



THEMA:

Die Lösung gegen Biofilm

Along with you

Allgemeines

Otitiden beim Hund gehören zu den Routinefällen in der Kleintierpraxis – Schätzungen zufolge werden bis zu 20 Prozent der Hunde entweder wegen Otitis vorgestellt oder diese wird als Zufallsbefund bei der klinischen Untersuchung diagnostiziert. Die Therapie einer erstmals auftretenden Otitis externa stellt in der Regel kein Problem dar. Schwierig wird es, wenn es zu Rezidiven oder gar zu chronischen Verläufen kommt und die Erkrankung trotz scheinbar korrekter Behandlung nicht dauerhaft in den Griff zu bekommen ist.

Seit vielen Jahren gilt für die Abklärung und die Behandlung einer Otitis beim Hund die sogenannte 3P-Regel (s. Praxistipp): Jede Otitis sollte auf Prädisponierende Faktoren, Primärerkrankungen und Perpetuierende Faktoren geprüft und all diese Faktoren berücksichtigt und falls möglich korrigiert werden, um den gewünschten Therapieerfolg zu erzielen. Je früher eine derartige diagnostische Aufarbeitung erfolgt, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, chronische oder chronisch-rezidivierende Otitiden zu vermeiden.



Praxistipp: Die 3P

„Nur“ die Therapie einer Otitis reicht nicht aus. Erst die Berücksichtigung all dieser Faktoren ermöglicht eine effektive Behandlung von Hunden mit Otitis.

<p>Prädisponierende Faktoren (verbessern die Lebensbedingungen für opportunistische oder pathogene Keime im äußeren Gehörgang)</p>	<p>Beispiele</p> <ul style="list-style-type: none"> – englumige bzw. stenotische Gehörgänge (z. B. bei Shar-Pei, DSH) – übermäßiges Haarwachstum im Gehörgang (manche Terrierrassen, Pudel) – Swimmer´s Ear (Mazeration des Gehörgangs z. B. bei Labrador Retrievern und anderen Hunden, die gerne schwimmen und tauchen) – Fehler bei Ohrreinigung und -pflege – Neoplasie
<p>Primärursachen (können direkt eine Entzündung im äußeren Gehörgang auslösen)</p>	<p>Beispiele</p> <ul style="list-style-type: none"> – Allergien (v. a. Futterunverträglichkeit/-allergie, atopische Dermatitis) – Parasitosen (Demodikose, Otokariasis) – Endokrinopathien (v. a. Hypothyreose) – Keratinisierungsstörungen – immunvermittelte/autoimmune Erkrankungen
<p>Perpetuierende Faktoren (unterhalten und verschlimmern den Entzündungsprozess und verhindern somit, dass die Otitis abheilt):</p>	<p>Beispiele</p> <ul style="list-style-type: none"> – Infektionen mit Bakterien und/oder Malassezien, v. a. mit resistenten (MRSP, kleine, oft multiresistente Stäbchen) und/oder Biofilm-produzierenden Keimen – proliferative Veränderungen im Gehörgang, Kalzifikation – Otitis media mit Keimreservoir im Mittelohr, von dem immer wieder Rezidive ausgehen.

Doch auch wenn die 3P-Regel beherzigt wird, kommt es immer häufiger vor, dass sich insbesondere bakterielle Infektionen als therapieresistent erweisen.

Gründe für die Unwirksamkeit antibakterieller Therapien

Auch bei Otitiden stellen **Resistenzentwicklungen** gegenüber zahlreichen antimikrobiellen Substanzen eine zunehmende Herausforderung dar. Zu nennen sind vor allem natürlich die seit Jahren bekannten Methicillin-resistenten oder auch multiresistenten Bakterien, deren Resistenzlage un schwer die Unwirksamkeit von zahlreichen gebräuchlichen Antibiotika erklärt.

Doch Bakterien haben weitere, weniger bekannte Techniken entwickelt, um sich der Wirkung von Antibiotika zu entziehen. Eine der wichtigsten ist die Produktion eines **Biofilms**.

Dieser ist in der Humanmedizin bereits seit Jahrzehnten bekannt und gefürchtet, während in der Veterinärmedizin erst seit einigen Jahren vermehrt Biofilm-produzierende Bakterien beschrieben werden, vor allem bei Otitiden, aber teilweise auch bei Wunden oder anderen Infektionen. Gerade bei Otitiden des Hundes sind sie von erheblicher Bedeutung, während sie bei Katzen nach derzeitigem Wissensstand keine wesentliche Rolle spielen.

