

Biofilm ved kronisk rhinosinuitis og cystisk fibrose

Jacob Fisker, Christian von Buchwald & Helle Krogh Johansen

Bihulebetændelse, rhinosinuitis, er en hyppigt forekommende kronisk lidelse og et væsentligt sundhedsproblem med betydelige samfundsøkonomiske omkostninger [1]. Mens den akutte rhinosinuitis ofte forudgås af en viral eller bakteriel infektion, er udviklingen af den kroniske sygdom multifaktoriel. Behandlingen er såvel medicinsk som kirurgisk, og det er velkendt, at en undergruppe af patienterne er vanskelige at behandle og hyppigt får recidiv. Tilstedeværelse af bakterier, der er indlejret i biofilm, synes at kunne forklare dette.

Patienter med cystisk fibrose (CF) har obligat forekomst af kronisk rhinosinuitis, og det er vist, at tilstedeværelse af biofilmdannende bakterier i næsebihulesekret hos CF-patienter er forbundet med lungekolonisering med samme bakteriestamme [2]. Forekomst af kroniske biofilminfektioner i bihulerne hos CF-patienter antages at bidrage til lungekolonisering og efterfølgende vedligeholdelse af en kronisk lungeinfektion.

BIOFILM

Bakterier forekommer i naturen enten som frie (planktoniske) bakterier eller indlejret i biofilm, der er forankret til overflader og indlejret i en selvproduceret matriks. Det antages, at 99% af alle bakterier eksisterer i biofilm og kun 1% som fri planktoniske bakterier [3].

Biofilm blev første gang beskrevet i det 17. århundrede af den hollandske manufakturhandler *van Leeuwenhoek*, som i lysmikroskop påviste »animaliculi«, der var fastgjort til tandoverflader. Definitivt er der tale om et struktureret konsortium af bakterier eller svampe, der er omgivet af en selvproduceret polymermatriks [3, 4].

I denne matriks dannes der vandkanaler, hvori væske og næringsstoffer kan cirkulere, og der er således tale om en beskyttet vækstform, der er sammenlignelig med højere livsformers mere differentierede vævsdannelse [3].

Dannelsen af biofilm opdeles i flere trin (**Figur 1**). Først tiltrækkes og hæfter planktoniske bakterier ved hjælp af pili eller deres kapsel reversibelt til en overflade, og siden irreversibelt. Herfra fortsætter væksten af bakterier til en mikrokoloni sideløbende med dannelsen af en polysakkaridmatriks, som bakterierne indlejrer sig i. Sidste trin i den modne bio-

films livscyklus er frigivelse af planktoniske datterceller, som igen kan starte nye biofilmkolonier [5, 6].

BIOFILMINFEKTIONER

Forekomst af biofilm kendes fra overflader på instrumenter som endoskoper, øredræn, trakeostomituber eller alloplastikproteser [3, 5]. Biofilm er imidlertid inden for de seneste ti år blevet anerkendt som en medvirkende årsag til infektioner uden fremmedlegemer, og det amerikanske *Center for Disease Control* (CDC) anslår, at biofilm er involveret i 65% af bakterielle lidelser hos mennesket [7]. Det er vist, at biofilm er hyppigt forekommende hos patienter med kronisk rhinosinuitis [3], og biofilm er påvist ved endokarditis, otitis media og kronisk tonsillitis [8]. De fleste biofilminfektioner er langsomt forløbende og har kronisk karakter med intermitterende akutte eksacerbationer, ligesom de ikke altid medfører klassiske tegn på infektion.

Antistofproduktion hos værten stimuleres, når planktoniske bakterier frigives fra biofilmen som led i dennes livscyklus. De dannede antistoffer er dog ikke i stand til at bekæmpe de bakterier, der er indlejret i biofilmen, ligesom bakterier, der er indlejret i biofilm, heller ikke er ligeså følsomme overfor antibiotika som de tilsvarende planktoniske forekommende bakterier [9]. Det er vist for *Pseudomonas aeruginosa*, der er indlejret i biofilm, at den mindste hæmmende antibiotikakonzentration (*minimal inhibitory concentration*) øges med op til faktor 1.000, når bakterierne vokser i biofilm [10]. Dette tilskrives, at bakterierne i en biofilm ikke er metabolisk aktive på grund af det nedsatte tilbud af næringsstoffer. *Costerton et al* beskrev i 1998, at β -lactam-antibiotika på under 90 sekunder kan penetrere en biofilm uden at dræbe

STATUSARTIKEL

Øre-næse-halskirurgisk
Klinik og Klinisk
Mikrobiologisk Afdeling,
Rigshospitalet



FAKTABOKS

Kronisk rhinosinuitis kan skyldes biofilminfektion.

