglich auf ein zuvor desinfiziertes Areal gelangen. Über die Dauer der Remanenzwirkung können so Infektionen vermieden werden ³
<i>Topisch</i>	Örtliche, äußerliche Anwendung
<i>Virulenzfaktor</i>	Ist die Eigenschaft eines Mikroorganismus, der seine krankmachende Wirkung bestimmt ⁴ .

¹ Zitat (<http://www.pflegewiki.de/wiki/Homöostase>), 20.08.2013

² Zitat (<http://www.wasser-wissen.de>), 14.8.2013)

³ **Schülke & Mayer (Hg.) (2009)**. Antiseptik mit Octenidin. Vorbeugen. Schützen. Behandeln. Norderstedt. Westwerk

⁴ Zitat (http://www.vetion.de/lexikon/detail.cm?lex_id=1582), 15.08.2013

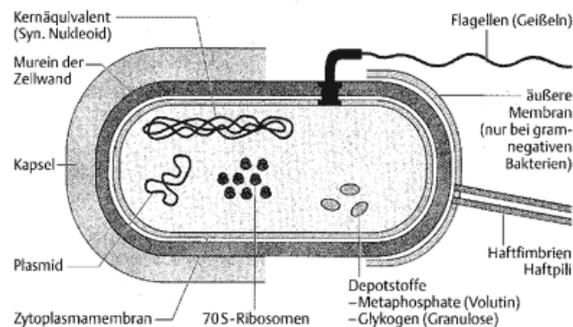
Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
d. h.	das heißt
EPS	Extrazelluläre polymere Substanz
i.d.R.	in der Regel
inkl.	inklusive
Min.	Minuten
o.A.	ohne Angabe
Tab.	Tabelle
z. B.	zum Beispiel

1. EINLEITUNG

„Für einige der hartnäckigsten Infektionskrankheiten sind Biofilme, gut organisierte Verbände von Bakterien, verantwortlich. Wer ihnen beikommen will, muss das Kommunikationssystem dieser Mikroben ausspionieren. Ohne Kommunikation kann keine

menschliche Gemeinschaft funktionieren – sie ist einer der Lebensnerven unseres Zusammenlebens. Nicht anders verhält es sich bei Bakteriengemeinschaften⁵.“



**Abbildung 1: Grundbauplan der Bakterien
(Kayser 2010)**

Die Rolle von Biofilmen in schlecht heilenden Wunden wird zunehmend erkannt und diskutiert. Obwohl die Existenz von Biofilmen die Evolution der Erde schon immer beeinflusst hat, quasi ja ein Teil unserer menschlichen Existenz ist, und uns in allen Lebenslagen begleitet, bleiben sie immer noch ein Mysterium. Das Innenleben eines Biofilms – also wie diese Bakteriengemeinschaften wirklich interagieren, ist noch immer nicht zur Gänze erforscht.

Wie funktioniert diese „Gemeinschaft“, wie kommuniziert sie, welche Auswirkungen hat sie auf Wundheilung, wie kann man sie erkennen und behandeln. Diese Fragen und noch mehr möchte ich in meiner Abschlussarbeit erörtern.

⁵ **J.W. Costerton u. Philip S. Stewart** Bekämpfung bakterieller Biofilme. In: SPEKTRUM DER WISSENSCHAFT. 11/2001. S. 58 ff

2. WAS SIND BIOFILME?

Das Bilden von Biofilmen ist nichts anderes als eine Überlebensstrategie der Bakterien, und zwar eine sehr alte. Man geht davon aus, dass Cyanobakterien schon vor 2,5 Milliarden Jahren erste Biofilme gebildet haben. Diese Biofilme waren auch die ersten Sauerstoffproduzenten und ermöglichten damit erst die Entstehung höherer Lebewesen. In diesem Zusammenhang ist die kuriose Tatsache zu erwähnen, dass der Mensch aus ca. 10^{13} eukaryoten Zellen besteht, zugleich aber 10^{14} Bakterien und Pilze in sich trägt. Wir bestehen also, überspitzt formuliert, zu 90% aus Bakterien und Pilzen. Der Zusammenschluss von Bakterien in einem Biofilm macht sie resistent gegen ungünstige äußere Einflüsse. Wir finden Biofilme in den heißen Schwefelquellen des Yellowstone-Nationalparks wie in den Gletschern der Antarktis⁶

Biofilme zeichnen sich durch das Phänomen der Grenzflächenhaftung aus. Als Grenzfläche oder Phasengrenze bezeichnet man die Fläche zwischen zwei Phasen, z.B.: die Fläche zwischen zwei nicht mischbaren Flüssigkeiten, wie Öl und Wasser. Biofilme in Wunden bestehen aus einer dünnen Schleimschicht (Matrix), in der Mikroorganismen (z.B.: Bakterien, Pilze, Protozoen) eingebettet sind, die an einer Grenzfläche, dem Wundgrund (feste Phase) haften.⁷ Biofilme sind dynamische heterogene Lebensgemeinschaften, die sich kontinuierlich verändern (**Abb. 2**). Sie können aus einer einzigen Bakterien- oder Pilzart bestehen oder, was häufiger vorkommt, polymikrobiell sein, d. h. sie beinhalten mehrere unterschiedliche Arten von Mikroorganismen. **Auf einfachster Ebene lassen sich Biofilme als Bakterien beschreiben, die in einer dicken schleimigen Schutzschicht aus Zuckern und Proteinen eingebettet sind.** Diese

⁶ Dr. Norbert Hasenöhr (2011). Biofilm: Die Wurzel allen Übels. In: JATROS Infektiologie 2/2011. S. 8-10

⁷ H.-D. Hoppe V.Gerber (2010). Beläge auf chronischen Wunden – Fibrin, Nekrosen, Biofilm. In: Medizin & Praxis 10/2010. S. 28-31

Schutzschicht schützt die Mikroorganismen im Biofilm vor äußeren Einflüssen⁸. Zudem stellt diese Schutzschicht einen Speicher für Nährstoffe dar.



Abbildung 2: Schematische Darstellung einer polymikrobiellen Biofilm-Bildung (Phillips P, Sampson E, Yang Q. Bacterial biofilms in wounds 2008)

⁸ Phillips PI, Wolcott Rd, Fletcher J, Schultz GS (2010). Biofilm einfach erklärt. In: Wounds International Band 1, Ausgabe 3, 05/2010. S. 1-6

3. WIE BILDEN SICH BIOFILME?

Phase 1: Reversible Oberflächenanheftung

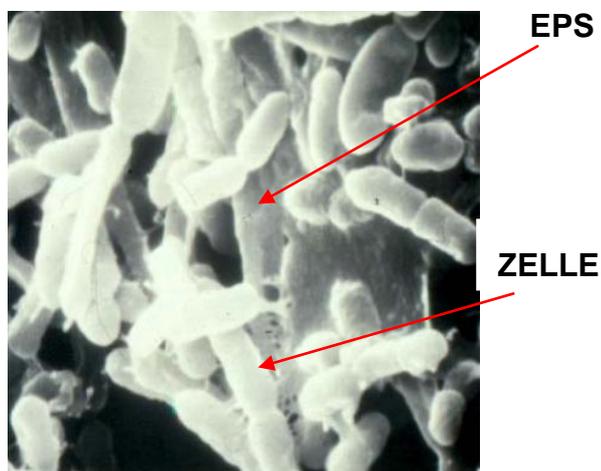
Mikroorganismen gelten allgemein hin als frei schwebende Einzelzellen (d. h. planktonisch). Unter natürlichen Umständen neigen die meisten Mikroorganismen jedoch dazu, sich an Oberflächen anzuheften und später dann Biofilme zu bilden. Die initiale Anlagerung ist reversibel.