Biofilm-produzierende Keime sind vor allem deswegen so schwierig zu therapieren, weil sie dank des Biofilms sowohl vor zahlreichen Medikamenten, als auch vor widrigen Umweltbedingungen und natürlich dem Angriff des Immunsystems geschützt sind.



Abb. 1: Otitis externa et media. Verdächtig für *Pseudomonas spp* die ulzerativen Veränderungen an der Pinna, hinweisend auf Biofilm-Bildung das bräunlich-klebrige Sekret auch in der Umgebung des Ohres

Auch bei der **Entstehung von Resistenzen** spielt die Biofilm-Produktion eine Rolle, denn dieser bewirkt häufig, dass nur geringe Konzentrationen eines lokal applizierten Antibiotikums die Bakterien tatsächlich erreichen, was nicht zu ihrem Abtöten führt. So wurde beispielsweise bei *Pseudomonas aeruginosa*-Isolaten aus Proben von Hunden mit Otitis



Abb. 2: Ohrtupfer nach Probenentnahme des Hundes von Abb. 1 – bereits makroskopisch zu sehen das bräunliche, zäh-klebrige Material

nachgewiesen, dass bei Biofilm-produzierenden Keimen signifikant höhere Antibiotika-Konzentrationen erforderlich waren als bei ihren planktonischen „Gegenstücken“, um die minimale Hemmstoffkonzentration (MIC) und die minimale bakterizide Konzentration (MBC) zu erreichen, was bei Erhöhung der Konzentrationen durch Dosiserhöhung des Antibiotikums dann möglicherweise zu erhöhter in vivo-Toxizität führt.

(Roy R¹, Tiwari M¹, Donelli G², Tiwari V¹,. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence*. 2018 Jan 1;9(1):522-554. doi: 10.1080/21505594.2017.1313372; Charlotte C. Pye, Anthony A. Yu, J. Scott Weese, Evaluation of biofilm production by *Pseudomonas aeruginosa* from canine ears and the impact of biofilm on antimicrobial susceptibility *in vitro*. *Veterinary Dermatology*. 2013 Volume 24, Issue 4 <https://doi.org/10.1111/vde.12040>).

Fazit: Voraussetzung einer effektiven Therapie ist die Zerstörung und Entfernung eines Biofilms, falls vorhanden.

Diagnose

Biofilm-produzierende Keime sind wie bereits erwähnt bei Otitiden verhältnismäßig häufig, werden aber oft nicht erkannt und dementsprechend nicht therapeutisch berücksichtigt. **Anamnestisch** handelt es sich oft um rezidivierende oder chronische, nicht selten Therapie-refraktäre Otitiden. Ist die diagnostische Aufarbeitung der Otitis korrekt erfolgt, die

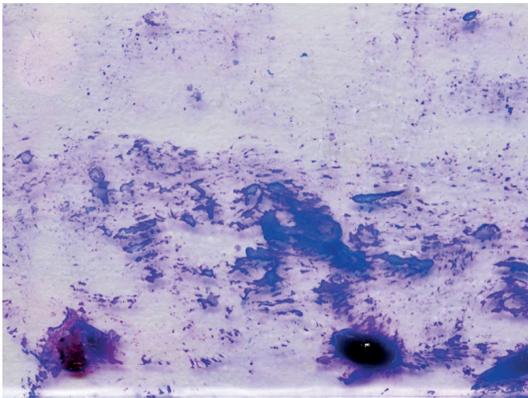


Abb. 3: gefärbter Ohrabstrich des Hundes von Abb. 1 – dicke, intensiver gefärbte Bereiche trotz gleicher Ausrolltechnik können auf Biofilmbildung hinweisen

Primärerkrankung (atopische Dermatitis, Hypothyreose etc.) diagnostiziert und therapiert, der Gehörgang sorgfältig gereinigt und sind die antibakteriellen Wirkstoffe korrekt ausgewählt und die antibakterielle Therapie adäquat durchgeführt, und der Therapieerfolg bleibt dennoch aus, sollte unbedingt an Biofilm-produzierende Keime als perpetuierende