Prævalensen af kronisk rhinosinuitis er tæt på 100% hos patienter med cystisk fibrose (CF).

Frigivelse af bakterier fra en biofilm i bihulerne kan være årsag til de recidiverende lungeinfektioner hos patienter med CF.

Det bør afklares, om sanering af bihulerne hos CF-patienter kan forhindre recidiverende lungeinfektioner.

en signifikant andel af de indlejrede bakterier [11], hvorfor bakterier i en langsomt voksende biofilm reagerer dårligere på β -lactam-antibiotika. Dette forklarer, hvorfor de akutte eksacerbationer behandles effektivt med antibiotika, mens de bakterier, der er indlejret i den tilgrundliggende biofilm, ikke responderer på behandlingen [12].

RHINOSINUITIS

Kronisk rhinosinuitis defineres ifølge *European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps (EPOS)*-kriterierne som en inflammation i næse eller bihuler med tilstoppet næse, sekretion fra næsen, trykkende ansigtssmerter eller nedsat lugtesans i kombination med endoskopisk fund af polypper, mukopurulent sekretion fra eller hævelse svarende til meatus medius og/eller forandringer af slimhinden i det ostiomeatale kompleks eller bihuler påvist ved computertomografi og kan optræde med eller uden nasal polypose [1]. En varighed på under 12 uger med fuldstændig remission defineres som akut rhinosinuitis, mens den kroniske sygdom strækker sig over mere end 12 uger. Mens akut rhinosinuitis ofte forudgås af en øvre luftvejsinfektion, er den kroniske rhinosinuitis' patogenese ufuldstændigt belyst.

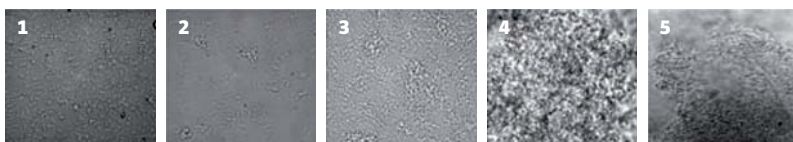
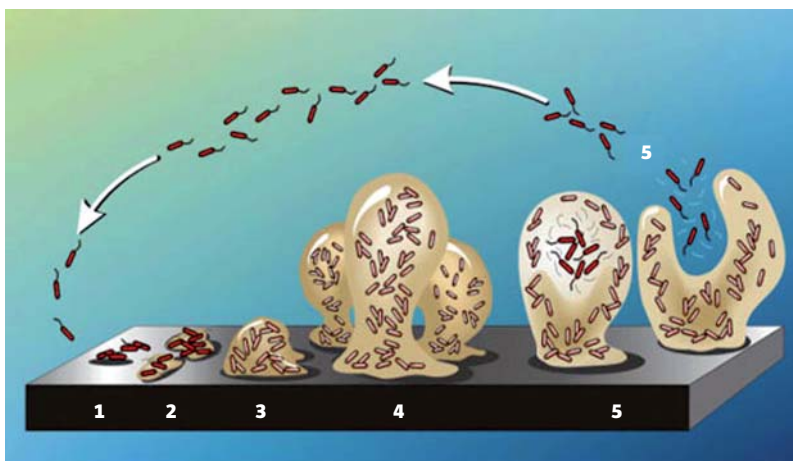
Kronisk rhinosinuitis er en af de hyppigst fore-

kommende kroniske sygdomme i USA, og studier har opgjort prævalensen til 13-14%. Hos patienter med CF er prævalensen af kronisk rhinosinuitis derimod tæt på 100%, mens også raske bærere af mutationen for CF er vist at have en markant forøget prævalens af kronisk rhinosinuitis i forhold til baggrundsbefolkningen [13].

