

# Reduktion von *Campylobacter*-Biofilmen durch DNase I

Christoph Püning, Thomas Alter, Greta Gölz

Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene, Freie Universität Berlin

## Ziel

Obwohl *Campylobacter* (*C.*) anspruchsvolle Bakterien sind, können sie auch außerhalb des Wirtes überleben, wo sie vermutlich vorwiegend in dem „lebensfähig aber nicht kultivierbaren“ (VBNC) Zustand oder in Biofilmen überdauern. Das Vorhandensein von *Campylobacter* in Biofilmen kann zu einem kontinuierlichen Eintrag in Geflügelstallungen, zu Kontaminationen während der Lebensmittelverarbeitung oder direkt zu humanen Infektionen aus Umweltquellen führen. In Biofilmen sind die Mikroorganismen von der extrazellulären polymeren Substanz (EPS) umgeben, welche sich im Allgemeinen aus Nukleinsäuren, Proteinen und Polysacchariden zusammensetzt. Diese EPS-Struktur schützt die Mikroorganismen vor widrigen äußeren Umständen und erschwert die Elimination der Mikroorganismen durch gängige Reinigungsmaßnahmen. In dieser Studie wurde die Effektivität der DNase-Behandlung zur Reduktion von Biofilmen untersucht.

## Ergebnisse

Insgesamt bildete *C. jejuni* deutlich weniger Biofilmmasse als *P. aeruginosa*. Weiterhin zeigten die Dual-Spezies-Biofilme keine erhöhte Biofilmmasse im Vergleich zu *P. aeruginosa* Mono-Spezies-Biofilmen (Abb.1).

Die Behandlung von etablierten Biofilmen mit DNase I in Wasser ohne vorherigen Waschschrift (I) ergaben eine signifikante Reduktion von 80 – 90 % für *C. jejuni*-Biofilme und 40 – 60 % für *P. aeruginosa*- sowie für die Dual-Spezies-Biofilme (Abb.1).

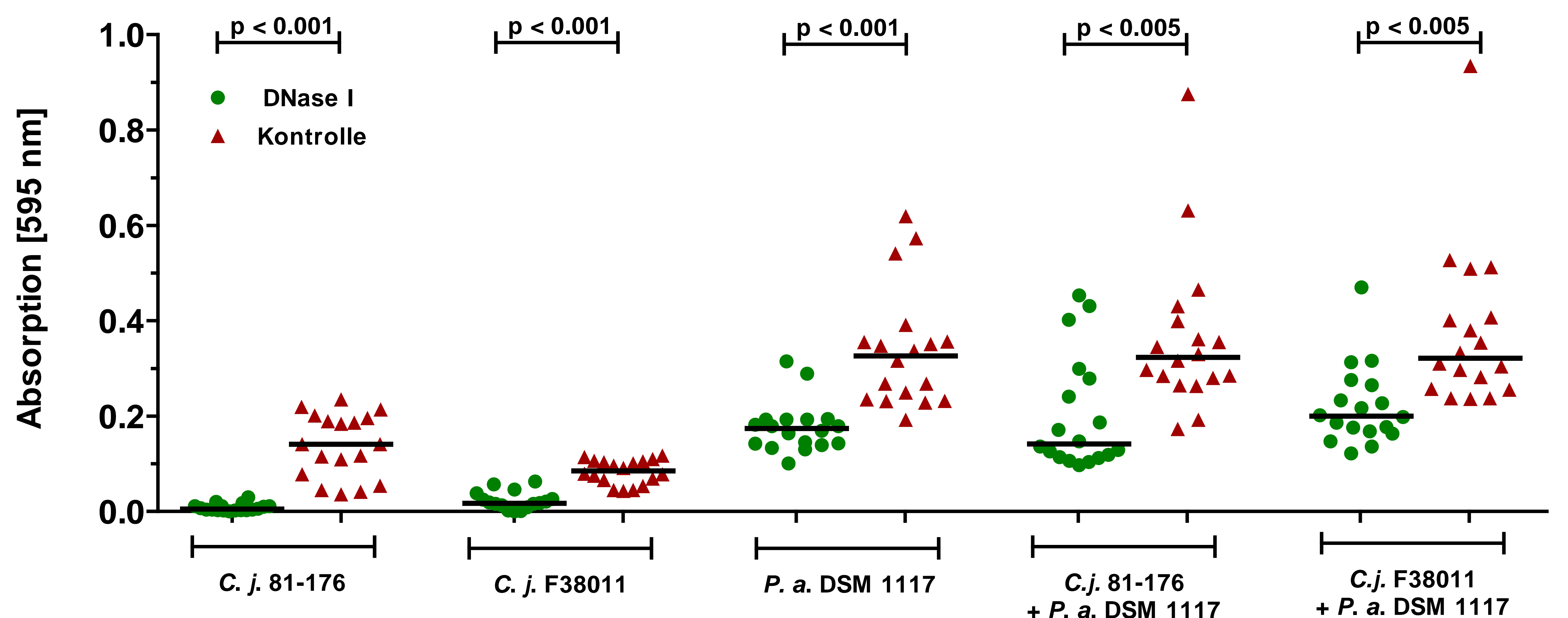


Abbildung 1: Biofilmmasse etablierter Biofilme mit und ohne DNase I Behandlung.