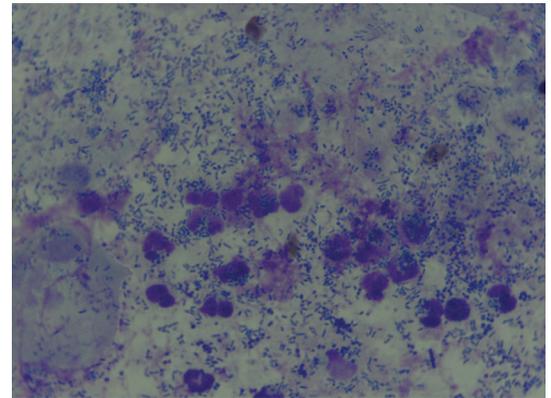


Abb. 4: In der Bildmitte Kokken und kleine Stäbchen und Entzündungszellen mit Phagozytose, links unten Keime unter schlierigem Hintergrund ohne Entzündungszellen (verdächtig für Biofilm-produzierende Stämme)

Faktoren gedacht werden. In der Regel lässt sich dann bereits bei der **klinischen, otoskopischen und zytologischen Untersuchung** der Verdacht auf Biofilm-produzierende Bakterien erhärten: typisch ist schleimiges, klebriges, meist bräunliches oder schwärzliches Material im Gehörgang oder sogar um das Ohr herum (Abb.1, Abb. 7). Entnimmt man einen

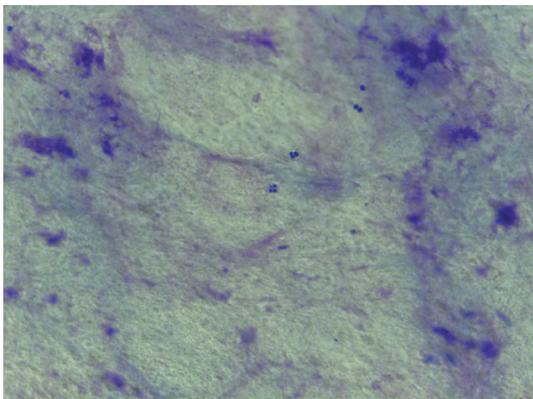


Abb. 5: Biofilm-produzierende Staphylokokken und schlieriges Material, keine Entzündungszellen

Ohrabstrich und rollt ihn auf dem Objektträger aus, sieht man trotz korrekter Durchführung bereits unterschiedliche Schichtdicken auf dem Objektträger, die sich auch in der Aufnahme des Farbstoffes unterscheiden können (Abb. 2 und 3). Bei der zytologischen Untersuchung des gefärbten Ausstriches ist es oft schwierig, Bakterien, Hintergrund und Entzündungszellen in einer Ebene scharf zu stellen – auch hier fallen die unterschiedlichen Schichtdicken des Präparats auf, zudem sieht man schlieriges Material, das Bakterien und Entzündungszellen maskieren kann und in dem sich meist zahlreiche Bakterien, aber nur wenige Entzündungszellen finden (Abb. 4–6). Bei der Verdachtsdiagnose Biofilm-bildende Keime sollte noch eine entsprechende kulturelle Untersuchung eingeleitet und der Verdacht auf Biofilm-Produktion unbedingt im Untersuchungsantrag vermerkt werden, doch können die Resultate auch falsch-negativ sein. Im Zweifelsfall sollte eine Therapie eingeleitet werden, die den Biofilm zerstört und den antibakteriell wirkenden Substanzen ermöglicht, die Bakterien tatsächlich zu erreichen und abzutöten.

Behandlung

Die physikalische Zerstörung des Biofilms geschieht mit Sekretolytika, am gebräuchlichsten ist die Anwendung von **N-Acetylcystein (NAC)**. Es wirkt mukolytisch (Zerstörung der extrazellulären Polysaccharid-Matrix des Biofilms), zusätzlich auch antimikrobiell gegen zahlreiche bei Otitiden häufig isolierte Erreger (May ER, Conklin KA, Bemis BA, 2016). Die systemische Anwendung von Acetylcys-