Phase 2: Permanente Oberflächenanheftung

Während sich die Bakterien vermehren, heften sie sich immer fester an die Oberfläche an (d. h. sessil); sie differenzieren sich und verändern ihre genetischen Expressionsmuster, um ihre Überlebenschancen zu verbessern. Im Allgemeinen ist dies das Ergebnis einer Art von Kommunikation der Bakterien untereinander, die als „Quorum Sensing“ bezeichnet wird.

Phase 3: Schleimige(r) schützende(r) Matrix/Biofilm

Nachdem die Bakterien fest verankert sind, beginnen sie mit der Absonderung von umhüllenden Matrixsubstanzen, die als extrazelluläre polymere Substanz (EPS) bezeichnet werden. Daraus entsteht die schützende Matrix oder der schützende „Schleim“. Kleine Bakterienkolonien bilden dann den initialen Biofilm.



Die genaue Zusammensetzung der EPS variiert mit den vorkommenden Mikroorganismen; sie bestehen aber normalerweise aus Polysacchariden, Proteinen, Glykolipiden und Bakterien-DNA. Es wird vermutet, dass bakterielle DNA, die durch

Abbildung 3: Extrazelluläre polymere Substanz

lebende oder abgestorbene Bakterien freigesetzt wird, eine wichtige Strukturkomponente für die EPS-Matrix der Biofilme bereitstellt. Verschiedene sezernierte Proteine und Enzyme unterstützen den Biofilm dabei, sich fest im Wundbett zu verankern. Das Leben in einer für Biofilme typischen gemischten mikrobiellen Gemeinschaft ermöglicht den Mikroorganismen, ihre individuellen Fähigkeiten und Eigenschaften für das Überleben der Gruppe gemeinsam zu nutzen. Daraus ergeben sich viele Vorteile zu ihrem Schutz⁹.

„Innenleben“ – Der Biofilm aus der Sicht eines Bakteriums

Biofilmbildung

Plötzlich erschienen herrliche Moleküle an der Zellwand und ließen das Zellinnere erschauern. „Nicht allein NICHT ALLEIN“ – diese Nachricht pulsierte durch das System. Wieder – und noch vorsichtig – begann das Bakterium, das Ablesen von Genen anzuwerfen, die ihm ermöglichen sollten, neue Moleküle zu produzieren. Dann kam er - der IMPULS. Im Gleichklang mit seinen erschmeckten Nachbarn begann das Bakterium, Alginate und Proteine zu synthetisieren und aus der Zelle aus zu schleusen. Draußen entstand daraus eine Glycokalix, die zusammen mit Exsudatspuren und menschlichen Zellresten eine immer dicker werdende Schicht bildet, die Schutz und Konstanz gewährte. Die Bakterien in der nun allmählich wachsenden Mikrokolonie, sessil genannt, hatten bessere Überlebenschancen als die planktonischen „Freischwimmer“, die allen Umwelteinflüssen weiter ausgesetzt blieben¹⁰.

⁹Phillips PI, Wolcott Rd, Fletcher J, Schultz GS (2010). Biofilm einfach erklärt. In: Wounds International Band1, Ausgabe3, 05/2010. S. 1-6

¹⁰o.A. (2010). Innenleben-Der Biofilm aus der Sicht eines Bakteriums. In: Wundmanagement 4 (1).2010. S. 23-24

3.1. WIE „SCHÜTZEN“ REIFE BIOFILME DIE BAKTERIEN?

Durch Biofilme wird die Toleranz von in der Matrix eingebetteten Mikroorganismen gegenüber dem Immunsystem, antimikrobiellen Substanzen und umweltbedingtem Stress (z. B. eingeschränkte Nährstoff- oder Sauerstoffversorgung) außerordentlich erhöht. Diese Toleranz kann bis zu einer vollständigen Resistenz gegenüber Faktoren führen, durch welche die gleichen Mikroorganismen leicht abgetötet würden, wenn sie ungeschützt in Suspension vorkommen würden.

- **Blockade**

EPS schützen Mikroorganismen auf eine einfache Art, indem sie große Moleküle (z. B. Antibiotika) und Entzündungszellen daran hindern, tief in die Biofilm-Matrix einzudringen. Reife Biofilme können auch als eine Diffusionsbarriere selbst für kleine Moleküle, wie antimikrobielle Substanzen, wirken.

- **Gegenseitiger Schutz**

Eine weitere einzigartige Eigenschaft von polymikrobiellen Biofilmen beruht auf der kooperativen Verhaltensweise unterschiedlicher Mikroorganismen zur Bereitstellung von Mechanismen zum gegenseitigen Schutz. Zum Beispiel können Bakterien, die antibiotikaresistent sind, protektive Enzyme oder Antibiotikabindungsproteine sezernieren, die benachbarte nicht-antibiotikaresistente Bakterien in einem Biofilm schützen; sie können aber auch Transferyene mit einer Antibiotikaresistenz auf andere Bakterien übertragen; dies ist sogar zwischen unterschiedlichen Bakterienarten möglich. Studien haben auch gezeigt, dass bestimmte Charakteristika der EPS in Biofilmen, die von einer Bakterienart eingebracht wurden, eine bedeutende Rolle für die Fähigkeit anderer Arten in Bezug auf Anheftung und Inkorporation (Einverleibung) in einen bestehenden Biofilm spielen können.

- **Ruhezustand (inaktive Bakterien)**

Eine weitere Überlebensstrategie, die viele Bakterien in einem Biofilm entwickelt haben, besteht darin, dass eine Subpopulation metabolisch inaktiv wird, d. h. in einen Ruhezustand übergehen. Gegenüber Antibiotika welche nur gegen stoffwechselaktive Bakterien eingesetzt werden können, sind Bakterien, welche sich im Ruhezustand befinden unempfindlich¹¹.

3.2. WENN SICH BAKTERIEN BEEINFLUSSEN – DAS QUORUM SENSING

Seit rund 20 Jahren ist bekannt, dass Mikroorganismen über das so genannte „*Quorum Sensing*“ miteinander kommunizieren, eine Art biochemische Dichtemessung. Eine Reihe von Stoffwechselprozessen läuft erst an, wenn die Populationsdichte hoch genug ist. Die Bakterienzellen schütten dafür Signalmoleküle aus, die von benachbarten Zellen erkannt und über Rezeptoren aufgenommen werden. Wenn die Konzentration dieser Signalstoffe und damit die Zellzahl einen Schwellenwert überschreitet, setzt eine positive Rückkoppelung ein. Diese aktiviert über Rezeptoren bestimmte Gene. Die Zellen scheiden dann beispielweise Substanzen aus, die den Biofilm wachsen lassen (vermehrte Bildung von EPS), sie produzieren Licht oder Zellgifte (z.B.: *Vibrio fischeri* in Leuchtorganen von Fischen) – und das im Pulk. Die Bakterien werden synchronisiert. Diese Eigenschaften bilden Mikroorganismen nur in Gemeinschaft aus, für die einzelne Zelle wäre das zu energieaufwändig. Mittlerweile (laut Prof. Kirsten Jung) gibt es dafür den Begriff der Sozio-Mikrobiologie¹².

