

19. PD-Workshop in Berlin am 04.12.2009

# Biofilm – klinische Bedeutung und Behandlungsansätze

Marcus Hiß

Abteilung für Nieren- und Hochdruckkrankheiten



Medizinische Hochschule  
Hannover



Medizinische Hochschule  
Hannover

# Verbesserung der PD-Qualität über 17 Jahre

Retrospektive Analyse von prospektiven SC-Registerdaten  
bei 382 PD-Patienten

1992-'95 randomisiert kontrolliert

Mupirocin Salbe (tgl.) vs Rifampin oral (cycl. 12 Wo)

1996-'99 intensive Unterweisung in der Cycloer-Therapie

2000-'04 randomisiert kontrolliert

Mupirocin vs Gentamycin Salbe (tgl.)

seit '05 Gentamycin Salbe (Routine)

seit '06 regelmäßige Wiederholung des PD-Trainings

Qamar M et al. Adv Perit Dial 2009

# Reduktion der Peritonitsrate über 17 Jahre

0.50 Peritonitiden / Jahr in 1990-1991

0.25 Peritonitiden / Jahr in 2005-2007

$p < 0.004$

0.72 Exit site Infekte / Jahr

0.10 Exit site Infekte / Jahr

$p < 0.0001$

Keine signifikante Veränderung

- im jährlichen Wechsel zur HD

14 % (12-17 %)

- in der jährlichen Mortalitätsrate

115-171 / 1000 y

Qamar M et al. Adv Perit Dial 2009

# Faktoren für technisches Überleben an der PD

Retrospektive Observations-SC-Kohortenstudie 01/95-12/05

322 inzidente PD-Patienten

Mortalität 113 (35.1%) in 7706 Patientenmonaten

Mittlere Überlebenszeit 46.4 Monate

Mittleres technisches Überleben 41.2 Monate

Haupttodesursache waren PD-assoziierte Infektionen

Alter und Albumin waren die stärksten Prädiktoren für Tod

Pongskul C et al. J Med Assoc Thai 2006

# Peritonitis

# Keimspektrum

61-67 % grampositiv

20-28 % gramnegativ

<2.5 % Pilze

<2.5 % Anaerobier

80 % Ansprechen auf Antibiotika

10-18 % Katheterentfernung und Verfahrenswechsel

Exit-site Infekte, schlechte Technik und antibiotisch nicht adäquat therapierten

Biofilm als Ursache für persistierende oder rezidivierende Peritonitiden

Troidle L et al. Ann Clin Microbiol Antimicrob  
2006

Mujais S et al. Kidney Int Suppl 2006

# Gründe für die PD-Katheterentfernung

63 / 473 CAPD-Patienten (1995-2007)

n = 30 (47 %) peritoneale Infektionen

n = 11 (17 %) CAPD-Versagen

n = 8 (13 %) Karzinome im GI-Trakt

n = 6 (10 %) Perforation im GI-Trakt

n = 2 ( 3 %) PD-Katheterdefekt

n = 3 ( 5 %) Transplantation

n = 3 ( 5 %) Wechsel zur Heim-HD

Nodaira Y et al. Adv Perit Dial 2008

# Biofilm

Die mikroskopische Untersuchung aller PD-Katheter fand

- einen Biofilm bei allen PD-Kathetern,  
die wegen Peritonitis entfernt wurden
- keinen Biofilm bei allen PD-Kathetern,  
die aus anderen Gründen entfernt wurden

Trotz antibiotischer Therapie ist die

Peritonitis die wichtigste Ursache für einen PD-Abbruch

Der Biofilm am PD-Katheter könnte ein relevanter Grund sein.

Nodaira Y et al. Adv Perit Dial 2008

Herr J.C. \*62

177cm, 85kg

02/00 TNI (PD) bei diabetischer Nephropathie (Diab.mell. Typ I, ED '77)

08/00 1. Peritonitis nach Diarrhoen (Kultur negativ)

09/00 2. Peritonitis Katheterdiskonnektion (Kultur negativ)

10/00 3. Peritonitis (Koag. neg. Staph.)