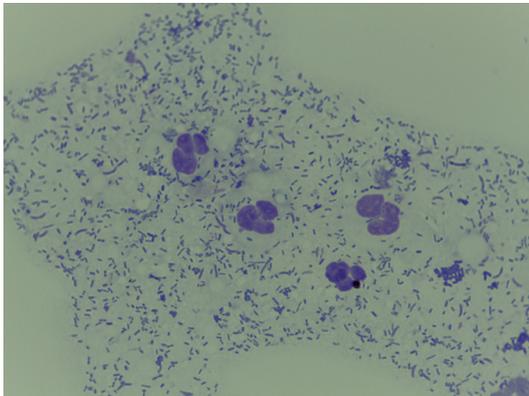


Abb. 6: Zum Vergleich Abstrich einer Otitis media mit Kokken und kleinen Stäbchen und phagozytierenden Neutrophilen, keine Biofilm-Produktion

tein bei Problemen mit Biofilm-Produzenten ist insbesondere bei Otitis media seit Jahren gebräuchlich (off label); seit einiger Zeit wird auch die topische Anwendung (gleichfalls off label) im Gehörgang empfohlen, die die Verflüssigung und das Absaugen des Biofilms vor der Anwendung von antimikrobiell wirksamen Substanzen erlaubt.

Auch **TrisEDTA** (Tromethamine (TRIS), Edetate Disodium Dihydrate (EDTA)), ist nicht nur ein Ohrreiniger, es wirkt synergistisch mit NAC und unterstützt die Zerstörung von Biofilm zusätzlich zu seiner bekannten physikalischen Schädigung der bakteriellen Zellwände, steigert somit also zusätzlich die Wirksamkeit der antimikrobiellen Substanzen.

Die **topische Anwendung einer Kombination von NAC und TrisEDTA** bei Otitiden mit Biofilm-Produktion ist also ideal. Diese gestaltete sich bis vor kurzem etwas umständlich, da sie sequentiell erfolgen musste. Gebräuchlich ist beispielsweise die von Griffin empfohlene sequentielle off-label-The-

rapie bei Biofilm-produzierenden Keimen in einer Otitis (Griffin CE, Diagnosis and management of chronic otitis externa and media with multiresistent bacteria, 18. Jahrestagung der DGVD 12.–14.5.2017, S. 113–115), bei der erst Acetylcystein 1 % in den äußeren Gehörgang bzw. das Mittelohr eingebracht und nach 3–5 Minuten wieder ausgespült wird, ehe Ohrreiniger wie Essigsäure oder Borsäure bzw. TrisEDTA mit Chlorhexidin 0,15 % angewendet und nach einer Einwirkzeit von 2–5 Minuten ebenfalls ausgespült werden. Zum Schluss werden die topischen antimikrobiellen Wirkstoffe appliziert.

Mittlerweile ist es gelungen, **TrisEDTA** und **Natrium-Acetylcystein (NAC) als TrisNAC®** in einer stabilen und gebrauchsfertigen, für den Hund und die Katze zugelassenen Kombination zu vereinen. Dies erleichtert eine effektive Behandlung von Biofilm-produzierenden Bakterien ungemein und fördert auch die Compliance des Besitzers, da die Behandlung zuhause fortgeführt werden kann. Das Präparat wird zunächst täglich angewendet und

sollte vom Besitzer zuhause alle 2–3 Tage wiederholt werden, ehe etwa 1,5 Stunden später die ausgewählten antibakteriellen topischen Präparate angewendet werden. Klinische und zytologische Kontrollen sollten im Abstand von 1–2 Wochen erfolgen – und natürlich die **3P**-Regel nicht vergessen werden.



Abb. 7: Chronisch-proliferative Otitis externa et media mit Biofilm-produzierenden *Pseudomonas spp* und dem typischen bräunlich-klebrigen Material im Gehörgang und um das Ohr herum

