

## Biofilms: Betekenis voor de behandeling en bestrijding van bacteriële infecties bij huisdieren

F. Haesebrouck, F. Van Immerseel, K. Hermans, A. Martel, R. Ducatelle, F. Pasmans

Vakgroep Pathologie, Bacteriologie en Pluimveeziekten  
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent  
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, België

freddy.haesebrouck@ugent.be

### SAMENVATTING

In de natuur kunnen bacteriën niet enkel voorkomen onder een vrije of planktonische vorm maar ook onder een sessiele vorm. Veel bacteriën produceren tijdens hun sessiele stadium biofilms. Biofilms bestaan uit een gestructureerde gemeenschap van micro-organismen die vastgehecht zijn aan een inert of levend oppervlak en ingesloten zijn in slijm dat ze zelf produceren. Bacteriële biofilms zijn verantwoordelijk voor een groot gamma van vooral chronische infecties bij mensen. Bij dieren werd hierover minder onderzoek uitgevoerd. Toch kan aangenomen worden dat ze ook bij dieren kunnen betrokken zijn bij tal van aandoeningen, waaronder pneumonie, leverabcessen, osteomyelitis, valvulaire endocarditis, enteritis, peritonitis, wondinfecties, katheterinfecties, otitis en mastitis. Bacteriën in een biofilm kunnen andere eigenschappen tot expressie brengen dan planktonische bacteriën. Ze kunnen meestal moeilijker opgeruimd worden door het afweersysteem van de gastheer en zijn vaak ook minder gevoelig voor antimicrobiële middelen. Op die manier zijn ze verantwoordelijk voor chronische, moeilijk behandelbare infecties. Nader onderzoek naar de omstandigheden waarbij bacteriën biofilms vormen in dieren en hoe men dit kan tegengaan, is aangewezen.

### INLEIDING

In de klassieke microbiologie hebben de eigenschappen die beschreven worden voor bacteriën, meestal betrekking op de vrije of zogenaamde planktonische vorm van deze micro-organismen. In de natuur kunnen bacteriën evenwel ook voorkomen onder de zogenaamde sessiele vorm, waarbij ze zich vasthechten aan biotische of abiotische oppervlakken. De planktonische vorm is belangrijk voor de verspreiding van bacteriën, waarbij nieuwe oppervlakken kunnen gekoloniseerd worden. De sessiele vorm is noodzakelijk voor het in stand houden van een bacteriële populatie op een bepaalde plaats (Singh *et al.*, 2006). De eigenschappen van sessiele bacteriën kunnen sterk verschillen van deze van de vrije vorm. Dit uit zich onder andere door het tot expressie brengen van andere genen (Costerson *et al.*, 1999).

Veel bacteriën komen tijdens hun sessiele stadium voor in biofilms. Biofilms bestaan uit een gestructureerde gemeenschap van micro-organismen die vastgehecht zijn aan een inert of levend oppervlak en ingesloten zijn in slijm dat ze zelf produceren (Costerson *et al.*, 1999). Vanuit een biofilm kunnen de bacteriën langzaam maar zeker vrijgesteld worden. Deze kunnen dan bijvoorbeeld voor het opnieuw opflakkeren van een ziekte zorgen. Een biofilm kan gevormd worden

door één enkele bacteriële species maar in de natuur komen ook biofilms voor die bestaan uit meerdere species van bacteriën, fungi, algen en protozoa.

Bacteriële biofilms zijn verantwoordelijk voor een groot gamma van vooral chronische infecties bij mensen (Costerson *et al.*, 1999). Bij dieren werd veel minder onderzoek uitgevoerd naar de klinische betekenis van biofilms. Toch kan aangenomen worden dat ze ook hier kunnen betrokken zijn bij tal van aandoeningen, zoals pneumonie, leverabcessen, osteomyelitis, valvulaire endocarditis, enteritis, peritonitis, wondinfecties, katheterinfecties, otitis en mastitis (Boerlin *et al.*, 2001 ; Clutterbuck *et al.*, 2007 ; Melchior *et al.*, 2006a,b ; Olson *et al.*, 2002 ; Vaneechoutte *et al.*, 2000). *In vitro* en *in vivo* studies toonden aan dat verschillende bacteriën die ziekte veroorzaken bij dieren, in staat zijn om biofilms te vormen. Dit geldt onder andere voor *Salmonella enterica* (Ledeboer en Jones, 2005 ; Römling *et al.*, 2006), *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Izano *et al.*, 2007), *Actinobacillus equuli*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* (Clutterbuck *et al.*, 2007), *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (Serralta *et al.*, 2001), *Staphylococcus aureus* en *Staphylococcus hyicus* (Olson *et al.*, 2002).