PD-Katheterexplantation, HD-Beginn

Peritonitis-Therapie: jeweils Vanco. (3 Wo) + Genta. (3-5 Tg) i.p.

ab 2. Periontis: Urokinase-Lock 10-25.000 E / 10ml NaCl

klares Dialysat und Dialysat-Leuko <100/ $\mu$ l nach 3/3/5 Tagen

12/00 kombinierte Nieren-Pankreas-Tx

**Herr C. - PD-Versager wegen eines Biofilms?**

# Biofilm

# Entstehung



# Biofilm

# Entstehung

## Induktionsphase:

- Anlagerung von organischen Substanzen (am PD-Katheter)
- Mikroorganismen heften sich an
- Um die Mikroorganismen bilden sich Biopolymere aus der Schleimhülle
- Diese Matrix (Polysaccharide, Proteine, Lipide, Nucleinsäuren) enthält Nährstoffe

## Akkumulationsphase:

- Keimwachstum, zunächst flächig, dann mehrschichtig und schließlich in heterogenen, dreidimensionalen Strukturen
- Substrat- und O<sub>2</sub>-Mangel in tiefen Schichten, mechanische Reize und Größenzunahme führen zur Instabilität

## Dispersionsphase

# Biofilm

# Stabilität

- Hydrogelbildung durch die von den Mikroorganismen ausgeschiedenen extrazellulären Polymere
- Matrix bietet mechanische Stabilität (verhindert Abschwemmen von Enzymen)
- Strukturelle Veränderungen der Mikroorganismen (Flagellenverlust)
- „Quorum sensing“ interzelluläre Kommunikation durch Gentransfer mittels Signalmolekülen (An- und Abschalten)
- Entstehung einer flexible Lebensform (multizellulären Organismen ähnlich)

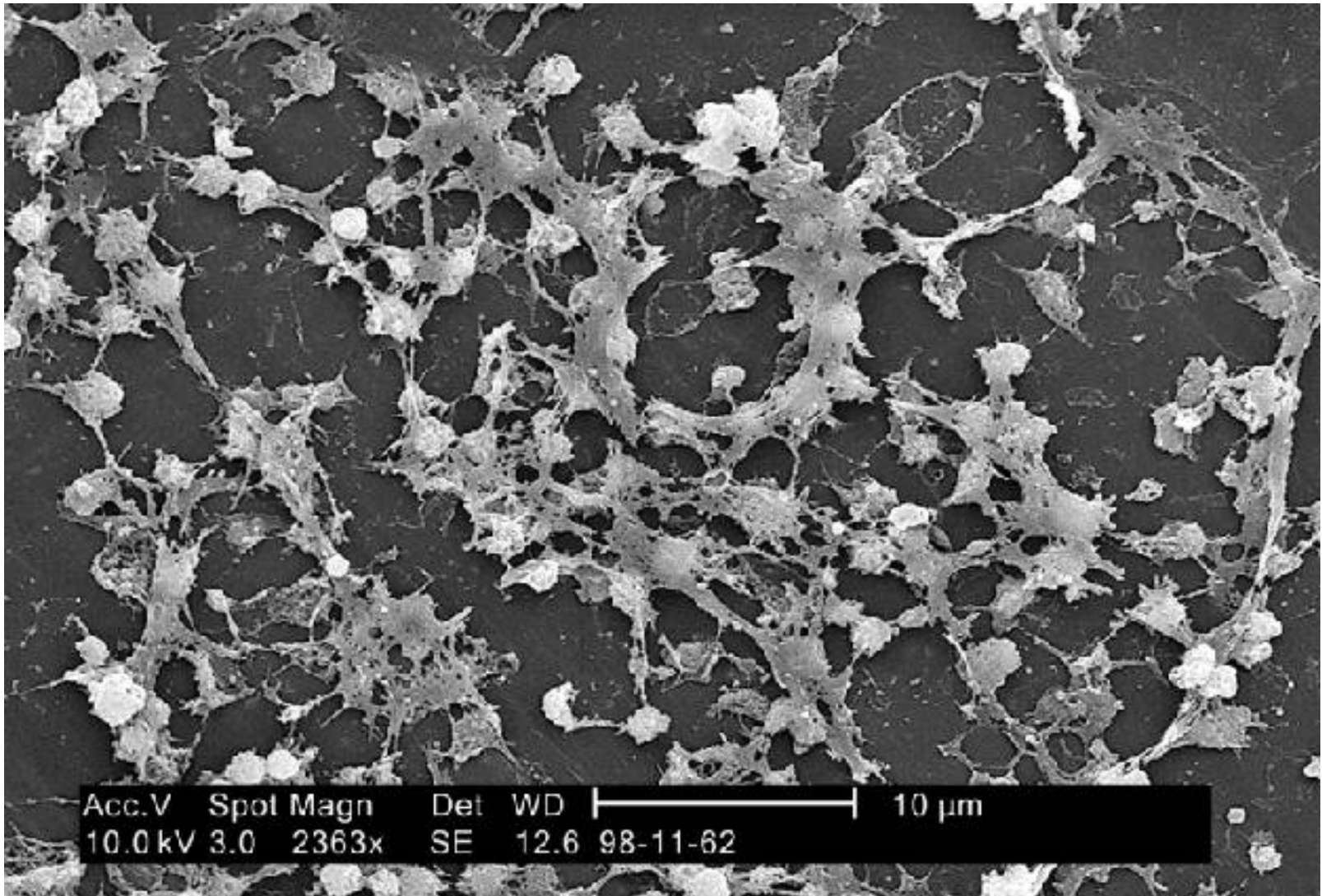
Lewis K. Antimicrobiological agents and chemotherapy 2001

