

# Bakterien in chronischen Wunden

Die Grenzen zwischen bakterieller Besiedelung und Infektion sind fließend

Rund 5 Millionen Menschen in Europa leben mit Beingeschwüren. Die Tendenz ist aufgrund der Alterung der Bevölkerung und der Ausbreitung des Diabetes steigend. Die modernen molekulardiagnostischen Nachweismethoden erlauben neue Einblicke in eine Bakterienflora, die sich auf dem Wundgrund als Biofilm organisiert. Dennoch wissen wir über die Rolle der Bakterien bei chronischen Wunden wenig. Die konventionellen Methoden Mikroskopie und Bakterienkultur erlauben lediglich eine Einsicht in die vorhandene Flora, ergeben jedoch kein getreues Abbild hinsichtlich der in der Wunde vorkommenden Arten und deren Populationsdichte. Antibiotika wirken aufgrund der schlechten Durchblutung von Ulkuswundgebieten und Biofilmbildung ungenügend.

## THOMAS KRECH UND JÜRG TRABER

Von chronischen Wunden spricht man, wenn sich über vier Wochen keine sichtbaren Heilungstendenzen abzeichnen. Rund 5 Millionen Menschen in Europa leben mit chronischen Beingeschwüren, und rund 4 Millionen der 25 Millionen in Europa lebenden Diabetiker werden Fussulzera entwickeln. Immer mehr ältere und schwer kranke Menschen führen zu einer Zunahme von Dekubitalulzera. Die dadurch entstehenden Kosten werden in Europa auf mehr als eine Milliarde Franken geschätzt (1, 2).

Hauptursache bei der Entstehung von Ulzera ist eine mangelnde Durchblutung des Gewebes, die zu einer Desintegration der Hautbarriere, des *Stratum corneum*, führt. In dieser Über-

sicht sollen die Mechanismen der bakteriellen Besiedelung von Haut und Wunden aufgezeigt werden, und es soll der Frage nachgegangen werden, wie Bakterien die Heilung der Wunde verzögern und somit zur Chronizität beitragen.

### Die physiologische Hautflora

Schon die gesunde Haut ist reichlich mit Bakterien – je nach Körperregion in einer Dichte von 100 000 bis zu 1 Million pro cm<sup>2</sup> – besiedelt. Es handelt sich zumeist um Arten von geringer Virulenz, wobei koagulasenegative Staphylokokken und Korynebakterien vorherrschend sind. In den Talgdrüsen finden sich physiologischerweise auch Propionibakterien und der Pilz *Malassezia furfur*. Viren auf der Haut haben insofern eine physiologische Rolle, als dass sie sich in Bakterien vermehren und diese lysieren können. Diese Bakteriophagen spielen auch als genetisches Reservoir eine wichtige Rolle und können Virulenzgene auf die Wirtsbakterien übertragen, wie beispielsweise das Hyaluronidasegen auf A-Streptokokken (3).

Bei einem Individuum permanent auf der Haut vorhandene Keime nennt man resident (*Tabelle 1*). Keime mit höherer Aggressivität (Virulenz), wie beispielsweise *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas spp.* sind in der Regel nur transient auf der Haut zu finden. Rund 20 Prozent der Bevölkerung sind mit *Staphylococcus aureus* jedoch nicht transient, sondern permanent besiedelt.

## Merksätze

- Schlecht heilende Wunden in Form von Ulzera verursachen in Europa Kosten von mehr als einer Milliarde Franken pro Jahr.
- Einfluss und Ausmass einer bakteriellen Besiedelung auf die Wundheilung sind unklar.
- Die mikroskopische Untersuchung und Kultivierung lässt die Mehrzahl der Bakterien unentdeckt, da die Wunde mit einer Vielzahl von Anaerobiern und anderen schlecht wachsenden Keimen besiedelt ist.
- Die Wirkung von Antibiotika ist aufgrund der schlechten Durchblutung des Wundgebiets und der Biofilmbildung erheblich beeinträchtigt.