In dit overzicht wordt eerst kort ingegaan op de samenstelling van biofilms. Daarna wordt de vorming van biofilms in functie van de interacties tussen pathogene bacteriën met hun gastheer besproken en wordt geschetst hoe biofilms het overleven van pathogene bacteriën in de buitenwereld in de hand kunnen werken. Tenslotte wordt toegelicht waarom bacteriën in een biofilm minder gevoelig zijn voor antimicrobiële middelen.

#### SAMENSTELLING VAN EEN BIOFILM

Bacteriën die zich bevinden in een biofilm, zijn omgeven door een extracellulaire matrix die ze zelf produceren. Deze matrix wordt ook “slijmlaag”, “glycocalyx”, “polysaccharide intercellulair adhesine” of “extracellulaire polymeer substantie” genoemd en kan tot 90% van de biomassa van een biofilm omvatten. De extracellulaire matrix houdt de bacteriën samen en zorgt er ook voor dat ze stevig vastzitten op het onderliggende oppervlak. Naast deze structurele rol zorgt de matrix ook voor een beschermende micro-omgeving. In de biofilm komen kanalen en lege ruimten voor die gevuld zijn met water waarin zich voedingsstoffen, gesecreterde enzymen, DNA en eventueel bacteriofagen bevinden.

De samenstelling van de extracellulaire matrix is bij verschillende, niet-verwante bacteriën gelijkaardig. Men vindt er vaak dezelfde exopolysacchariden in terug, namelijk cellulose of polybeta-1,6-N-acetylglucosamine, evenals proteïnen (Latasa *et al.*, 2006). De proteïnen kunnen een rol spelen bij de vasthechting van verschillende bacteriën aan elkaar, de adhesie aan abiotische oppervlakken en de vasthechting aan epithelia of andere levende oppervlakken. Ze interageren ook met de exopolysacchariden, waardoor een stevige driedimensionale structuur ontstaat. Bij veel bacteriën kunnen verschillende oppervlaktestructuren tussenkomen in biofilmvorming. Welke structuur juist tussenkomt, is onder andere afhankelijk van de bacteriële stam en het substraat waarop ze zich vasthechten.

Bij *Staphylococcus aureus* bijvoorbeeld kunnen onder andere het *bap* gen en het *ica* operon tussenkomen bij biofilmvorming. Het *bap* gen codeert voor een oppervlakteproteïne (Bap: Biofilm-associated protein) en komt vaak voor bij *Staphylococcus aureus*-stammen die mastitis veroorzaken bij runderen. Het is afwezig bij *Staphylococcus aureus*-stammen bij mensen (Lasa en Penades, 2006). Anderzijds is het *ica* operon meestal afwezig bij stammen die het *bap* gen bevatten. Het *ica* operon codeert voor proteïnen die onder andere betrokken zijn bij de productie van de exopolysacchariden. Dat de biofilmregulatie bij *Staphylococcus aureus*-stammen zeer complex is, werd aangetoond door O'Neill *et al.* (2007). Zij onderzochten *Staphylococcus aureus*-stammen geïsoleerd uit nosocomiale infecties bij mensen en vonden dat biofilmvorming bij methicilline gevoelige *Staphylococcus aureus*-stammen vooral *ica*-afhankelijk was,

terwijl dit voor methicillineresistente stammen (MRSA) verband hield met nog niet nader beschreven adhesinen van eiwitnatuur en onafhankelijk was van dit operon.

Proteïnen die verwant zijn aan het Bap van *Staphylococcus aureus* werden beschreven bij verschillende andere bacteriën. Voorbeelden hiervan zijn BapA van *Salmonella enterica*, Esp van *Enterococcus faecalis*, Espfm van *Enterococcus faecium*, YeeJ van *Escherichia coli* en VP1443 van *Vibrio parahaemolyticus* (Latasa *et al.*, 2006).