¹¹ Phillips PI, Wolcott Rd, Fletcher J, Schultz GS (2010). Biofilm einfach erklärt. In: Wounds International Band1, Ausgabe3, 05/2010. S. 1-6

¹² Kathrin Burger (2012). Das Ende des Egoismus. In: Einsichten - Das Forschungsmagazin 2/2012. S 54

Über die Interaktion zwischen den Bakterien in einem Biofilm und über die Interaktion des Biofilms mit der Wunde ist wenig bekannt. Obwohl viele gewebeschädigende bakterielle Virulenzfaktoren bekannt sind, weiß man wenig über deren Ausprägung, wenn die Bakterien im Biofilm vereint sind. Vorstellbar ist, dass die Virulenzgene der Bakterien in einem Biofilm herunterreguliert und weniger gewebeschädigende Substanzen von den Bakterien gebildet werden, denn häufig findet man *Staphylococcus aureus* in chronischen Wunden, aber nur selten davon ausgehende Abszesse. Grundlage dafür könnte das *quorum sensing* sein. Damit wird die Kommunikation mittels chemischer Stoffe – unter anderem Pheromonen – zwischen Bakterien bezeichnet, mit dem Ziel, ihr Stoffwechselverhalten an die Populationsdichte anzupassen. Vielleicht sind es auch weniger virulente Stämme, die sich in Biofilmen zusammenfinden¹³.

Aus „Innenleben“ – Der Biofilm aus der Sicht eines Bakteriums

...Herrliche Ruhe herrschte um das Bakterium, so wie Menschen sie im Schneetreiben empfinden mochten. Dafür erlebte es eine intensivere Kommunikation zwischen den Angehörigen der eigenen Art, aber auch zunehmend anderer Arten, die das komplexe Gebilde, das die Menschen Biofilm nennen, unterstützen, stabilisierten und bereicherten. So signalisierte die Kommunikation ein sich einstellendes Gleichgewicht und verhielt einen Pool an Futtermaterialien. Der Drang sich zu teilen, um den Beitrag zu leisten und die eigene Position auszubauen, wurde immer stärker. So ballten sich in den beiden Polen seiner Zelle Molekülgruppen. DNA wurde dupliziert und an den Polen platziert, Proteine aus Aminosäuren verknüpft, Spurenelemente eingelagert. Dieser erfüllende Prozess dauerte

¹³ **KRECH T, TRABER J. (2010).** Bakterien in chronischen Wunden. Die Grenzen zwischen bakterieller Besiedelung und Infektion sind fließend. In: ARS MEDICI 23/2010. S. 960-964

eine Weile, durch chemische Impulse wurde den anderen mitgeteilt, dass die Zeit zur Vermehrung gekommen ist¹⁴.

3.3. UMWELTBEDINGUNGEN FÜR BAKTERIEN IN EINEM BIOFILM

Extrazellulärer Matrix hält eine Mikrokolonie zusammen. Zwischen den zahllosen Enklaven in einem Biofilm erstreckt sich ein Netzwerk offener Wasserwege. Durch die winzigen Röhren gelangt Flüssigkeit zu jedem Mikroben-Häufchen, versorgt es mit Nährstoffen und entsorgt seine Stoffwechsel-Abfälle. Die Zellen am Rand kommen voll in den Genuss dieses Luxus; für jene tief im Inneren einer Mikrokolonie wird es dagegen schwieriger: Die dicht besiedelte Peripherie und die organische Matrix, in die sie eingebettet sind, behindern den Wasserdurchfluss. Daher müssen sich die zentralen Zellen mit den Nährstoffen bescheiden, die per Diffusion bis zu ihnen vordringen.

Der Sauerstoffgehalt in einer Bakteriengesellschaft interessiert besonders, da er über den physiologischen Zustand der Zellen Auskunft zu geben vermag. In einem Biofilm beispielsweise, der einzig *Pseudomonas aeruginosa* enthält, können bloß die Zellen im Saum einer jeden Mikrokolonie wachsen und sich teilen. Denn der Sauerstoff dringt nicht tiefer als zwei bis drei hundertstel Millimeter weit ein. Die Zellen tief im Inneren sterben zwar nicht ab, gehen aber in ein Ruhestadium über¹⁵.

¹⁴ **o.A. (2010)**. Innenleben - Der Biofilm aus der Sicht eines Bakteriums. In: Wundmanagement 4 (1) 2010. S. 23-24

¹⁵ **J.W. Costerton, Philip S. Stewart (2001)**. Bekämpfung bakterieller Biofilme. In: SPEKTRUM DER WISSENSCHAFT Nov. 2001. S 58

4. DER BIOFILM AUF DER WUNDE

4.1. DIE BAKTERIENFLORA DER HAUT

Die Haut ist das größte Organ des Menschen. Sie hat eine Oberfläche von 1,5 - 2,3 m², das Gewicht variiert zwischen 5 bis 10 kg beim Erwachsenen. Temperatur und Feuchtigkeit beeinflussen die Verteilung und Dichte der auf der Haut befindlichen Mikroorganismen. Unter den Achseln und in der Leistengegend ist die höchste Dichte an Bakterien anzutreffen. Die Bakterienflora setzt sich aus residenten, transienten und temporär besiedelten Mikroorganismen zusammen (**Tab. 1**) :

- die residente Flora der Haut wird als einheimische Mikroflora bezeichnet. Sie existiert innerhalb eines Biofilms und kann weitgehend als harmlos angesehen werden.
- Die transiente Flora spiegelt die Eigenschaften des Wirts, wie persönliche Hygiene, Lebensstil, persönliche Aktivitäten und einen Grad der Kommunikation durch die Umwelt wider. Transiente Organismen persistieren in der Regel nicht auf der Haut und sind an exponierten Hautarealen wie den Händen zu finden.
- Die dritte Gruppe (temporäre Flora) besitzt die Fähigkeit, die Haut zu besiedeln und sich zu vermehren. Diese Mikroorganismen verbleiben aber nur kurze Zeit auf der Wirtsoberfläche.