# Biofilm                    antibiotische „Resistenz“

- Schutz durch hohe Diversität
- erschwerte Penetration von Bakteriziden
- ungünstige Bedingungen für Wirkstoffe
- langsames Bakterienwachstum, reduzierter Stoffwechsel
- selbst bei großflächigem Bakteriensterben überleben  
„Persister“ mit idealen Bedingungen für erneutes Wachstum

Lewis K. Antimicrobiological agents and chemotherapy 2001

# Biofilm *Staphylokokkus aureus*, Katheteroberfläche



# Peritonitis

„Schleimbildner“

Grampositive Kokken:

- Staphylokokken (Koagulase positive und negative), Streptokokken, Enterokokken

Grampositive Stäbchen:

- Corynebakterien

Gramnegative Stäbchen

- Enterobakterien (Escherichia, Enterobacter, Klebsiella, Proteus)
- Pseudomonas aeruginosa

Anaerobier (Bacteroides)

Hefen (Candida)

# Peritonitis

## Koagulase negative Staphylokokken

Koagulase negative Staphylokokken 10-40%

Mujai S et al. Kidney Int Suppl 2006

Szeto CC et al. Clin J Am Soc Nephrol 2008

Goffin E et al. Perit Dial Int 2004

# Koagulase negative Staphylokokken

232 (11.4%) von 2037 Peritonitis-Episoden ('95-'06) in 155 Patienten

95.3% primäres Ansprechen auf Antibiotika

71.1% komplette Ausheilung

33 (14.2%) Rezidiv-Peritonitis < 4 Wo mit gleichem Keim

29 (12.5%) erneute Peritonitis > 4 Wo mit gleichem Keim

Rezidiv-Peritonitis und erneute Peritonitis hatten eine schlechtere Ausheilungsrate.