**Tabelle 1: Häufigste von normaler Haut kultivierbare Bakterien**

Residente Bakterien (Normalflora)	Transiente Bakterien
Staphylococcus epidermidis	Pseudomonas spp.
Staphylococcus hominis	Proteus spp.
Peptococcus saccharolyticus	E. coli
Micrococcus spp.	Klebsiella spp.
Corynebacterium spp.	Enterobacter spp.
Brevibacterium spp.	Citrobacter spp.
Propionibacterium acnes	
Acinetobacter spp.	
Staphylococcus aureus (rund 20% gesunde Träger)	Staphylococcus aureus

Neuere Untersuchungen mittels molekularer Techniken haben durch den Nachweis langsam wachsender oder nicht kultivierbarer Bakterien ein bedeutend breiteres Spektrum physiologischer Hautbakterien zutage gefördert. Über 300 verschiedene Spezies können die Haut besiedeln, beim einzelnen Individuum sind etwa 50 davon zu finden. Das Artenspektrum ist sehr individuell, und es gibt offenbar von Mensch zu Mensch nur wenige Überschneidungen. Was die Häufigkeit der Bakterienspezies betrifft, sind auch die Studienergebnisse recht unterschiedlich. Während die einen Untersucher am Vorderarm ein Vorherrschen von Korynebakterien fanden, wiesen andere in der Ellenbeuge am häufigsten Pseudomonaden nach, was einigermaßen erstaunlich ist, wurden diese doch bisher für transiente Keime gehalten.

Die physiologischen Hautkeime leben in den Tiefen der Epidermis, vor allem in den Talgdrüsen und den basalen Schichten des *Stratum corneum*. An die Hautoberfläche gelangen sie durch den Regenerationsprozess, und mit der Abschilferung der verhornenden Zellen werden sie freigesetzt (4).

**Bakterielle Virulenzfaktoren**

Bakterien brauchen zu ihrer Vermehrung Nährstoffe. Diese beziehen sie beim Menschen unter anderem aus dem Gewebe. Damit Bakterien mit Gewebe in Kontakt treten können, müssen sie sich an die Haut anheften. Sie tun dies mittels Adhäsinen, die an entsprechende Rezeptoren auf der Zelloberfläche binden. Es handelt sich dabei in der Regel um zuckerhaltige Strukturen (5). Nach der Anheftung werden Bakterien entweder von den Epithelzellen phagozytiert, oder sie gelangen mittels lytischer Enzyme (Tabelle 2) durch die Interzellularspalten in die Tiefe. Die Aggressivität der Bakterien gegen Gewebe ergibt sich aus ihren Virulenzfaktoren. Dabei handelt es sich neben den Adhäsinen um Proteine, die in der Regel eine enzymatische Wirkung entfalten. Die wirksamsten sind Zytotoxine, die die Gewebezellen zerstören (Tabelle 2).

**Die Abwehr der Haut**

Im Normalfall besteht zwischen den Angriffsfaktoren der Bakterien und der Abwehr der Haut ein Gleichgewicht (Abbildung 1). Die intakte Haut setzt den Virulenzfaktoren der Bakterien das verhornende Epithel und die angeborene Immunität entgegen. Während das Hautepithel eine mechanische Barriere darstellt, werden Epitope von Bakterien, Viren, Pilzen und Toxinen an vorderster Front durch Toll-like-Rezeptoren erkannt (6), so beispielsweise LPS, ein Lipopolysaccharid in der äusseren Zellmembran von gramnegativen Bakterien. Die Bindung von LPS an diese auf den Epithelzellen sitzenden Toll-like-Rezeptoren setzt eine Interleukinkaskade in Gang und führt somit vor allem zur Freisetzung von Zytokinen wie Interferon, IL-2 und IL-6, die zur Zerstörung der Bakterien führen.

**Tabelle 2: Eine Auswahl von Virulenzfaktoren verschiedener Bakterienarten (9)**

Virulenzfaktor	Funktion	Bakterium (Beispiel)
Adhäsine	Anheftung an Zelloberfläche	alle
Hyaluronidase	Zerstörung des Kitts zwischen den Zellen	Staphylococcus aureus A-Streptokokken
Zytotoxine, z.B. Exotoxin A	Zellzerstörung	Pseudomonas aeruginosa
Plasmakoagulase	Verschluss der Kapillaren	Staphylococcus aureus
Phospholipase	Zerstörung der zuführenden Blutgefäße	Clostridium perfringens
Streptokinase	fibrinlösend	A-Streptokokken
Streptodornase	Auflösung von extrazellulärer DNA und RNA	A-Streptokokken
Lipase	Gewinnung von Nährstoffen durch Spaltung der Hautfette	lipophile Korynebakterien