Tabelle 1: Wichtige Bakterien der menschlichen Haut (Percival SL, Emanuel C, Cutting KF, Williams DW 2012)

Bakterienart	Vorkommen/Pathologie
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Resident, Übertragung von Resistenzgenen Nosokomiale Infektionen einschließlich Implantaten
<i>Staphylococcus aureus</i>	Transient, MRSA (ORSA), Weichteil- und Knocheninfektionen
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	Transient, Weichteilinfektionen, Implantatinfektionen
β -hämolyisierende Streptokokken	Teilweise resident, Erysipel, Bakteriämie, nekrotisierende Faszitis
<i>Corynebakterium sp.</i>	Teilweise resident, Resistent gegenüber vielen Antibiotika
<i>Propionibakterium sp.</i>	Teilweise resistent, Akne
<i>Acinetobacter sp.</i>	Transient, nosokomiale Infektionen
<i>Pseudomonas sp.</i>	Transient, Weichteilinfektionen, Wundinfektionen

Die Funktionen der Haut sind sehr vielfältig. In Bezug auf eine bakterielle Besiedelung interessieren hier insbesondere die Schutzmechanismen gegenüber einer mikrobiellen Besiedelung (**Tab. 2**). Die Haut ist über 90% mit *Staphylococcus epidermidis* besiedelt, der zur residenten Mikroflora gehört. *S. epidermidis* ist Bestandteil des humanen Immunsystems. Die Bakterie produziert antimikrobielle Peptide zur Abtötung von unerwünschten Mikroorganismen und erhält die bakterielle Balance auf der Haut. Ebenso können durch *S. epidermidis* Resistenzgene übertragen und nosokomiale Infektionen verursacht werden. Auf der Wunde ist die Funktion ambivalent: Einerseits sorgen sie für eine schnelle Erstbesiedelung und damit eine provisorische Kolonisationsresistenz, andererseits können sie

selbst Wundinfektionen auslösen. *Staphylococcus aureus* zählt zu den transienten Bakterien und ist temporär bei 35-60 % aller Menschen zu finden. Verschiedene Patientengruppen wie Diabetiker und Immunsupprimierte zeigen erhöhte Übertragungsraten. Das Bakterium ist mit einer großen Palette an Virulenzfaktoren (wie Enterotoxine und Zytotoxine) ausgestattet. Die Methicillin resistente Form (MRSA) ist Auslöser von Community assoziierten Infektionen¹⁶.

Tabelle 2: Schutzmechanismen der Haut (Cooper RA, Percival SL 2010)

Eigenschaften	Ausprägung
Feuchtigkeitsgehalt	Im Allgemeinen niedrig, reduziert die Kolonisation und enzymatische Aktivität von Bakterien
Saurer pH-Wert (pH 5,5)	Reduktion der bakteriellen Adhäsion
Schuppenbildung	Ein kontinuierliches Abschilfern von Hornzellen reduziert die Menge der auf der Haut befindlichen Bakterien
Intaktes stratum corneum	Schützt vor bakterieller Besiedelung.
Hoher Salzgehalt	Reduktion der bakteriellen Adhäsion
Antimikrobielle Peptide (AMPs)	Tötung der kolonisierenden Bakterien
Fettsäuren und Lipide	Reduktion der bakteriellen Adhäsion

¹⁶ Z. Babadagi-Hardt, V. Gerber, H.-D. Hoppe, A. Schwarzkopf (2013). Bakterielle Biofilme Teil 2. Besiedelung des Menschen. Wund Management 01/2013. S. 18-21

4.2. DIE POTENTIELLE BEDEUTUNG VON BIOFILMEN INNERHALB VON WUNDEN

Die frühe Besiedelung der Wundoberfläche entspricht meistens der der Hautflora (z.B. mit *Staphylococcus epidermis*). Das Bakterium haftet an der Wunde, vermehrt sich, produziert eine Polymermatrix und bildet einen „gesunden“ Biofilm. An diesem Punkt wird das Immunsystem aktiv und eine „Homöostase“ bildet sich an der Stelle der Besiedelung. Es gibt Hinweise dafür, dass jetzt gram-negative Bakterien den Biofilm besiedeln, den verfügbaren Sauerstoff nutzen und Wachstumsfaktoren produzieren, die den Anaerobiern ermöglichen, sich innerhalb des Biofilms zu entwickeln. Es bildet sich eine komplexe, stabile polymikrobielle „climax community“, auch häufig als „mikrobielle Homöostase“ bezeichnet. Eine „climax community“ ist eine Gemeinschaft von Mikroorganismen innerhalb eines quasi Fließgleichgewichts und unterstellt stabile Beziehungen zwischen deren Mitgliedern. Diese Situation wird mit dem Begriff „kritische Kolonisation“ beschrieben. In dieser Phase beeinflussen die Mikroorganismen bereits den Wundheilungsprozess, ohne dass klinische Infektionszeichen deutlich werden, obwohl es feine Anzeichen für eine bakterielle Unbalance gibt, wie z.B. Veränderungen in der Wundfarbe oder des Geruchs, zusammen mit der Anwesenheit von devitalisiertem Gewebe und einer Ischämie. In dieser Phase ist die Applikation eines antimikrobiellen Wirkstoffs mit einer breiten Wirkpalette angezeigt. Die gemeinsame Wirkung von antimikrobieller Substanz und der Immunantwort des Körpers verbessert die Bedingungen für die Wundheilung. Ohne Kontrolle der mikrobiellen Entwicklung erfolgt der Wechsel von einem frühen „gesunden“ Biofilm zu einem „pathogenen“ Biofilm bis hin zu einer klinischen Infektion. Wenn die pathogene Wirkung des Biofilms die Immunantwort des Gewebes übersteigt, stagniert die Wundheilung¹⁷.

¹⁷ Steven L. Percival, Philip G. Bowler (2004). Biofilm und seine potentielle Rolle in der Wundheilung. In: WOUNDS 16 (7) 2004. S. 234-240