Vancomycin oder Cefazolin über 3 Wochen i.p. war erfolgreicher als eine Therapie über 2 Wochen

Szeto CC et al. Clin J Am Soc Nephrol 2008

# Risiko einer erneuten Peritonitis mit dem selben Erreger

n = 1605 mit Peritonitiden (1996–2005)

n = 558 (35 %) mit > 1 Peritonitis

n = 179 (32 %) Peritonits mit dem selben Erreger

n = 129 (72 %) Nachweis von Koag. neg. Staphylokokken (KoNS)

Das Risiko innerhalb eines Jahres nach KoNS-Peritonitis eine erneute KoNS-Peritonitis zu erleiden ist deutlich höher als nach einem anderen Erreger. OR 2.1, 95% CI 1.5-2.8,  $p < 0.0001$

Mögliche Gründe:            technischer Fehler (manuelle Kontamination)  
   Biofilm am PD-Katheter durch KoNS

Nessim S et al. ASN 2009

# Peritonitis

## therapierefraktär und Rezidiv

gilt als therapierefraktär,

wenn das Dialysat nicht spätestens 5 Tage nach Beginn einer adäquaten antibiotischen Therapie aufgeklärt ist

gilt als Rezidiv,

wenn eine Peritonitis innerhalb von 4 Wochen nach Abschluss der antibiotischen Therapie erneut auftritt (selber Keim oder steril)

Piraino B et al. ISPD. Perit Dial Int 2005

# Urokinase (i.p.) + Rifampicin (oral)

bei persistierender Koag. neg. Staphylokokken (KoNS)-Peritonitis

33 / 26 / 11 (33%) (retrospektiv, 1/98 -12/07)  
KoNS-Peritonitiden / Patienten / persistierender KoNS-Nachweis

>48h persistierendem Nachweis von KoNS nach Peritonitis,  
initial Vancomycin i.v. + Ciprofloxacin oral

<100 Leuko im Dialysat nach 8 d (4-17), trotzdem noch  
KoNS nachweisbar nach weiteren 6 d (0-16), d.h.  
13.9 d (5-24d) nach Peritonitisiadiagnose

Urokinase i.p. nach 18.9 d (11-30) nach Peritonitisbeginn

7/11 (64%) Pat. mit Sanierung der Peritonitis ohne Katheterverlust

Demoulin N. et al. Perit Dial Int 2009

# Urokinase

# Anwendung

Urokinase, 100.000 IU / 5ml NaCl 0.9% als  
Katheterblockung für 2h, dann i.p. injiziert  
Dialysatablauf innerhalb der nächsten Stunde