De fleste patienter med kronisk rhinosinuitis responderer godt på antibiotika eller kirurgi. Imidlertid findes der en gruppe patienter, som ikke bedres trods intensiv antibiotisk behandling eller kirurgi, hvilket synes at kunne forklares ved, at bakterier hos denne patientgruppe findes indlejret i biofilm [14]. I 2005 påviste *Sanclément et al* biofilmlignende strukturer hos 80% af de patienter, som fik foretaget endoskopisk bihulekirurgi på grund af kronisk rhinosinuitis. Denne observation støttes af *Bendouah et al*, som i et nyligt arbejde har demonstreret biofilmdannelse med *Staphylococcus aureus* og *P. aeruginosa* i forbindelse med kronisk rhinosinuitis, samt påvist at tilstedeværelse af biofilm er associeret med dårlig prognose efter endoskopisk bihulekirurgi [15]. Flere studier bekræfter dette, om end *P. aeruginosa* ikke synes at spille en væsentlig rolle hos i øvrigt raske individer med kronisk rhinosinuitis, hvor biofilm-infektioner med *Haemophilus influenzae*, *S. aureus* og *Streptococcus pneumoniae* er hyppigere forekommende [16].

FIGUR 1

Udvikling af biofilm ifølge *Sauer & Davies*, State University of New York, USA. 1: Planktoniske bakterier registrerer overflade og hæfter sig til denne ved hjælp af pili. 2: Bakterierne danner en matriks, som de indlejres i. 3-4: Udvikling fra mikrokoloni til moden biofilm. 5: Frigivelse af planktoniske bakterier fra den modne biofilm, som igen kan starte udvikling af biofilm andre steder jf. punkt 1. Nedenfor er udviklingen illustreret lysmikroskopisk.



KRONISK RHINOSINUITIS OG CYSTISK FIBROSE

CF er den hyppigste livsforkortende, recessivt arvelige sygdom blandt kaukasider [17]. Sygdommen skyldes en mutation på kromosom syv og kendes i mange genetiske varianter, der medfører forskellige sværhedsgrader af sygdommen. I Danmark har størstedelen af CF-patienterne den alvorligste mutation, og i alt er der ca. 450 patienter med CF. Mutationen på kromosom syv medfører en abnorm vand- og elektrolyttransport i epitelceller, hvorved patienternes mucus bliver sejt og klæbrigt, og den mukociliære transport ændres. Dette medfører øget modtagelighed for bakterielle lungeinfektioner samt øget forekomst af diabetes mellitus, pankreasinsufficiens, levercirrose samt obligat forekomst af kronisk rhinosinuitis.

På trods af at vi i Danmark har den alvorligste variant af sygdommen, er den forventede levealder over 40 år, mens den i udlandet kun er mellem 20 og 30 år [18]. Den længere overlevelse i Danmark tilskrives tidlig, intensiv og målrettet antibiotikabehandling, som udskyder tidspunktet, hvor patienterne progredierer fra en intermitterende lungekolonisation til en kronisk bakteriel lungeinfektion.

P. aeruginosa er en kendt årsag til kroniske bio-

filmlungeinfektioner hos CF-patienter. Såfremt der i ekspektoratet findes vækst af denne bakterie, startes intensiv eradikationsterapi, idet dannelsen af anti-stoffer mod de planktoniske bakterier ledsages af dannelse af immunkomplekser (type III-hypersensibilitetsreaktion), som forårsager skade i lungevævet [3]. Disse gentagne lungeinfektioner medfører faldende lungefunktion og risiko for tidlig død [19]. Den eneste tilgængelige livsforlængende behandling er lunge transplantation.

Det er vist, at CF-patienter, som har en kronisk lungeinfektion med *P. aeruginosa*-infektion og lunge-transplanteres, efter kortere eller længere tid re-inficeres med genetisk identiske bakterietyper [20]. Dette tyder på, at der findes et reservoir, hvorfra patienternes nye lunger reinficeres med *P. aeruginosa*. Et sådant reservoir kunne være i bihulerne, hvorfra frigivelsen af bakterier fra en biofilm forårsager reinfektion af de nytransplanterede lunger.

På trods af patienternes obligate forekomst af kronisk rhinosinuitis, har man både i udlandet og i Danmark fortrinsvis behandlet patienternes rhinosinuitis konservativt, idet man hidtil har antaget, at komplikationerne i forbindelse med anæstesi af lunge-syge patienter overskyggede en eventuel kirurgisk behandlingseffekt.

Selv om det er velkendt, at der er overensstemmelse mellem bakteriefund i CF-patienternes bihuler og ekspektorat, foreligger der aktuelt ikke evidens til at konkludere, at en kronisk biofilminfektion i CF-patienternes bihuler er direkte årsag til lungeinfektioner. Det synes dog ikke utænkeligt, at en kronisk biofilminfektion i bihulerne via frigivelse af planktoniske bakterier kan etablere eller vedligeholde en biofilminfektion i CF-patienternes lunger. Derfor er endoskopisk bihulekirurgi mange steder i udlandet standardbehandling før lunge transplantation af CF-patienter. De få udenlandske opgørelser, der hidtil er publiceret, tyder på, at endoskopisk bihulekirurgi før lunge transplantation kan nedbringe antallet af postoperative lungeinfektioner, men det er endnu ikke vist, om en optimeret behandling af CF-patienternes kroniske rhinosinuit kan hindre eller udsætte overgangen fra intermitterende lungekolonisering til en kronisk lungeinfektion.