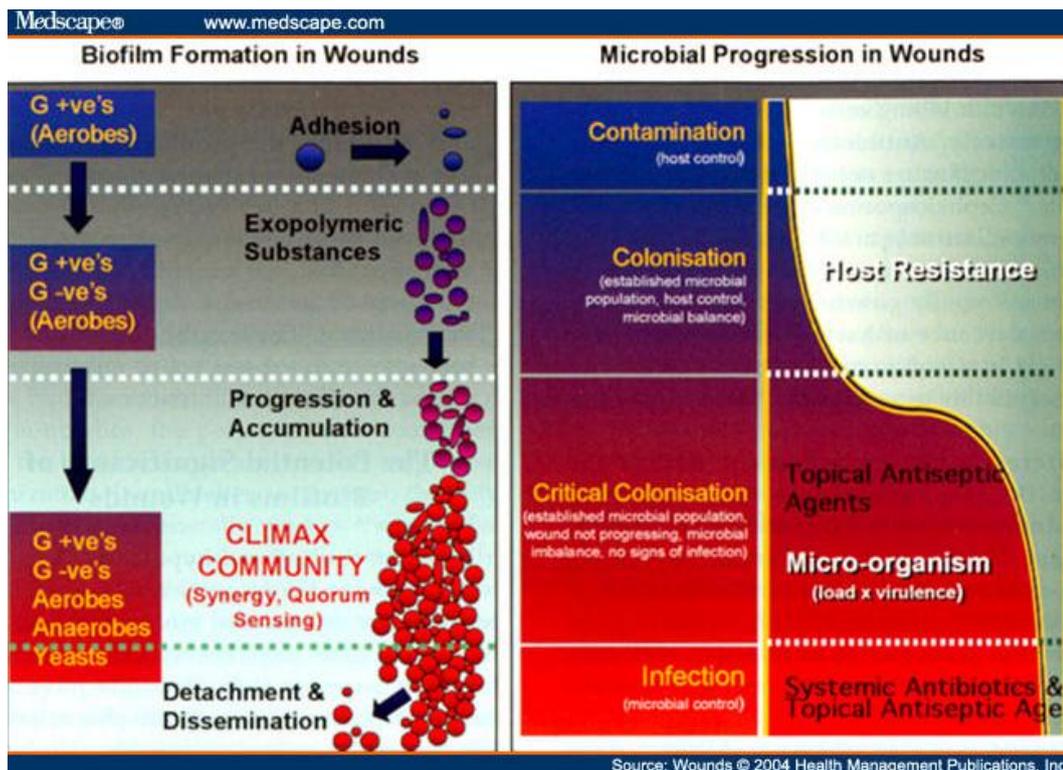


Abbildung 4: Zusammenhang zwischen mikrobieller Besiedelung und Biofilmbildung in Wunden (Wounds 2004 Health Management Publikations)

Biofilme stimulieren eine chronisch-entzündliche Reaktion des menschlichen Körpers, mit der der Organismus versucht, den Biofilm in der Wunde zu bekämpfen. Diese Reaktion führt zur übermäßigen Produktion von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen in der Umgebung des Biofilms. Diese Entzündungszellen sondern hohe Konzentration von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) sowie Proteasen (Matrix-Metalloproteinasen (MMP und Elastase)) ab. Diese Proteasen können dabei helfen, die Verankerung des Biofilms am Gewebe zu zerstören und so den Biofilm von der Wunde ablösen. Die ROS und die Proteasen schädigen aber auch gesundes und heilendes Gewebe sowie Proteine und Immunzellen und zeigen somit unerwünschte Effekte, die die Wundheilung beeinträchtigen.

Die chronische Entzündungsreaktion ist bei der Beseitigung des Biofilms nicht immer erfolgreich und es wurde die Hypothese aufgestellt, dass diese Reaktion die Entwicklung von Biofilm sogar begünstigt. Durch die In-

duktion einer nicht wirksamen entzündlichen Reaktion schützt der Biofilm die in ihm eingeschlossenen Mikroorganismen und erhöht die Produktion von Exudat, welches wiederum als Nahrungsquelle dient und den Biofilm aufrecht erhält.

4.3. WIE SCHNELL BILDEN SICH BIOFILME?

Experimentelle Laboruntersuchungen haben gezeigt, dass suspendierte Bakterien, z. B. *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* und *Escherichia coli*, typischerweise:

- Sich innerhalb von wenigen Minuten anheften
- Stark anhaftende Mikrokolonien sich innerhalb von 2-4 Stunden bilden
- Initial EPS bilden und innerhalb von 6-12 Stunden zunehmend toleranter gegenüber Bioziden, z.B. Antibiotika, Antiseptika und Desinfektionsmitteln werden
- Sich innerhalb von 2-4 Tagen, in Abhängigkeit von Spezies und Wachstumsbedingungen, zu voll ausgereiften Biofilm-Kolonien entwickeln, die äußerst resistent gegenüber Bioziden sind und suspendierte Bakterien abstoßen
- Sich rasch von mechanischer Zerstörung erholen und innerhalb von 24 Stunden neue reife Biofilme ausbilden.

Daraus lässt sich schließen, dass für eine effiziente Wundreinigung (Debridement) nur ein kurzzeitiges Therapiefenster, d. h. weniger als 24 Stunden zur Verfügung steht, in welchem antimikrobielle Behandlungen mit hoher Wirksamkeit eingesetzt werden können, um sowohl die Anzahl von

suspendierten als auch im Biofilm lebenden Mikroorganismen in Wunden zu reduzieren¹⁸.

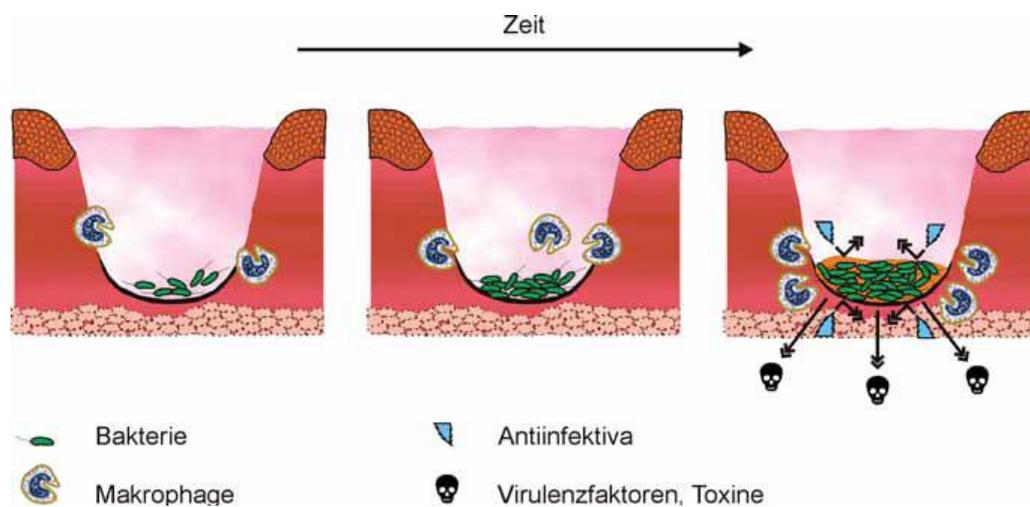


Abbildung 5: Entwicklung eines Biofilm in einer chronischen Wunde (in Anlehnung an Bjarnsholt 2007). Nach dem Anheften am Wundgrund erfolgt in weiteren Schritten eine Vermehrung der angesiedelten Bakterien. Mittels chemischer Signale kommunizieren die Mikroorganismen untereinander und ummanteln sich mit einem Biofilm. (Darstellung: H.-D. Hoppe)

¹⁸Phillips PI, Wolcott Rd, Fletcher J, Schultz GS (2010). Biofilm einfach erklärt. In: Wounds International Band1, Ausgabe3, 05/2010. S. 1-6

5. BEHANDLUNG VON WUNDEN MIT BIOFILM

Ziel:

- Koordiniertes Vorgehen aller an der Behandlung beteiligten Personen
- Vermeiden von Wundheilungsstörungen durch Biofilme auf dem Wundgrund
- Einheitliches Vorgehen bei der Behandlung chronischer Wunden mit Biofilm
- Förderung der Lebensqualität, vermeiden von Komplikationen¹⁹

Behandlungsgrundsätze:

Nach bisherigen Erkenntnissen gibt es keine Ein – Schritt – Lösung zur Entfernung des Biofilms. Die Behandlung beruht auf zwei Säulen:

1. Verringerung der Biofilmbelastung durch Debridement und/oder gründlicher Reinigung zur Beseitigung des Biofilms und der ruhenden (persistierenden) Bakterien
2. Verhinderung der Neubildung von Biofilmen durch Anwendung von topischen antimikrobiellen Mitteln zur Abtötung von planktonischen (frei schwimmenden) Bakterien²⁰

¹⁹ o.A. (2011). Wundzentrum Hamburg. Information zur Behandlung von Biofilmen Version 1. 15.09.2011

²⁰ Internationaler Konsens (2012). Adäquate Anwendung von Silberverbänden bei Wunden. Konsens einer Expertengruppe. London. In: Wounds International 2012

5.1. WIE ERKENNE ICH EINEN BIOFILM AUF DER WUNDE?

Biofilme sind mikroskopisch kleine Strukturen. Erst wenn der Biofilm unbehandelt anwachsen kann, ist er mit bloßem Auge erkennbar. Der Wundgrund erscheint gelartig glänzend belegt. Ein sicherer Nachweis ist zurzeit aber nur über mikroskopische Untersuchungen möglich²¹. Das Erkennen eines Biofilms auf einer Wunde ist nicht so einfach möglich. (*Widgerow (2008)*). Um mittels Blickdiagnose dies zu differenzieren, muss der Therapeut über sehr viel Erfahrung verfügen. Leicht erkennbare Hinweise auf eine Biofilmbildung sind:

- Nicht heilende Wunden trotz beherrschter Grunderkrankung
- Unwirksamkeit einer antimikrobiellen Therapie²².



Abbildung 6: Biofilm (Foto Hintner Marianne)

²¹ o.A. (2011). Wundzentrum Hamburg. Information zur Behandlung von Biofilmen Version 1. 15.09.2011

²² H.-D. Hoppe, V. Gerber (2010). Beläge auf chronischen Wunden - Fibrin, Nekrosen, Biofilm, In: Medizin & Praxis 10/2010. S. 28-31

5.2. WIE KANN DER BIOFILM REDUZIERT WERDEN?

Bisherige Erfahrungen zeigen, dass die mechanische Entfernung des Biofilms die größte Aussicht auf Erfolg hat. Hier sind besonders das konsequente chirurgische Debridement sowie die Ultraschallassistierte Wundreinigung zu nennen²³. Für die Praxis ist es daher sinnvoll, bei Verdacht auf Biofilmentwicklung möglichst ein chirurgisches Debridement durchzuführen oder mittels Ultraschallassistierter Wundreinigung den Belag zu entfernen.

Wenn keine der angeführten Debridement-Techniken durchgeführt wird, sind als Alternativen der Einsatz von Antiseptika oder Spüllösungen mit den Wirkstoffen Octenidin oder Polyhexanid geeignet. Nach Untersuchungen von *Harbs* und *Siebert* (2007) sind die beiden genannten Wirkstoffe in der Lage, Biofilme zu inaktivieren (**Abb. 7**)²⁴.

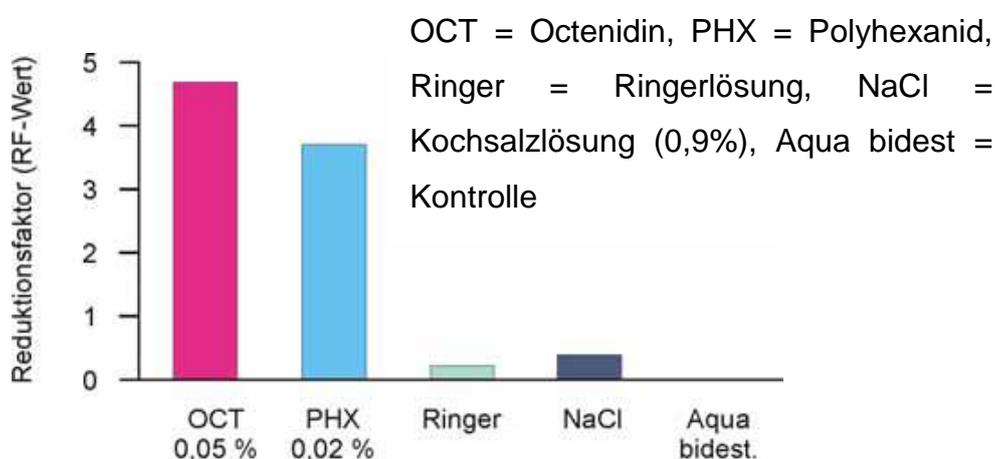


Abbildung 7: Inaktivierung eines 1 Woche angezüchteten Biofilms von *Pseudomonas aeruginosa* auf Polycarbonat-Objektträgern nach 60 min Kontakt mit verschiedenen Wundspüllösungen (*Harbs* und *Siebert* 2007)

²³ o.A. (2011). Wundzentrum Hamburg. Information zur Behandlung von Biofilmen Version 1. 15.09.2011

²⁴ H.-D. Hoppe, V. Gerber (2010). Beläge auf chronischen Wunden - Fibrin, Nekrosen, Biofilm. In: Medizin & Praxis 10/2010. S. 28-31

Die Erreger der Biofilmkultur können nach Zerstörung ihrer Struktur sehr schnell neuen Biofilm bilden. Es ist daher anzuraten, stets mit dem Wiederauftreten von Biofilmen zu rechnen. Eine lokal ansetzende antiseptische Behandlung der Wunde beugt einer Rekonstitution des Biofilms vor²⁵.

Geeignete Antiseptika zur Behandlung des Biofilmes:

Octenilin® Wundspüllösung



Abbildung 8: Octenilin® Wundspüllösung

(Schülke & Mayr GmbH 2009)

Produktdaten:

Aqua valde purificata, Glycerin, Ethylhexylglycerin, 0,05 % Octenidin HCl

Produkteigenschaften:

Der Inhaltsstoff Ethylhexylglycerin verringert die Oberflächenspannung und sorgt dadurch für eine optimale Benetzung auf der Haut. Auch schwer zugängliche Wundpartien können optimal benetzt und gereinigt werden. Durch ihre gute Reinigungskraft löst octenilin® Wundspüllösung Biofilme effektiv und führt so zu einer signifikanten Reduktion der in der Wunde enthaltenen Mikroorganismen.

²⁵ Protz K., Sellmer W. (2012). Aspekte der Wundspülung. In: MEDIZIN&PRAXIS

Anwendung:

Bei jedem Verbandswechsel die Wunde mit octenilin® Wundspüllösung intensiv spülen und reinigen (octenilin® Wundspüllösung kann unmittelbar vor Anwendung auf Körpertemperatur erwärmt werden). Leicht lösbare Wundbeläge lassen sich hierdurch bereits entfernen. Zum Anlösen von Fibrinbelägen können zusätzlich mit octenilin® Wundspüllösung getränkte Verbände oder Wundauflagen eingesetzt werden. Nachspülen ist grundsätzlich nicht erforderlich. Bei Bedarf kann die Wunde mit octenilin® Wundgel weiter behandelt werden²⁶.