Rifampicin 1x 600mg oral für 3 Wochen

Vancomycin wurde über 38 (21-60) Tage verabreicht

4 Versager mit Katheterverlust:

1x Pseudomonas Exit-site-Infekt

1x UF-Versagen

1x persistierend KoNS im Dialysat

1x Rifa-NW (tox. epid. Nekrolyse) und Relaps

Demoulin N. et al. Perit Dial Int 2009

# Konsequenz

# bei KoNS-Peritonitis

erneute Dialysatkultur

3-6 Tage nach antibiotischer Therapie, trotz klarem Dialysat

Rifampicin- und Urokinase-Therapie bei pos Kultur, ab Tag 8

Demoulin N. et al. Perit Dial Int 2009

# Rifampicin

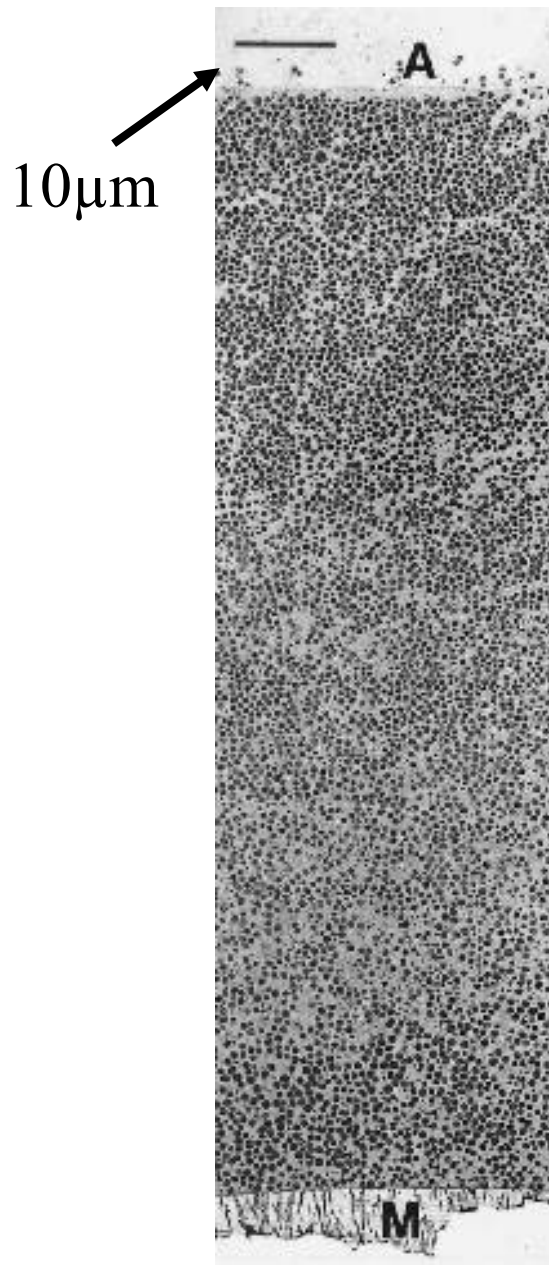
# knackt Biofilm?

Rifampicin (Transkriptionsinhibitor) penetriert den Biofilm

Villain-Guillot P et al. Antimicrob Agents Chemother 2007  
Peck KR et al. Chemotherapy 2003

Rifampicin und Vancomycin wirken synergistisch,  
deren Kombination reduziert das Risiko für Resistenzen

Peck KR et al. Chemotherapy 2003  
Gagnon RF et al. ASAIO Trans 1991  
Gagnon RF et al. Adv Perit Dial 1994