Bij *Salmonella enterica* kunnen naast het BapA ook de zogenaamde “adhesieve curli fimbriae” (ook “thin aggregative fimbriae”, Tafi of agf genoemd) en type 1-fimbriae tussenkomen in biofilmvorming. De exopolysacchariden die voorkomen in biofilms van *Salmonella* kunnen bestaan uit cellulose, colaanzuur en een polysaccharide dat lijkt op de O-antigenen van de lipopolysacchariden uit de celwand (Römling *et al.*, 2006). De samenstelling van de biofilm verschilt afhankelijk van waar deze gevormd wordt. Op abiotische oppervlakken, zoals teflon, glas en polystyreen, komen zowel curli fimbriae, cellulose en BapA tussen, terwijl mutanten die de curli fimbriae en cellulose niet kunnen produceren, maar wel BapA, nog altijd een vliesvormige biofilm kunnen vormen aan het oppervlak van een vloeibaar milieu. *Salmonella* kan ook biofilms vormen op galstenen, wat leidt tot chronische kiemdragers. Ook voor de vorming van deze biofilms zijn curli fimbriae en cellulose niet noodzakelijk. Voor biofilmvorming op epitheelcellen komen type 1-fimbriae, cellulose en colaanzuur tussen (Boddicker *et al.*, 2002 ; Ledebouer en Jones, 2005).

#### BIOFILMVORMING WERKT HET PERSISTEREN VAN BACTERIËN IN HUN GASTHEER IN DE HAND

Bij biofilmvorming onderscheidt men verschillende stadia. Dit werd onder andere bestudeerd bij *Pseudomonas aeruginosa* (Daniels *et al.*, 2004). De volgende stadia werden beschreven: losse vasthechting, stevige vasthechting, groei van de biofilm en dispersie van de biofilm. De overgang tussen de verschillende stadia wordt geïnduceerd door verschillende “quorum sensing” systemen. Quorum sensing kan beschouwd worden als een vorm van communicatie tussen bacteriën en houdt in dat de bacteriële cellen signaalmoleculen produceren en detecteren. Deze zorgen ervoor dat de volledige bacteriële populatie eenzelfde actie start op het moment dat de signaalmoleculen een bepaalde kritische concentratie bereiken. Deze kritische concentratie komt overeen met een bepaalde densiteit van de bacteriële populatie, vandaar de naam quorum sensing. Planktonische *Pseudomonas aeruginosa*-cellen kunnen in een vloeibaar milieu een zwemmende beweging uitvoeren door middel van flagellen. Wanneer ze in contact komen met een oppervlak kunnen ze zich op het oppervlak vasthechten, waarbij de flagelgemedieerde beweeglijkheid (zwemmen)

uitgeschakeld wordt en vervangen wordt door andere typen van beweeglijkheid: het uitzwermen en het tril-lend voortbewegen door middel van type IV-fimbri-ae. Deze eerste adhesie is eerder los en de bacteriële cellen kunnen nog uitzwermen over het oppervlak tot een monolaag gevormd wordt. Daarna valt ook dit type van beweeglijkheid weg en hechten de bacte-riën zich zeer stevig vast. Ze vermeerderen verder, produceren extracellulaire matrix en vormen een driedimensionale biofilm waarin met water gevulde kanalen voorkomen (groeistadium). Eens de biofilm een zekere omvang bereikt heeft, treedt dispersie op. Tijdens deze laatste fase van de biofilmvorming werd vastgesteld dat *Pseudomonas aeruginosa*-cellen actief wegzwemmen uit de centrale delen van de biofilm, waarbij een netwerk achterblijft van wanden die be-staan uit achtergebleven bacteriën met holle centra (Sauer *et al.*, 2002).