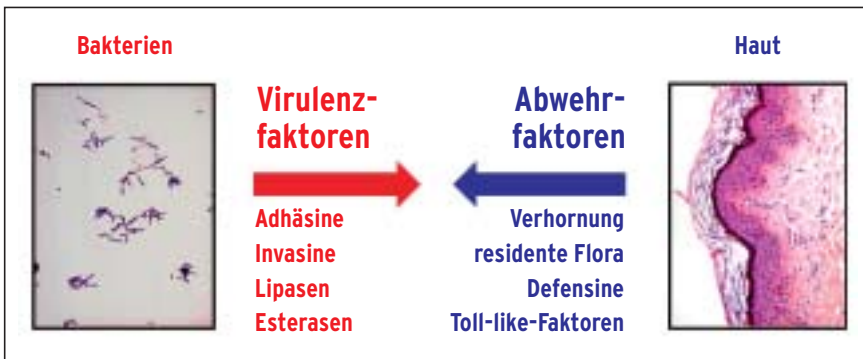


Abbildung 1: Gleichgewicht zwischen gesunder Haut und physiologischer Bakterienflora (hier Korynebakterien). (Histologie-Abbildung: F. Bannwart, medica)

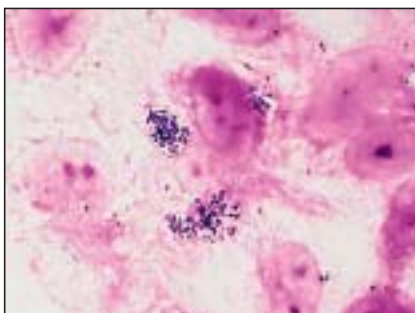


Abbildung 2: Korynebakterien in Zellkultur: Die grampositiven Stäbchen lagern in Vakuolen, die dem Phagosom entsprechen. (Foto: Thomas Krech)

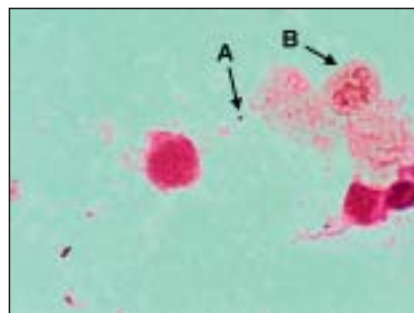


Abbildung 3: Mikroskopie eines nach Gram gefärbten Wundabstrichs. Zu sehen sind die spärlichen grampositiven Kokken (A) und Granulozyten (B). Angezüchtet wurde *Staphylococcus aureus* in Reinkultur. Nicht auszuschließen ist, dass auch Anaerobier, die aufgrund ihrer Kleinheit und geringen Zahl direktmikroskopisch hier nicht zu sehen sind, an der Infektion beteiligt sind. (Foto: Thomas Krech)

Für tiefer eingedrungene Bakterien halten die Zellen in ihren Lysosomen eine Vielzahl von Killersubstanzen bereit. Diese finden sich nicht nur in professionellen Phagozyten, sondern praktisch in jeder Zelle, so auch in den Keratozyten der obersten Hautschichten. Bei den Killersubstanzen handelt es sich nicht nur um Sauerstoffradikale, sondern auch um Peptide (Defensine), die in die Zellmembran der Eindringlinge Löcher stanzen und sie so abtöten.

Die physiologische Hautflora selbst ist ebenfalls ein Schutz. Ihre ausgewogene Zusammensetzung verhindert, dass pathogene Keime wie beispielsweise Pseudomonaden oder Pilze überhandnehmen. Unter antibiotischer Therapie wird das Gleichgewicht gestört, und insbesondere Pilze (*Candida*) gewinnen die Oberhand. Es bildet sich vor allem an intertriginösen Stellen ein Soor aus.

Es ist wichtig, sich vor Augen zu halten, dass Bakterien nicht nur auf den Zellen leben, sondern auch innerhalb der Zellen. Zum Eindringen nutzen die Bakterien den Phagozytoseprozess, der jeder lebenden Zelle eigen ist. In den Phagosomen der Gewebezellen überleben viele Bakterien oder vermögen sich sogar zu vermehren (Abbildung 2), dies im Gegensatz zu professionellen Phagozyten, die effiziente Killersysteme aufweisen. Intrazellulär gelagerte Bakterien werden mit dem Abstrich kaum erfasst und sind auch für Antibiotika schlechter zugänglich.