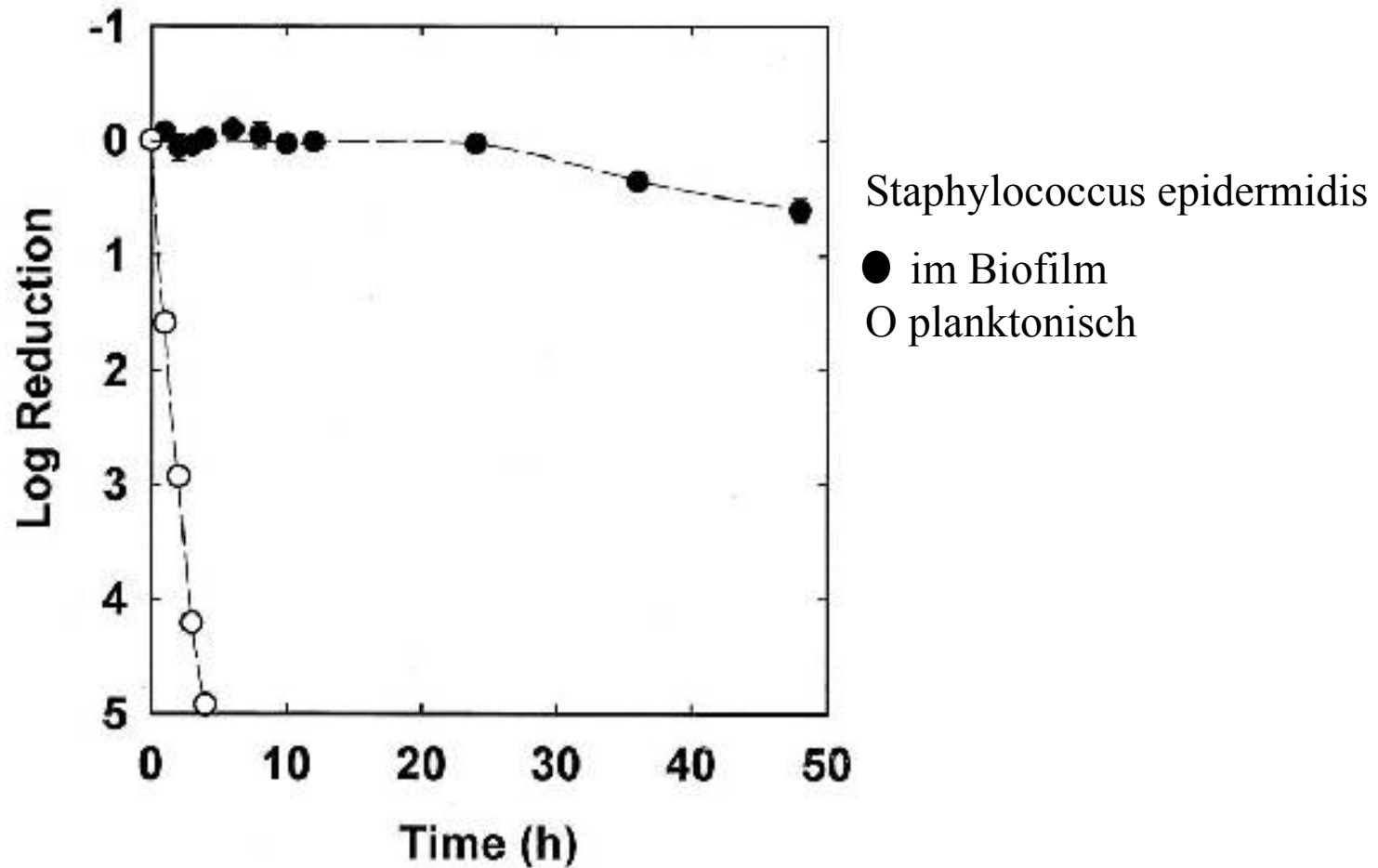


# Staphylococcus epidermidis Biofilm ex vivo

12 h nach Rifampicin-Gabe ( $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ )  
sind 90 % der Rifampicin – Konzentration  
an der Biofilmbasis erreicht