Bacteriën die zich bevinden in een biofilm, kunnen meestal moeilijker opgeruimd worden door het af-weersysteem van de gastheer dan planktonische bacte-riële cellen en kunnen op onregelmatige tijdstippen vrijgesteld worden uit de biofilm. Op die manier zijn ze verantwoordelijk voor chronische infecties en voor het opnieuw opflakkeren van ziekten. Biofilmvor-ming kan inderdaad interfereren met de werking van fagocyten. Leid *et al.* (2002) toonden aan dat fago-cyten wel in staat zijn om de biofilms gevormd door *Staphylococcus aureus* binnen te dringen, maar niet in staat zijn de kiem te fagocyteren. De productie van zuurstofradicalen door neutrofielen was duide-lijk lager wanneer deze cellen gestimuleerd werden met bacteriën die zich in een biofilm bevonden in vergelijking met de planktonische vorm van dezelfde bacteriën (Jensen *et al.*, 1990). Yasuda *et al.* (1994) vonden dat *Escherichia coli*-bacteriën die geresus-pendeerd werden uit een biofilm, veel moeilijker af-gedood konden worden door neutrofielen dan bacte-riën die niet in een biofilm hadden gegroeid. Ook de activatie van het complementsysteem wordt tegenge-gaan wanneer bacteriën zich in een biofilm bevinden (Jensen *et al.*, 1993), waardoor de opsonisatie van de kiemen met C3b en bijgevolg fagocytose gehinhibeerd wordt. In de biofilm kunnen ook lichaamseigen pro-ducten, zoals bloedplaatjes en fibrine, ingesloten worden, waardoor de bacteriën verborgen zijn voor het immuunapparaat. Bovendien zijn bacteriën in een biofilm moeilijker bereikbaar voor antistoffen (Clut-terbuck *et al.*, 2007).

De reactie van de gastheer op een biofilm kan mede verantwoordelijk zijn voor de letsels. Fagocy-ten die aangetrokken worden naar de biofilm, maar niet in staat zijn deze te verwijderen, kunnen via de productie van hydrolytische enzymen weefselbescha-diging veroorzaken in de buurt van de biofilm. Een voorbeeld hiervan is de periodontitis en gingivitis die ontstaan in de buurt van tandplaque. Deze zijn voornamelijk te wijten aan de continue aanval van neutrofielen die niet in staat zijn de kiemen in de bio-film te elimineren. Hierdoor worden cytokinen en

ontstekingsmediatoren geproduceerd die de resorptie van beenweefsels ter hoogte van de tandalveolen in de hand werken en het collageen beschadigen (Clut-terbuck *et al.*, 2007).

Het vrijstellen van bacteriën uit een biofilm gebeurt vooral tijdens de dispersiefase maar kan ook reeds in beperkte mate optreden tijdens de groeifase van de biofilm, waarbij sommige bacteriële cellen overgaan in de planktonische vorm en vrijkomen in de omge-ving. Tijdens de dispersiefase kunnen de bacteriën vrijgesteld worden door 'erosie' of 'afstoting' (Cha-racklis, 1990). Erosie is het geleidelijk loskomen van kleine delen van de biofilm. Afstoting daarentegen gaat gepaard met een massaal loslaten van cellen uit de biofilm. In tegenstelling tot bacteriën die tijdens de groeifase van een biofilm vrijkomen en overgaan in het planktonisch fenotype kunnen cellen die door erosie of afstoting vrijkomen, sommige eigenschappen blij-ven behouden van bacteriën in de biofilm. Ze kunnen aldus moeilijker opgeruimd worden door het afweer-systeem van de gastheer dan klassieke planktonische cellen en zijn vaak ook minder gevoelig voor antimicrobiële middelen (zie verder). Deze bacteriën kun-nen dan ook gemakkelijker sepsis veroorzaken en uitzaaïen naar andere weefsels en organen.

Biofilms die bijvoorbeeld gevormd worden in een katheter, zijn niet enkel een voortdurende bron van infectie voor de patiënt maar kunnen bovendien de katheter verstopen. In biofilms die tot stand komen in blaaskatheters, kunnen zich ureasepositieve bacte-riën bevinden. Door de afbraak van ureum kan de al-dus gevormde ammoniak de pH verhogen in de buurt van deze biofilm, waardoor mineralen, zoals calcium-fosfaat en magnesium, ammoniumfosfaat kunnen neer-slaan. Deze mineralen kunnen dan ingesloten worden in de biofilm, waardoor uiteindelijk een occlusie van de katheter optreedt (Donlan, 2001).

Biofilmvorming kan door sommige afweerfactoren van de gastheer tegengegaan worden. Singh *et al.* (2002) toonden aan dat biofilmvorming door *Pseudomonas aeruginosa* tegengegaan wordt door lactoferrine, zelfs in concentraties die duidelijk lager waren, dan wat noodzakelijk is voor de inhibitie van de bacteriële groei.