## Die Wundinfektion

Grundlage jeder bakteriellen Infektion ist der Durchbruch von Bakterien durch die Haut- oder Schleimhaut. Bakterien sind praktisch nicht in der Lage, die intakte Haut mit ihrem verhornenden Epithel zu durchdringen. Sie können höchstens entlang von Haaren ihren Weg in die Tiefe finden, wo *Staphylococcus aureus* zur Follikulitis oder *Pseudomonas aeruginosa* zur follikulären (Whirl-Pool-)Dermatitis führen kann. Bei mechanischer oder vaskulärer Schädigung der Haut im Sinne eines Ulkus beginnt die Besiedlung der Wunde mit physiologischen Hautbakterien, aber auch mit transienten Bakterien höherer Virulenz wie *Staphylococcus aureus*, Pseudomonasarten und A-Streptokokken (Abbildung 3).

In Wunden findet sich ebenso wie auf der normalen Haut eine Vielzahl von Bakterien. Mit molekularen Techniken lassen sich rund viermal mehr Arten als kulturell nachweisen. Die Zusammensetzung der Keimspektren ist je nach Wundtyp unterschiedlich. Strikt anaerobe Keime finden sich beispielsweise häufiger in diabetischen Ulzera und Druckulzera als im venös bedingten *Ulcus cruris* (4).

Die mit dem Zusammenbruch der Epithelbarriere einhergehende Verminderung an Defensinen und anderen von den Epithelzellen gebildeten Abwehrstoffen erlaubt den Bakterien eine stärkere Ausbreitung in der Wunde. Leukozyten wandern in das Wundgebiet ein, phagozytieren und zerstören die Bakterien. Die dabei aus den Granulozyten freigesetzten Sauerstoffradikale und lytischen Enzyme sowie die Zerfallsprodukte der Bakterien unterhalten die Entzündung, die zwar der Abwehr dient, gleichzeitig aber auch eine gewebeschädigende Wirkung hat.

Um sich gegen Angriffe der körpereigenen Abwehr besser zu schützen, organisieren sich die Bakterien in der Wunde. Sie lagern sich zu symbiotischen Mikrokolonien zusammen, die in der Regel aus einer Mischung verschiedener Bakterienspezies bestehen. Diese Bakterien sondern verstärkt schleimartige Substanzen ab und umgeben sich mit dieser sogenannten Glycocalix. Eingebettet in diesen Biofilm kleben die Bakterien zusammen, kommunizieren miteinander, verändern ihre Stoffwechsellaktivitäten und nutzen Stoffwechselprodukte anderer Bakterienspezies als Nährstoffe. Die in solchen Biofilmen zusammengelagerten Bakterien sind mechanisch und chemisch nur schwer angreifbar, und die Wirkung von Antibiotika ist stark reduziert.

Bakterien unterhalten die Entzündung und behindern dadurch die Heilung. Zudem zerstören sie durch ihre Zytotoxine neu gebildete Zellen des Granulationsgewebes. Sie okkludieren durch Plasmakoagulase die Kapillaren, vermindern dadurch die lokale Durchblutung und unterbinden die Nachschubwege sowohl von Stoffen, die für die Geweberegeneration notwendig sind als auch von Antibiotika. Die Streptokinasen gewisser Bakterien lysieren zudem Fibringerüste, an denen entlang die neu gebildeten Zellen auswachsen können (Tabelle 2). Ferner ist anzunehmen, dass die von Bakterien gebildeten Proteasen auch Wachstumsfaktoren in Wunden spalten und somit die Wundheilung an einer zentralen Stelle hemmen, nämlich bei der Zellvermehrung.

**Diskussion**

Zwischen den Virulenzfaktoren der Bakterien und den Abwehrmechanismen der Haut herrscht im Normalfall ein Gleichgewicht. Die Keime der physiologischen Hautflora, obwohl in Keimzahlen bis zu 1 Million pro cm<sup>2</sup> vorhanden, führen zu keinerlei Entzündungsreaktion. Dies hängt einerseits mit ihrer schwachen Virulenz zusammen, andererseits muss eine Toleranz vonseiten der Haut postuliert werden, deren Mechanismen noch kaum erforscht sind. Auch existiert noch keine Kartierung der physiologischen Flora der menschlichen Haut. Die mittels Bakterienkultur erhobenen Befunde scheinen überholt zu sein. Die Untersuchungen mit molekular-diagnostischen Methoden am Vorderarm und in der Ellenbeuge kommen zu sehr unterschiedlichen Resultaten, die die Vermutung stützen, dass die bakterielle Zusammensetzung der Normalflora individuell und an verschiedenen Körperstellen stark voneinander abweicht (4).