Zheng Z et al. Antimicrob Agents Chemother 2002

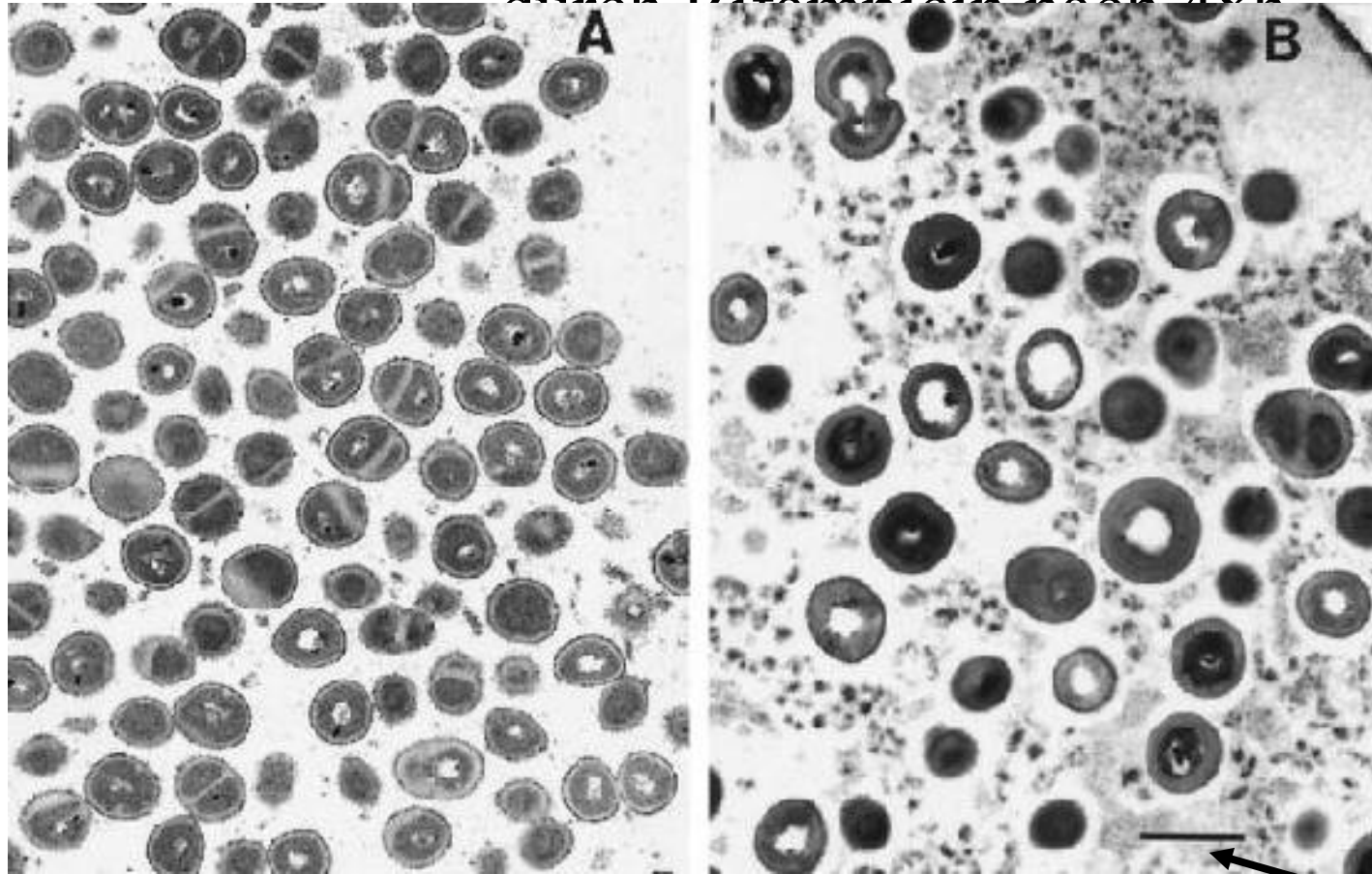
# Suszeptibilität von *Staphylococcus epidermidis* gegenüber Rifampicin im Biofilm



Zheng Z et al. Antimicrob Agents Chemother 2002

# Staphylococcus epidermidis an der Biofilmoberfläche

durch Rifampicin noch 49%



ohne

Rifampicin

mit

1 μm

Reduktion  
der

- Zellzahl  $p < 0.001$
- Zellteilungsrate  
 $p = 0.002$
- Zellwanddicke  
 $p < 0.001$

Zheng Z et al. Antimicrob Agents Chemother 2002

# Urokinase

Urokinase (Pasminogenaktivator) löst den Biofilm am PD-Katheter und verbessert die antibiotische Penetration.

Urokinase-Einsatz ist bei persistierender und rekurrierender Peritonitis langjährig etabliert.

Innes A et al. Nephrol Dial T Transplant 1994

Pickering SJ et al Nephrol Dial Transplant 1989

# Urokinase i.p. bei resistenter Peritonitis ?

88 CAPD-Patienten, die resistent gegenüber der primären empirischen Antibiotika (AB) waren, erhielten eine antibiotische Therapie nach Antibiogramm plus prospektiv randomisiert 60.000 IU Urokinase oder Plazebo

	Urokinase	Plazebo	
erfolgreiche AB	61.4 %	50 %	} n.s.
Relapsrate	9.1 %	13.6 %	
PD-Katheterexpl.	22.7 %	29.5 %	
Mortalität	6.8 %	6.8 %	

Tong MK et al. J Nephrol 2005

# Urokinase i.p. bei resistenter Peritonitis ?

n = 13 (14.8%)

*Pseudomonas aeruginosa*

n = 63 (71.6%)

non-*Pseudomonas aeruginosa*

n = 12 (13.6%)

kein Keimnachweis

Schlussfolgerung:

Urokinase hat als adjuvante Therapie bei der Behandlung von CAPD-assoziierten Peritonitiden, die auf eine empirische antibiotische Therapie resistent sind, keinen positiven Einfluss.