#### BIOFILMVORMING WERKT HET PERSIS-TEREN VAN PATHOGENE BACTERIËN IN DE OMGEVING IN DE HAND

Sommige bacteriën die infecties veroorzaken bij die-ren of mensen, kunnen ook buiten hun gastheer biofilms vormen, wat de overleving en verspreiding ervan in de hand werkt. Zo kan *Salmonella enterica* biofilms vormen op planten. Op die manier worden uitbraken van salmonellose ten gevolge van het eten van rauwe groenten en fruit in de hand gewerkt. Biofilmvor-ming op industrieel materiaal dat gebruikt wordt bij de verwerking of bereiding van voedsel kan leiden tot de contaminatie van dit voedsel. De besmetting van chocolade met *Salmonella* werd aldus beschreven.

*Salmonella* kan ook persisteren onder vorm van biofilms aan de randen van toiletten (Römling *et al.*, 2006).

Er is duidelijk aangetoond dat micro-organismen die zich bevinden in een biofilm, minder gevoelig zijn voor de werking van ontsmettingsmiddelen. *Salmonella*-bacteriën in een biofilm zijn in vergelijking met vrije bacteriën minder gevoelig voor natriumhypochloriet, jodiumpreparaten, triclosan en ethanol (Römling *et al.*, 2006). Scher *et al.* (2005) toonden aan dat meer dan 10% van de *Salmonella*-bacteriën die zich in een biofilm bevonden, een behandeling overleefde met 50 ppm hypochloriet gedurende 15 minuten, terwijl een cultuur van vrije bacteriën in zowel de stationaire als logaritmische groeifase, volledig geëlimineerd werd.

Waarom bacteriën in een biofilm minder gevoelig zijn voor ontsmettingsmiddelen is nog niet volledig duidelijk. Het kan zijn dat ze minder goed bereikbaar zijn voor het product maar dit is niet de enige reden. Voor *Salmonella* werd aangetoond dat bacteriën in een biofilm genen tot overexpressie brengen die coderen voor effluxmechanismen die antibacteriële stoffen naar buiten pompen (Römling *et al.*, 2006).

#### BIOFILMVORMING INTERFEREERT MET DE BEHANDELING VAN BACTERIËLE INFECTIES

Van praktische betekenis voor de behandeling van bacteriële infecties is dat verschillende auteurs konden aantonen dat bacteriën in een biofilm 10-1000 maal minder gevoelig waren voor antimicrobiële middelen dan wanneer ze in de vrije vorm voorkwamen (Amorena *et al.*, 1999 ; Ceri *et al.*, 1999 ; Olson *et al.*, 2002). Dit werd onder andere aangetoond voor *A. pleuropneumoniae*. Wanneer de poly-*N*-acetylglucosamine matrix afgebroken werd van de biofilm waarin deze kiem zich bevond, werd ze veel gevoeliger voor ampicilline (Izano *et al.*, 2007).

Er zijn verschillende redenen waarom bacteriën in een biofilm minder gevoelig zijn voor antimicrobiële middelen. Dit kan in de eerste plaats te wijten zijn aan een verminderde penetratie van deze middelen, waardoor ze de bacteriën niet kunnen bereiken. Er werd inderdaad vastgesteld dat bacteriën in dikkere biofilms resistenter zijn dan bacteriën in dunnere biofilms (Cochran *et al.*, 2000 ; Stewart, 1996). Er dient evenwel vermeld te worden dat de graad van penetratie doorheen een biofilm ook afhankelijk is van de samenstelling van deze biofilm en van de eigenschappen van het antimicrobieel middel. De exopolysacchariden in een biofilm kunnen fungeren als een ionenuitwisselaar die hydrofobe en positief geladen antimicrobiële middelen, zoals aminoglycosiden, kunnen vasthouden (Clutterbuck *et al.*, 2007).

In sommige compartimenten van een biofilm is de beschikbaarheid van nutriënten voor de bacteriën beperkt. Dit brengt met zich mee dat bacteriële cellen die zich hier bevinden, slechts zeer traag of helemaal niet groeien. Dergelijke bacteriën hebben een sterk

verlaagde metabolische activiteit, met als gevolg dat ze ook minder gevoelig zijn voor antimicrobiële middelen die voor hun werking meestal een actief bacterieel metabolisme vereisen. In verschillende compartimenten van een biofilm bevinden zich bacteriën met een verschillende groeisnelheid en aldus met een verschillende gevoeligheid voor antimicrobiële middelen, waardoor antibioticatherapie niet in staat is om alle bacteriën in een biofilm te elimineren.