Det bør derfor afklares, hvorvidt kirurgisk og medicinsk sanering af bihulerne hos CF-patienter, som endnu ikke er kronisk lungeinficerede, kan nedbringe risikoen for efterfølgende udvikling af kronisk lungeinfektion og dermed virke livsforlængende, samt om risikoen for reinfektion i transplanterede lunger kan nedbringes ved en intensiveret medicinsk og kirurgisk behandling af patienternes kroniske rhinosinuitis.

Med henblik på at belyse dette er der etableret et klinisk forskningssamarbejde mellem Øre-næse-halskirurgisk Klinik, Pædiatrisk Klinik og Klinisk Mikrobiologisk Afdeling på Rigshospitalet samt Panum Institut og Danmarks Tekniske Universitet.

KORRESPONDANCE: Jacob Fisker, Holmevej 29, 2860 Søborg.

E-mail: J-fisker@dadlnet.dk

ANTAGET: 18. december 2009

FØRST PÅ NETTET: 7. juni 2010

INTERESSEKONFLIKTER: Ingen

LITTERATUR

1. EPOS 2007 – European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2007. *Rhinology* 2007; 45; suppl. 20: 1-139.
2. Mainz JG, Naehrlich L, Schien M et al. Concordant genotype of upper and lower airways *P. aeruginosa* and *S. aureus* isolates in cystic fibrosis. *Thorax* 2009;64:535-40.
3. Costerton JW, Stewart, Philip S et al. Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science* 1999;284:1318-22.
4. Højby N, Johansen HK, Ciofu O et al. Fremmedlegemeinfektioner – nyt om biofilm og quorum sensing. *Ugeskrift for læger* 2007;48:4163-6.
5. Lindsay D, von Holy A. *J Hosp Infect* 2006;64:313-25.
6. Sauer K, Camper A, Erlich G et al. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *J Bacteriol* 2002;184:1140.
7. Potera C. Forging a link between biofilms and disease. *Science* 1999;283:1837-9.
8. Homøe P, Bjarnsholt T, Wessman et al. Morphological evidence of biofilm formation in Greenlanders with chronic suppurative otitis media. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2009;266:1533-8.
9. Nickel JC, Ruseska I, Wright JB et al. Tobramycin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* cells growing as a biofilm on urinary catheter material. *ANTIMIC AGENTS CHEMOTHER* 1995;27:619-24.
10. Højby N. Understanding bacterial biofilms in patients with cystic fibrosis: current and innovative approaches to potential therapies. *J Cystic Fibrosis* 2002;1:249-54.
11. Costerton JW. Introduction to biofilm. *International journal of antimicrobial Agents* 1999;11:217-21.
12. Marrie TJ, Nelligan J, Costerton JW. *Circulation* 1982;66:1339-41.
13. Wang X et al. Increased prevalence of chronic rhinosinusitis in carriers of a cystic fibrosis mutation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;131:237-40.
14. Palmer J. bacterial biofilms in chronic rhinosinusitis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2006;115 Suppl 196:35-9.
15. Bendouah Z, Barbeau J, Hamad WA et al. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is associated with an unfavorable evolution after surgery for chronic sinusitis and nasal polyposis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;134:991-6.
16. Sanderson A, Leid JG, Hunsaker D. Bacterial biofilms on the sinus mukosa of human subjects with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 2006;116:1121-6.
17. Bergoin C et al. Cell and cytokine profile in nasal secretions in cystic fibrosis. *J Cyst Fibrosis* 2002;1:110-15.
18. Højby N, Coch C, Frederiksen B. Cystic fibrosis. *Nordisk medicin* 1998;113:328-30.
19. Lee B, Haagensen JA, Ciofu O et al. Heterogeneity of biofilms formed by non-mukoid *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 2005;43:5247-55.
20. Walter S, Gudowius P, Bosshammer J et al. Epidemiology of chronic *Pseudomonas aeruginosa* infections in the airways of lung transplant recipients with cystic fibrosis. *Thorax* 1997;52:318-21.