Tong MK et al. J Nephrol 2005

# PD-Katheter „Lock-Therapie“

Zwei Fälle mit therapie-refraktärer gramnegative Peritonitis:  
durch

*Acinetobacter baumannii* und *Stenotrophomonas maltophilia*  
behandelt mit

systemischer antibiotischer Therapie

plus

Blockung des PD-Katheters nach jedem Wechsel mit:

Ceftazidim      6 ml (10 mg/ml)      +

Heparin            3 ml (2.500 IE/ml) +

NaCl 0.9 %      3 ml

über 10-18 Tage

YK Lee et al. ASN 2009

# Staphaphylococcus aureus Peritonitis und antibiotischen Sensitivität mit und ohne Biofilm

MIC and MBEC for Clinical Isolates of MSSA in 21 patients

	Sensitive by MIC	Sensitive by MBEC	P-Value
Cefazolin	20	1	< 0.001
Ciprofloxacin	21	4	<0.001
Clindamycin	21	1	<0.001
Gentamicin	21	17	>0.05
Rifampicin	21	6	<0.001
Vancomycin	21	3	<0.001
Vanco:Rif	21	10	<0.001
Oxacillin	21	1	<0.001

MIC = minimale Hemmkonzentration

MBEC = minimale Biofilm Eradikationskonzentration

Girard LP et al. ASN 2009

# Vermeidung von Biofilmen ?

Mechanische Zerstörung

Applikation von:

- Bakteriophagen
- antimikrobielle Peptide
- Enzyme

Oberflächenmodifikation der Katheter durch:

- Hydrophilisierung
- Nanostrukturierung (Lotuseffekt)
- antibiotische / antiseptische / bakterielle Beschichtung
- Vermeidung rauer Oberflächen
- Einbringen von Metallen

Frau G.K. \*60

168cm, 65kg

01/95	TNI (PD) bei HUS (EM 01/89) PD-Katheter-Explantation, Bauchdeckenhämatom	
03/95	PD-Katheterneuanlage (2) rezidivierend Exit-site Infekte	
06/97	1. Peritonitis	(Staph. aureus)
08/97	2. Peritonitis PD-Katheterwechsel (3)	(Staph. aureus)
09/01	3. Peritonitis	(Koag. neg. Staph.)
10/01	4. Peritonitis PD-Katheterwechsel (4)	(Koag. neg. Staph.)
03/02	5. Peritonitis PD-Katheterexplantation, HD-Beginn	(Enterokokkus faecalis)
09/02	PD-Katheterneuanlage (5)	
05/04	6. Peritonitis	(Bacillus spp.)
06/04	7. Peritonitis	(Escherichia coli)

# Zusammenfassung

# Biofilm

- Peritonitiden und Exit-site-Infekte konnten erheblich reduziert werden
- PD-assoziiert Infektionen sind ein Hauptgrund für Mortalität an PD
- Infektionen sind der häufigste Grund für PD-Katheterentfernungen
- Der Biofilm am Katheter ist verantwortlich für persistierende und Rezidiv-Peritonitiden
- Empfehlungen zum Umgang mit Biofilmen können nicht gegeben werden
- Vancomycin, Gentamycin, Rifampicin. und Urokinase könnten erfolgreich  
bei der Elimination von Biofilmen sein
- Pharmakokinetische Daten zur Dosierung von Antibiotika bei PD fehlen,  
insbesondere zur Entfernung eines Biofilms
- Technische Verbesserungen am PD-Katheter erscheinen möglich

19. PD- Workshop in Berlin am 04.12.2009

# Biofilm – klinische Bedeutung und Behandlungsansätze

Marcus Hiß

Abteilung für Nieren- und Hochdruckkrankheiten



Medizinische Hochschule  
Hannover



Medizinische Hochschule  
Hannover