Octenilin® – Wundgel:

Abbildung 9: Octenilin®-Wundgel
(SCHÜLKE & MAYR 2009)

Produktdaten

Zusammensetzung: Aqua purificata, Propylene Glycol, Hydroxyethylcellulose, Octenidine HCl

Einsatzgebiete

- Zur schnellen, zuverlässigen und effektiven Wundreinigung
- Zum Lösen von Wundbelag, nekrotischem Gewebe und Biofilm

- Zur Befeuchtung von Wunden und Erzeugung eines idealen Wundheilungsmilieus
- Zur Unterstützung des natürlichen Heilungsprozesses

Anwendungshinweise

- octenilin® Wundgel direkt auf die Wundoberfläche auftragen
- eine 3 – 5 mm starke Gelschicht je nach Wundsituation ist ausreichend
- Abdeckung erfolgt über Sekundärverband
- Wundrand vor Mazeration schützen, z. B. mittels Hautschutzcreme oder Folienverband
- Verbandwechsel je nach Wundsituation alle 1 – 5 Tage²⁷

Prontosan® Wundspüllösung:



Abbildung 10: Prontosan® Wundspüllösung und Prontosan® Wound Gel (B. Braun Melsungen AG 2009)

effektive Lösung zur Wundreinigung. Norderstedt. Westwerk

²⁷ **Schülke & Mayer (Hg.) (2009).** octenilin® Wundgel, Befeuchtung, Reinigung und Schutz in Einem. Norderstedt. Westwerk

Inhaltsstoffe:

0,1% Polyhexanid, 0,1% Undecylenamidoproyl-Betaine (**Tensid**)

Einsatzgebiete:

Schwerpunktmäßig zur Behandlung chronischer Wunden und Verbrennungswunden wegen des guten Reinigungseffektes inkl. **Aufbrechen von Biofilmen** und Einsatz im Rahmen der Vakuum-Instillationstherapie.

Anwendung:

Getränkte Kompresse auf die Wunde aufbringen und ruhen lassen, Einwirkzeit von 10-15 Minuten zum Lösen des Biofilms und anderer Wundbeläge erforderlich, danach Belagreste ausspülen.

Besonderes:

Lösungsreste müssen nicht ausgespült werden.

Prontosan® Wound Gel:**Inhaltsstoffe:**

0,1% Polyhexanid, 0,1% Undecylenamidoproyl-Betaine (**Tensid**), Glycerin, Hydroxymethylcellulose

Einsatzgebiete:

Schwerpunktmässig zur Behandlung chronischer Wunden und von Verbrennungswunden wegen der Fähigkeit des **Aufbrechens von Biofilme** und Lösens von Belägen.

Anwendung:

Nach Wundreinigung Wundoberfläche großzügig mit Gel bedecken und mit geeigneten Sekundärverband abdecken. Verbleibt auf der Wunde bis zum nächsten Verbandswechsel.

Besonderers:

Gelreste müssen nicht ausgespült werden.

Tenside und Oberflächenspannung

Tenside besitzen einen hydrophilen und einen hydrophoben Molekül-Bestandteil. Diese spezielle Struktur erlaubt es ihnen, die Oberflächenspannung von Wasser zu reduzieren. Tensidhaltige Lösungen zeigen daher allgemein ein gutes Abreinigungsverhalten²⁸.

5.3. WIE KANN DIE REKONSTITUTION DES BIOFILMS VERHINDERT WERDEN?

Biofilm kann sich in einer Wunde erneut bilden aufgrund von:

- Wachstum von Fragmenten, die nach Debridement/Wundreinigung zurückgeblieben sind
- Verbreitung suspendierter Bakterien, die aus dem Biofilm freigesetzt wurden
- Wachstum des Biofilms durch Ansiedelung neuer Bakterien.

Die Zusammensetzung vieler Biofilme aus verschiedenen Arten von Mikroorganismen erfordert den Einsatz antimikrobieller Substanzen mit einem breiten Wirkungsspektrum, welches Mikroorganismen abtötet statt nur de-

²⁸ B. Roth, D. Holtz, D. Mayer, S. Lächli, J. Traber . Konsensus-Empfehlungen zum Einsatz polyhexanidhaltiger Produkte in der Behandlung von Wunden. In: PRAXIS Mini-Review 2011.100 (9). S. 531-537

ren Wachstum zu hemmen. Zu den bei der Wundreinigung am häufigsten eingesetzten antimikrobiellen Substanzen mit Breitspektrumwirkung zählen

- Silber
- Jod
- Honig
- PHMB (Polyhexamethylen-Biuganid)

z.B. Suprasorb® X + PHMB Antimikrobieller HydroBalance-Wundverband

die in verschiedenen Formulierungen erhältlich sind.

Grundsätzlich gilt:

Jede Wunde ist aseptisch zu behandeln, da Keimbesiedelung eine Wundheilung behindert und in einigen Fällen unmöglich macht²⁹.

5.4. WANN IST EIN BIOFILM BESEITIGT?

Aufgrund des Fehlens definierter Indikatoren und verfügbarer Labortests für den Nachweis von Biofilmen, ist es nicht möglich kategorisch festzulegen, wann eine Wunde tatsächlich biofilmfrei ist. Die eindeutigste klinische Indikation ist möglicherweise der fortschreitende Heilungsprozess in Verbindung mit einer verringerten Produktion an Exudat und Wundbelägen.

Solange keine klare Richtlinie zur Verfügung steht, basiert die Entscheidung wann und wie die Behandlung von Wunden mit Verdacht auf Biofilmbelastung modifiziert werden sollte, allein auf der klinischen Beurteilung.

²⁹ **Anke Bültmann, Veronika Gerber, Kerstin Protz (2009).** Octenisept® Wundkompendium. Octenisept® in der antiseptischen Wundbehandlung. **Schülke & Mayr (Hg.).**

lung. Schreitet beispielsweise die Wundheilung gut voran, kann es angebracht sein, auf eine andere Debridement – Methode umzustellen oder die Häufigkeit der Durchführung des Debridements – Verfahrens zu verringern und grundsätzlich über die Anwendung eines topischen antimikrobiellen Wirkstoffs zu entscheiden.

Weitere wichtige Aspekte sind die regelmäßige Neubewertung des Wundstatus sowie die Beurteilung des Allgemeinzustandes des Patienten unter besonderer Berücksichtigung seines Immunstatus, um den Wundheilungsprozess zu fördern³⁰

6. ZUSAMMENFASSUNG

Biofilme lassen sich als Bakterien beschreiben, die in einer dicken schleimigen Schutzschicht aus Zuckern und Proteinen eingebettet sind. Diese Schutzschicht (Extrazelluläre polymeren Matrix) schützt die Mikroorganismen im Biofilm vor äußeren Einflüssen. Biofilme sind ubiquitär. Sie kommen in den kochenden Quellen des Yellowstone Nationalpark und ebenso im Eis von Gletschern der Antarktika vor. Das Leben einer für Biofilme typischen gemischten mikrobiellen Gemeinschaft ermöglicht den Mikroorganismen, ihre individuellen Fähigkeiten und Eigenschaften für das Überleben der Gruppe gemeinsam zu nutzen.