Beperkte zuurstofbeschikbaarheid in een biofilm kan een rol spelen bij verhoogde weerstand tegenover antimicrobiële middelen waarvan de activiteit zuurstof-afhankelijk is. Walter *et al.* (2003) toonden aan dat ciprofloxacine en tobramycine enkel actief waren tegen *Pseudomonas aeruginosa*-cellen aan het oppervlak van een biofilm waar er contact was met de lucht en niet in dieper gelegen zones.

Een gewijzigde genexpressie door bacteriën die zich in bepaalde compartimenten van een biofilm bevinden, kan eveneens bijdragen tot een verminderde antibioticagevoeligheid. Deze gewijzigde genexpressie in bepaalde subpopulaties van een bacteriële gemeenschap in een biofilm kan zich uiten door de expressie van mechanismen die het schadelijk effect van antimicrobiële middelen op bacteriën tegengaan. Het kan hier bijvoorbeeld gaan om de expressie van effluxsystemen die het antibioticum uit de bacteriële cel pompen (Cochran *et al.*, 2000). Zoals hoger vermeld, kunnen bacteriën in een biofilm inderdaad andere genen tot expressie brengen dan planktonische bacteriën.

Een laatste mechanisme dat kan verklaren waarom het bijzonder moeilijk kan zijn om alle bacteriën in een biofilm te elimineren via antibioticatherapie, is door het optreden van een minderheidspopulatie van zogenaamde persisterende bacteriële cellen. Dergelijke persisterende varianten kunnen weerstaan aan antibioticac concentraties die letaal zijn voor andere bacteriën in een biofilm. Men denkt dat deze varianten een defect hebben in het systeem van geprogrammeerde celdood of apoptose (Lewis, 2001). Volgens deze theorie kunnen antimicrobiële middelen bacteriën onrechtstreeks doden omdat ze de bacteriële cel beschadigen en hierdoor geprogrammeerde celdood induceren in de bacterie. Bacteriële cellen met een defect mechanisme van geprogrammeerde celdood zijn aldus veel minder gevoelig voor de werking van antimicrobiële middelen en kunnen overleven. Persisterende varianten kunnen zowel voorkomen in populaties van planktonische bacteriën als in populaties van sessiele bacteriën. Sessiele bacteriën in een biofilm zijn evenwel ook meer weerstandsbiedend tegenover de afweermechanismen van de gastheer dan planktonische bacteriën, wat het overleven van deze minderheidspopulaties in een geïnfecteerde gastheer in de hand werkt.

Een laatste opmerking die kan gemaakt worden in verband met de verminderde antibioticagevoeligheid van bacteriën in een biofilm is dat, behalve de mechanismen die hierboven vermeld werden, ook 'infectieuze'

of 'overdraagbare' antibioticaresistentie in de hand kan gewerkt worden binnen bacteriële populaties in een biofilm. Het samenleven van verschillende bacteriële stammen in een biofilm vergemakkelijkt inderdaad ook de uitwisseling van genetisch materiaal, waardoor resistentiegenen kunnen doorgegeven worden van resistente naar gevoelige populaties. Dit kan zowel via conjugatie, transductie als transformatie. Bij conjugatie wordt er DNA uitgewisseld tussen twee bacteriën via een eiwitunnel. Doordat bacteriën zich dicht bij elkaar bevinden in een biofilm, wordt deze uitwisseling inderdaad bevorderd. Conjugatie wordt gecodeerd door genen die gelegen zijn op overdraagbare plasmiden of conjugatieve transposons. Er werd aangetoond dat sommige overdraagbare plasmiden niet enkel voor conjugatie coderen maar bovendien ook de vorming van biofilms induceren (Ghigo, 2001). In de extracellulaire matrix van een biofilm kunnen zich ook bacteriofagen en DNA van gelyseerde bacteriën bevinden. Hierdoor wordt de overdracht van genetisch materiaal via transductie (door tussenkomst van bacteriofagen) en transformatie (rechtstreekse opname van DNA uit de omgeving door zogenaamde "competente" bacteriën) in de hand gewerkt.