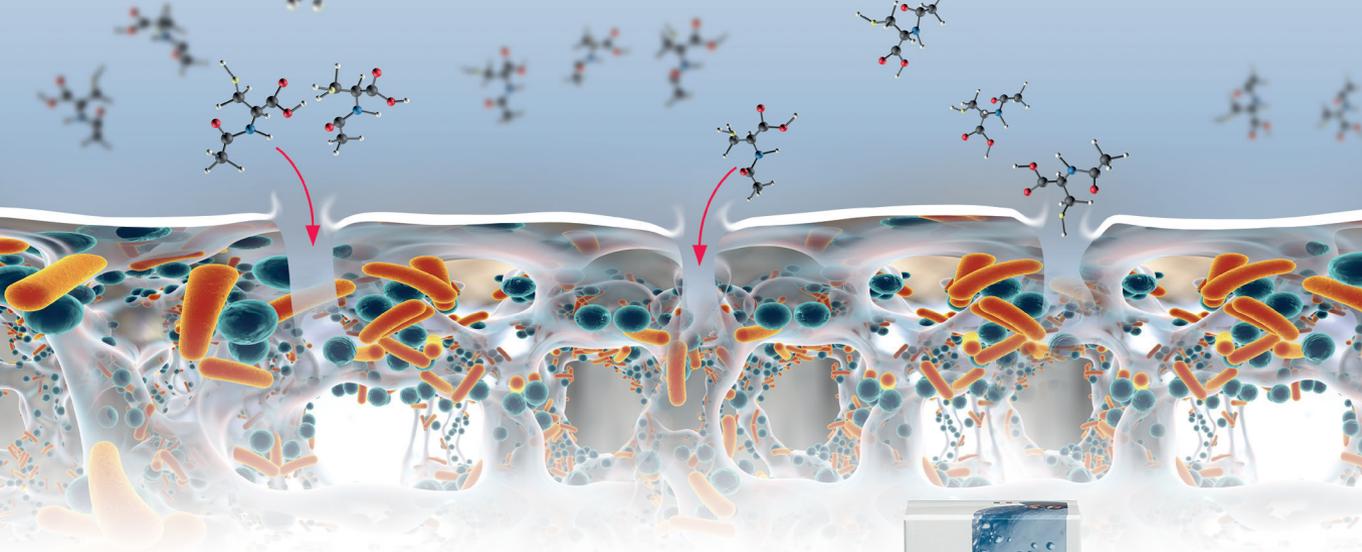
Hintergrund

Eine Gruppe Bakterien ist imstande, eine Matrix aus Polysacchariden, DNA und Proteinen zu produzieren, welche letztlich eine schleimige, extrazelluläre Masse, den sogenannten Biofilm, bilden. Dieser Biofilm haftet in der Regel besonders gut an glatten Oberflächen wie Implantaten oder Kathetern, aber auch an Gewebe wie beispielsweise der Wand des äußeren Gehörgangs. Neben der Schutzfunktion für die produzierenden Keime erlaubt er ihnen auch, sich in diesem Milieu über längere Zeit bei geringer Stoffwechselaktivität zu halten und so beispielsweise eine Antibiotika-Therapie unbeschadet zu überstehen.

Die Keime, die Biofilm produzieren, können nur einer oder auch mehreren Species angehören. Sie sind oft kulturell nur schwer anzuzüchten und werden nicht zuletzt deswegen häufig unterdiagnostiziert. Die klinische und zytologische Diagnose ist daher von großer Bedeutung.

Insbesondere „Problemkeime“ bei chronischen Otitiden wie *Pseudomonas aeruginosa* produzieren Biofilm. Allerdings sind nach bisherigen Erkenntnissen nicht alle *Pseudomonas aeruginosa* dazu imstande, sondern es sind spezifische Gene involviert (Caiazza und O`Toole, 2004). Auch *Staphylococcus pseudintermedius*, der häufigste bei bakteriellen Hautinfektionen, aber auch bei Otitiden des Hundes isolierte Keim, sollte nicht unterschätzt werden: bis zu 96 % der vom Hund isolierten *Staphylococcus pseudintermedius*-Isolate sind imstande, Biofilm zu produzieren (Ameet Singh, Meagan Walker, Joyce Rousseau, Jeffrey Scott Weese, Characterization of the biofilm forming ability of *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs. BMC Veterinary Research 20139:93. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-93>).

Dr. Stefanie Peters



Tris NAC®

Die Lösung gegen Biofilm

- Innovative und synergetische Kombination aus N-Acetylcystein und Tris-EDTA
- Zur topischen Anwendung bei Hunden und Katzen
- Damit die antimikrobielle Therapie ein Erfolg wird

Informieren Sie sich bei Ihrem zuständigen Außendienstmitarbeiter oder direkt bei LIVISTO, Tel.: 02536 3302 21.





LIVISTO

Along with you

aniMedica GmbH · a LIVISTO company · Im Südfeld 9 · 48308 Senden

[livisto.com](https://www.livisto.com)