Die Grenzen zwischen bakterieller Besiedelung und Infektion einer Wunde sind fließend. Es handelt sich bei den Erregern einer Wundinfektion in der Regel um physiologische Hautkeime, durchsetzt von aggressiveren Keimen der transienten Flora wie *Staphylococcus aureus*, betahämolyisierenden Streptokokken, Pseudomonasarten und anderen gramnegativen Stäbchenbakterien. Die Auswirkungen der oberflächlichen Wundinfektion in Form eines Biofilms auf die Wundheilung sind wenig untersucht. Über die Interaktion zwischen den Bakterien in einem Biofilm und über die Interaktion des Biofilms mit der Wunde ist wenig bekannt. Obwohl viele gewebschädigende 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 gewebschädigende 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 (7, 8). Vielleicht sind es auch weniger virulente Stämme, die sich in Biofilmen zusammenfinden.

Obwohl die Haut das grösste Organ des menschlichen Körpers ist und die Behandlung von Wunden Milliarden von Krankenkassen- und Steuergeldern kostet, weiss man wenig über die normale und pathologische Hautflora. Aus diesem Grund fehlen auch wissenschaftlich basierte, therapeutische Ansätze, mit denen die Wundheilung beschleunigt werden könnte (4). Es wäre zu wünschen, dass hier eine intensivere Grundlagenforschung ansetzen würde, denn allein durch die Überalterung der Bevölkerung und durch die weitere Zunahme der Diabeteserkrankungen wird die Zahl der venös und diabetisch bedingten Ulzera sowie der Druckulzera und damit der chronischen Wunden zunehmen. Was heute in die Erforschung chronischer Wunden investiert wird, könnte sich in der Zukunft mehrfach auszahlen. Dies nicht zuletzt auch deshalb, weil eine gestörte Hautbarriere die Entstehung von Allergien begünstigt (10). ■

**Korrespondenzadressen:**

**Prof. Dr. med. Thomas Krech**  
**Spezialist für labormedizinische Analytik FAMH**  
**Labor Prof. Krech AG, Partnerlabor der medica**  
**Medizinische Laboratorien Dr. F. Kaeppli**  
**Konstanzerstrasse 31a**  
**8280 Kreuzlingen**  
**E-Mail: thomas.krech@hin.ch**

**Dr. med. Jürg Traber**  
**Ärztlicher Direktor**  
**Venenklinik Bellevue**  
**Brückenstrasse 9**  
**8280 Kreuzlingen**  
**E-Mail: j.traber@venenklinik.ch**

Interessenkonflikte: keine deklariert

**Literatur:**

1. Simka M., Majewski E.: The social and economic burden of venous leg ulcers: focus on the role of micronized purified flavanoid fraction adjuvant therapy, *Am J Clin Dermatol* 2003; 4 (8): 573–581.
2. www.help2heal.eu
3. Wagner P.L., Waldor M.K.: Bacteriophage Control of bacterial virulence, *Infection and Immunity* 2002; 70: 3985–3993.
4. Martin J.M., Zenilman J.M., Lazarus G.S.: Molecular microbiology: New dimensions for cutaneous biology and wound healing, *J Invest Dermatol* 2010; 130, 38–48; published online 23 July 2009, www.jidonline.org.
5. Schröder C.: Untersuchung der Adhäsion von Corynebakterien an humaner Haut. Dissertation 2002, Universität Hamburg, www.sub.uni-hamburg.de/opus/volltexte/2002/739/.
6. West A.P., Koblansky A.A., Ghosh S.: Recognition and Signaling by Toll-Like Receptors, *Annu Rev Cell Dev Biol* 2006; 22: 409–437.
7. Waters C.M., Bassler B.L.: Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria, *Annu Rev Cell Dev Biol* 2005; 21: 319–346.
8. Hansen S.K., Rainey P.B., Haagensen J.A.J., Molin S.: Evolution of species interactions in a biofilm community, *Nature* 2007; 445 (7127): 533–36.
9. De Smet K., Contreras R.: Human antimicrobial peptides: defensins, cathelicidins and histatins, *Biotechnol Lett* 2005; 27 (18): 1337–1347.
10. Stauber-Reichmuth G.: Die Rolle der epidermalen Barriere bei atopischer Dermatitis, *medicos* 2010; 2: 11–12.

*Beitrag nach einem Vortrag, gehalten am 19. Kongress der European Wound Management Association (EWMA) am 20. Mai 2009 in Helsinki.*