## CONCLUSIE

Biofilmvorming door pathogene bacteriën kan aanleiding geven tot chronische aandoeningen die moeilijk te behandelen zijn. Nader onderzoek naar de omstandigheden waarbij bacteriën biofilms vormen in dieren en hoe men dit kan tegengaan, is aangewezen. In dit verband kan vermeld worden dat sommige nieuwe antimicrobiële middelen, zoals ranbezolid, de biofilmvorming van stafylokokken tegengaan, zelfs in concentraties die lager liggen dan de minimum inhibitorische concentratie van dit product voor deze kiemen (Mathur *et al.*, 2004).

## REFERENTIES

- Amorena B., Gracia E., Monzon M., Leiva J., Oteiza C., Perez M., Alabart J.L., Hernandez-Yago J. (1999). Antibiotic susceptibility assay for *Staphylococcus aureus* in biofilms developed in vitro. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 44, 43–55.
- Boddicker J.D., Ledebouer N.A., Jagnow J., Jones B.D., Clegg S. (2002). Differential binding to and biofilm formation on Hep-2 cells by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium is dependent upon allelic variation in the *fimH* gene of the *fim* gene cluster. *Molecular Microbiology* 45, 1255–1265.
- Boerlin P., Eugster S., F. Gaschen F., Straub R., Schawalder P. (2001). Transmission of opportunistic pathogens in a veterinary teaching hospital. *Veterinary Microbiology* 82, 347–359.
- Ceri H., Olson M.E., Stremick C., Read R.R., Morck D., Buret A. (1999). The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *Journal of Clinical Microbiology* 37, 1771–1776.
- Characklis W.G. (1990). Biofilm processes. In: W.G. Characklis and K.C. Marshall (editors). *Biofilms*. John Wiley and Sons, New York, p. 195–231.
- Clutterbuck A.L., Woods E.J., Knottenbelt D.C., Clegg P.D., Cochrane C.A., Percival S.L. (2007). Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Veterinary Microbiology* 121, 1–17.
- Cochran W.L., Suh S.J., Mcfeters G.A., Stewart P.S. (2000). Role of RpoS and AlgT in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm resistance to hydrogen peroxide and monochloramine. *Journal of Applied Microbiology* 88, 546–553.
- Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284, 1318–1322.
- Daniels R., Vanderleyden J., Michiels J. (2004). Quorum sensing and swarming migration in bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 28, 261–289.
- Donlan R.M. (2001). Biofilms and device-associated infections. *Emerging Infectious Diseases* 7, 277–281.
- Ghigo J.M. (2001). Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development. *Nature* 412, 442–445.
- Izano E.A., Sadovskaya I., Vinogradov A., Mulks M.H., Velliyagounder K., Ragunath C., Kher W.B., Ramasubbu N., Jabbouri S., Perry M.B., Kaplan J.B. (2007). Poly-N-acetylglucosamine mediates biofilm formation and antibiotic resistance in *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Microbial Pathogenesis* 43, 1–9.
- Jensen E.T., Kharazmi A., Garred P., Kronborg G., Fomsgaard A., Mollnes T.E., Hoiby N. (1993). Complement activation by *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbial Pathogenesis* 15, 377–388.
- Jensen E.T., Kharazmi A., Lam K., Costerton J.W., Hoiby N. (1990). Human polymorphonuclear leukocyte response to *Pseudomonas aeruginosa* grown in biofilms. *Infection and Immunity* 58, 2383–2385.
- Lasa I., Penades J.R. (2006). Bap: a family of surface proteins involved in biofilm formation. *Research Microbiology* 157, 99–107.
- Latasa C., Solano C., Penades J.R., Lasa I. (2006). Biofilm-associated proteins. *Comptes Rendus Biologies* 329, 849–857.
- Ledebouer N.A., Jones B.D. (2005). Exopolysaccharide sugars contribute to biofilm formation by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on Hep-2 cells and chicken intestinal epithelium. *Journal of Bacteriology* 187, 3214–3226.
- Leid J.G., Shirliff M.E., Costerton J.W., Stoodley A.P. (2002). Human leukocytes adhere to, penetrate, and respond to *Staphylococcus aureus* biofilms. *Infection and Immunity* 70, 6339–6345.
- Lewis K. (2001). Riddle of biofilm resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45, 999–1007.
- Mathur T., Bhateja P., Pandya M., Fatma T., Rattan A. (2004). In vitro activity of RBx 7644 (ranbezolid) on biofilm producing bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents* 24, 369–373.