Bakterielle Biofilme tragen zu zahlreichen chronischen Entzündungsgeschehen bei und beeinträchtigen auch die Heilung von chronischen Wunden. Sie haben eine hohe Resistenz gegen eine Reihe von antimikrobiellen Substanzen und dem Immunsystem des Menschen. Diese Umstände erschweren die effektive Behandlung von Biofilm auf Wunden.

Die effektivste Methode Biofilm zu entfernen ist ein regelmäßiges chirurgisches Debridement sowie die Ultraschallassistierte Wundreinigung. Wenn keine der angeführten Debridement-Techniken durchgeführt wird, sind als Alternativen der Einsatz von Antiseptika oder Spüllösungen mit den Wirkstoffen Octenidin oder Polyhexanid geeignet. Um eine Rekontamination der Wunde zu verhindern und eine Biofilm-Neubildung zu vermeiden, sollte im Anschluss an das Debridement eine lokale antimikrobielle Behandlung erfolgen (z.B.: mit Honig oder Silber).

Aufgrund des Fehlens definierter Indikatoren und verfügbarer Labortests für den Nachweis von Biofilmen, ist es nicht möglich kategorisch festzulegen, wann eine Wunde tatsächlich biofilmfrei ist. Die eindeutigste klinische Indikation ist möglicherweise der fortschreitende Heilungsprozess in Verbindung mit einer verringerten Produktion an Exudat und Wundbelägen

7. LITERATURVERZEICHNIS

- ¹ Zitat (<http://www.pflegewiki.de/wiki/Homöostase>), 20.08.2013
- ² Zitat (<http://www.wasser-wissen.de>), 14.8.2013)
- ³ **Schülke & Mayer (Hg.) (2009)**. Antiseptik mit Octenidin. Vorbeugen. Schützen. Behandeln. Norderstedt. Westwerk
- ⁴ Zitat (http://www.vetion.de/lexikon/detail.cm?lex_id=1582), 15.08.2013
- ⁵ **J.W. Costerton u. Philip S. Stewart.** Bekämpfung bakterieller Biofilme. In: SPEKTRUM DER WISSENSCHAFT. 11/2001. S. 58 ff
- ⁶ **Dr. Norbert Hasenöhr (2011)**. Biofilm: Die Wurzel allen Übels. In: JATROS Infektiologie 2/2011. S. 8-10
- ⁷ **H.-D. Hoppe V.Gerber (2010)**. Beläge auf chronischen Wunden – Fibrin, Nekrosen, Biofilm. In: Medizin & Praxis 10/2010. S. 28-31
- ⁸ **Phillips PI, Wolcott Rd, Fletcher J, Schultz GS (2010)**. Biofilm einfach erklärt. In: Wounds International Band 1, Ausgabe 3, 05/2010. S. 1-6
- ⁹ **Phillips PI, Wolcott Rd, Fletcher J, Schultz GS (2010)**. Biofilm einfach erklärt. In: Wounds International Band 1, Ausgabe 3, 05/2010. S. 1-6
- ¹⁰ **o.A. (2010)**. Innenleben-Der Biofilm aus der Sicht eines Bakteriums. In: Wundmanagement 4 (1).2010. S. 23-24
- ¹¹ **Phillips PI, Wolcott Rd, Fletcher J, Schultz GS (2010)**. Biofilm einfach erklärt. In: Wounds International Band1, Ausgabe3, 05/2010. S. 1-6
- ¹² **Kathrin Burger (2012)**. Das Ende des Egoismus. In: Einsichten - Das Forschungsmagazin 2/2012. S 54
- ¹³ **KRECH T, TRABER J. (2010)**. Bakterien in chronischen Wunden. Die Grenzen zwischen bakterieller Besiedelung und Infektion sind fließend. In: ARS MEDICI 23/2010. S. 960-964
- ¹⁴ **o.A. (2010)**. Innenleben - Der Biofilm aus der Sicht eines Bakteriums. In: Wundmanagement 4 (1) 2010. S. 23-24
- ¹⁵ **J.W. Costerton, Philip S. Stewart (2001)**. Bekämpfung bakterieller Biofilme. In: SPEKTRUM DER WISSENSCHAFT Nov. 2001. S 58
- ¹⁶ **Z. Babadagi-Hardt, V. Gerber, H.-D. Hoppe, A. Schwarzkopf (2013)**. Bakterielle Biofilme Teil 2. Besiedelung des Menschen. Wund Management 01/2013. S. 18-21
- ¹⁷ **Steven L. Percival, Philip G. Bowler (2004)**. Biofilm und seine potentielle Rolle in der Wundheilung. In: WOUNDS 16 (7) 2004. S. 234-240

- ¹⁸ **Phillips PI, Wolcott Rd, Fletcher J, Schultz GS (2010)**. Biofilm einfach erklärt. In: Wounds International Band1, Ausgabe3, 05/2010. S. 1-6
- ¹⁹ **o.A. (2011)**. Wundzentrum Hamburg. Information zur Behandlung von Biofilmen Version 1. 15.09.2011
- ²⁰ Internationaler Konsens (2012). Adäquate Anwendung von Silberverbänden bei Wunden. Konsens einer Expertengruppe. London. In: Wounds International 2012
- ²¹ **o.A. (2011)**. Wundzentrum Hamburg. Information zur Behandlung von Biofilmen Version 1. 15.09.2011
- ²² **H.-D. Hoppe, V. Gerber (2010)**. Beläge auf chronischen Wunden - Fibrin, Nekrosen, Biofilm, In: Medizin & Praxis 10/2010. S. 28-31
- ²³ **o.A. (2011)**. Wundzentrum Hamburg. Information zur Behandlung von Biofilmen Version 1. 15.09.2011
- ²⁴ **H.-D. Hoppe, V. Gerber (2010)**. Beläge auf chronischen Wunden - Fibrin, Nekrosen, Biofilm. In: Medizin & Praxis 10/2010. S. 28-31
- ²⁵ **Protz K., Sellmer W. (2012)**. Aspekte der Wundspülung. In: MEDIZIN&PRAXIS 07/2012. S. 65-71
- ²⁶ **SCHÜLKE & MAYER (Hg.) (2011)**. octenilin® Wundspüllösung. Die schnelle und effektive Lösung zur Wundreinigung. Norderstedt. Westwerk
- ²⁷ **Schülke & Mayer (Hg.) (2009)**. octenilin® Wundgel, Befeuchtung, Reinigung und Schutz in Einem. Norderstedt. Westwerk
- ²⁸ **B. Roth, D. Holtz, D. Mayer, S. Läubli, J. Traber** . Konsensus-Empfehlungen zum Einsatz polyhexanidhaltiger Produkte in der Behandlung von Wunden. In: PRAXIS Mini-Review 2011.100 (9). S. 531-537
- ²⁹ **Anke Bültmann, Veronika Gerber, Kerstin Protz (2009)**. Octenisept® Wundkompendium. Octenisept® in der antiseptischen Wundbehandlung. **Schülke & Mayr (Hg.)**. Norderstedt. Westwerk
- ³⁰ **Phillips PI, Wolcott Rd, Fletcher J, Schultz GS (2010)**. Biofilm einfach erklärt. In: Wounds International Band1, Ausgabe3, 05/2010. S. 1-6