



Katrin Dohnt (Autor)

# Charakterisierung von *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilmen in einem *in vitro*-Harnwegskathetersystem



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/256>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany  
Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung und Zielsetzung .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Aktueller Stand der Forschung.....</b>	<b>4</b>
2.1	Biofilme .....	4
2.1.1	Entwicklung eines Biofilms .....	6
2.1.2	Extrazelluläre Polymere Substanzen.....	7
2.1.3	Bakterielle Bewegungsformen.....	8
2.1.4	„Quorum sensing“ in Biofilmen .....	9
2.1.5	Antibiotikaresistenz von Biofilmen .....	9
2.1.6	Behandlung und Bekämpfung von Biofilmen .....	10
2.2	Harnwegsinfektionen.....	11
2.3	Einteilung und Wirkung von Antibiotika .....	12
2.4	Der Modellorganismus <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	14
2.4.1	Spezifische Virulenzfaktoren des <i>P. aeruginosa</i> .....	15
2.4.2	Mechanismen der Eisenaufnahme von <i>P. aeruginosa</i> .....	18
2.4.3	Extrazelluläre Polysaccharide der <i>Pseudomonas</i> -Matrix.....	19
2.4.4	Antibiotikaresistenzen von <i>P. aeruginosa</i> .....	21
2.4.5	<i>P. aeruginosa</i> -spezifisches „Quorum sensing“ .....	23
2.4.6	Biofilmbildung von <i>P. aeruginosa</i> .....	24
2.4.7	Biomasseabtrag aus <i>P. aeruginosa</i> -Biofilmen .....	27
2.4.8	Phänotypische Kolonievarianten von <i>P. aeruginosa</i> .....	29
2.5	Systeme zur Kultivierung von Biofilmen .....	30
2.6	Stofftransport, -übergang und -durchgang in Biofilmen .....	33
2.7	Eigenschaften eines Rohrreaktors .....	34
<b>3</b>	<b>Material und Methoden.....</b>	<b>36</b>
3.1	Mikroorganismen .....	36
3.1.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> -Isolate .....	36
3.1.2	<i>Escherichia coli</i> K12 .....	37
3.2	Medien und Medienzusätze .....	37
3.2.1	Artifizielles Urinmedium .....	37
3.2.2	Luria-Bertani (LB)-Medium .....	38
3.2.3	Modifiziertes „Alginate-Promoting“-Medium.....	38
3.2.4	Spurenelementlösung .....	39
3.2.5	Ciprofloxacinlösung .....	40
3.3	Mikrobiologische Methoden .....	40
3.3.1	Stammhaltung .....	40
3.3.2	Anzucht der Vorkulturen .....	40
3.3.3	Batchkultivierungen .....	40
3.3.4	Biofilmkultivierung im <i>in vitro</i> -Harnwegskathetersystem .....	42
3.3.5	Kultivierungen mit on-line-Analysen .....	45

3.3.6	Bestimmung der Lebendzellzahl .....	46
3.3.7	Bestimmung der Minimalen Zellzahl im Biofilm .....	46
3.3.8	Bestimmung der Zelldichte .....	46
3.3.9	Bestimmung der Biofilmdicke .....	47
3.3.10	Bestimmung der Biofilmdichte .....	47
3.3.11	Isolierung der Extrazellulären Polymeren Substanzen .....	48
3.3.12	Mikroskopische Untersuchungen .....	48
3.4	Biochemische Analysemethoden .....	49
3.4.1	Quantifizierung der Harnsäure .....	49
3.4.2	Quantifizierung der Glukose .....	49
3.5	Chemische Analysemethoden .....	50
3.5.1	Quantifizierung der Milch- und Zitronensäure.....	50
3.5.2	Quantifizierung der Phospat-, Magnesium- und Calciumionen..	50
3.5.3	Quantifizierung von Ciprofloxacin.....	51
3.5.4	Quantitativer Nachweis der Uronsäure.....	52
3.5.5	Quantitative Bestimmung des Proteingehalts.....	53
3.5.6	Bestimmung der Pigmente .....	53
3.6	Physikalische Analysemethoden.....	54
3.6.1	Bildanalyse.....	54
3.6.2	Bestimmung der Osmolalität .....	54
<b>4</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion.....</b>	<b>55</b>
4.1	Funktionalität des <i>in vitro</i> -Harnwegskathetersystems .....	55
4.2	Wachstumsverhalten der Harnwegs isolate .....	56
4.2.1	Batchkultivierungen .....	56
4.2.2	Biofilmkultivierungen im <i>in vitro</i> -Harnwegskathetersystem .....	58
4.2.2.1	Biofilmbiomasse .....	58
4.2.2.2	Substratverbrauch .....	67
4.2.2.3	Salzkonzentrationen .....	70
4.2.2.4	Phänotypische Kolonievarianten.....	73
4.2.2.5	Ausbreitung des Biofilms im <i>in vitro</i> -Harnwegskatheter- system .....	76
4.3	SCV-Kultivierungen.....	78
4.3.1	Parameterabhängige SCV-Entwicklung .....	78
4.3.2	Reinfektion des <i>in vitro</i> -Harnwegskathetersystems mit der Kolonievariante <i>P. aeruginosa</i> PA59.....	81
4.4	Biofilmkultivierungen unter Verwendung von Ciprofloxacin.....	84
4.4.1	Die Behandlung katheterassoziierter Harnwegsinfektionen.....	84
4.4.2	Biofilmentwicklung unter sublethalen Ciprofloxacin-konzentra- tionen .....	87
4.5	Biofilmentwicklung unter mechanischer Beanspruchung .....	92

4.6	Erweiterung der Messtechniken im Kultivierungssystem.....	95
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>100</b>
<b>6</b>	<b>Verzeichnisse der Abkürzungen und Symbole .....</b>	<b>103</b>
<b>7</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>105</b>
7.1	Handhabung des <i>in vitro</i> -Harnwegskathetersystems .....	105
7.1.1	Vorbereitungen.....	105
7.1.2	Inbetriebnahme .....	105
7.1.3	Probenahme.....	106
7.1.4	Medium nachfüllen .....	106
7.1.5	Reaktorabbau.....	106
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>107</b>