- Melchior M.B., Fink-Gremmels J., Gaastra W. (2006a). Comparative assessment of the antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in biofilm versus planktonic culture. *Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health* 53, 326–332.
- Melchior M.B., Vaarkamp H., Fink-Gremmels J. (2006b). Biofilms: a role in recurrent mastitis infections? *Veterinary Journal* 171, 398–407.
- Olson M.E., Ceri H., Morck D.W., Buret A.G., Read R.R. (2002). Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Canadian Journal of Veterinary Research* 66, 86–92.
- O'Neill E., Pozzi C., Houston P., Smyth D., Humpreys H., Robinson D.A., O'gara P.O. (2007). Association between methicillin susceptibility and biofilm regulation in *Staphylococcus aureus* isolates from device-related infections. *Journal of Clinical Microbiology* 45, 1379–1388.
- Römling U., Pesen D., Yaron S. (2006). Biofilms of *Salmonella enterica*. In: F. J. Cooke, J. Wain, E.J. Threlfall (editors). *Salmonella: Molecular Biology and Pathogenesis*. Horizon Bioscience press, p. 128–145.
- Sauer K., Camper A.K., Ehrlich G.D., Costerton J.W., Davies D.G. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *Journal of Bacteriology* 184, 1140–1154.
- Scher K., Römling U., Yaron S. (2005). Effect of heat, acidification, and chlorination on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium cells in a biofilm formed at the air-liquid interface. *Applied Environmental Microbiology* 71, 1163–1168.
- Serralta V.W., Harrison-Balestra C., Cazzaniga A.L., Davis S.C., Mertz P.M. (2001). Lifestyles of bacteria in wounds: presence of biofilms? *Wounds* 13, 29–34.
- Singh P.K., Parsek M.R., Greenberg E.P., Welsh M.J. (2002). A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature* 417, 552–555.
- Singh R., Paul D., Jain R.K. (2006). Biofilms: implications in bioremediation. *Trends in Microbiology* 14, 389–397.
- Stewart P.S. (1996). Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40, 2517–2522.
- Vanechoutte M., Devriese L.A., Dijkshoorn L., Lamote B., Deprez P., Verschraegen G., Haesebrouck F. (2000). *Acinetobacter baumannii*-infected vascular catheters collected from horses in an equine clinic. *Journal of Clinical Microbiology* 38, 4280–4281.
- Walters M.C., Roe F., Bugnicourt A., Franklin M.J., Stewart P.S. (2003). Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47, 317–323.
- Yasuda H., Ajiki Y., Aoyama J., Yokota T. (1994). Interaction between human polymorphonuclear leucocytes and bacteria released from in vitro bacterial biofilm models. *Journal of Medical Microbiology* 41, 359–367.

## Uit het verleden

### BOEREN KWEEKTEN VEE, HEREN ATEN VLEES

Een stukje vlees dagelijks voorgeschoteld krijgen, dat was gedurende het zoveel honderduizenden jaren bestaan van *Homo sapiens* allesbehalve evident. Het is eigenlijk een zeer recent fenomeen. Enkel voor de toplaag was dat al langer 'dagelijkse kost'. Dit zien we sprekend geïllustreerd in de Engelse taal. Na de machtsovername door de Normandiërs onder Willem de Veroveraar in 1066 onderging de Germaanse taal van de Angelen en de Saksen een sterke invloed van het Frans dat nog lang na de verovering de taal van het hof en van andere hoge wereldlijke en kerkelijke machthebbers bleef. Zo komt het dat volgende in oorsprong Franse woorden voor vlees nu nog steeds algemeen gebruikelijk zijn, terwijl de namen van de levende dieren Germaans bleven:

Beef (Frans: boeuf) tegenover cow, ox, steer.

Veal (Frans: veau) tegenover calf.

Mutton (Frans: mouton) tegenover sheep.

Porc (Frans: idem) tegenover swine, pig.

Luc Devriese