Die DNase I-Behandlung von Mono- und Dual-Spezies-Biofilmen wurde ohne vorherigen Waschschrift (I) in Wasser durchgeführt. Dargestellt sind die Ergebnisse drei unabhängiger Experimente mit dem Median. Die statistische Analyse erfolgte mit einem zweiseitigen Mann-Whitney U-Test und einem 95%igen Konfidenzintervall.

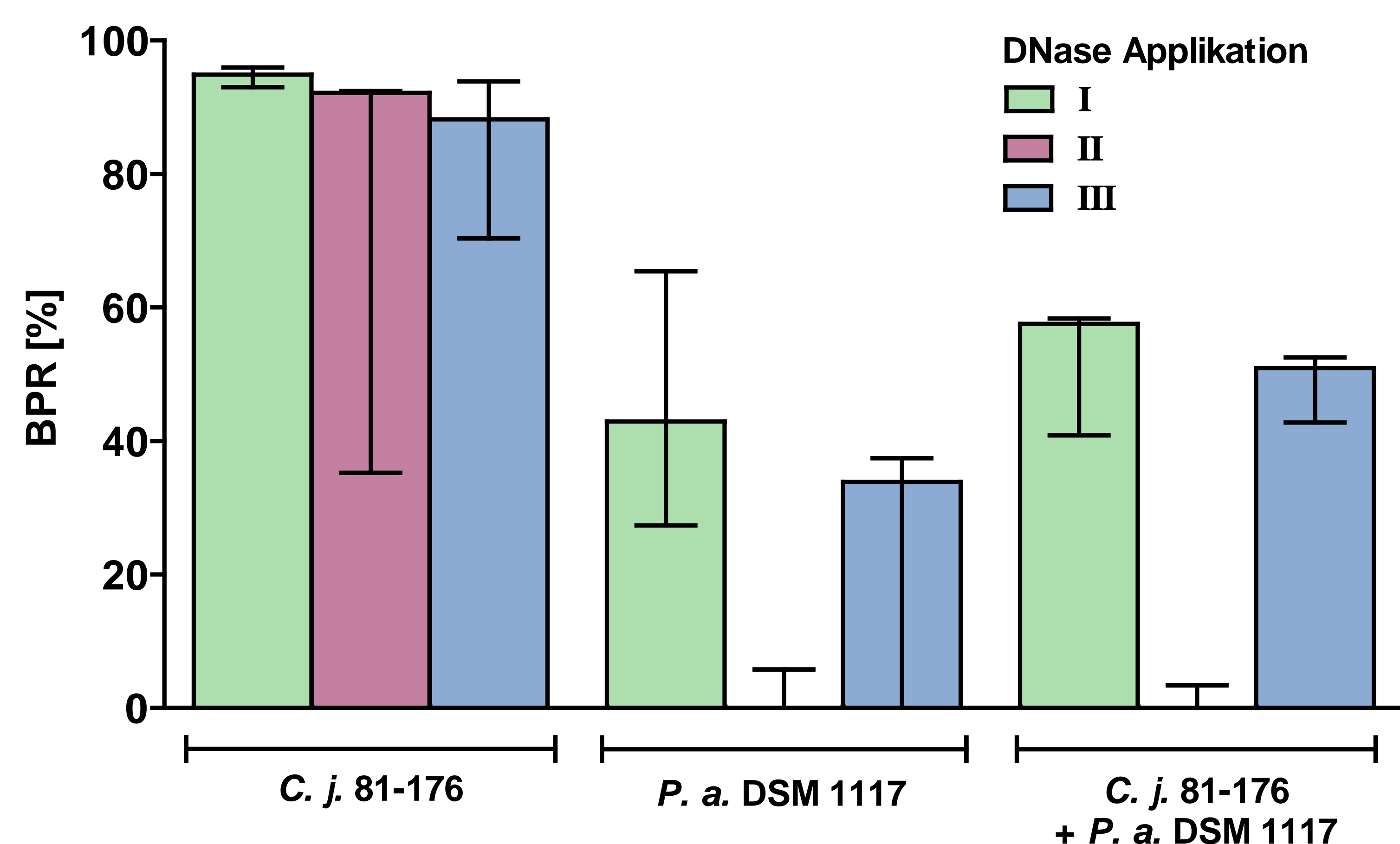


Abbildung 2: Prozentuale Reduktion der Biofilmmasse (BPR) durch verschiedene DNase I Behandlungen.

Dargestellt sind die berechneten prozentualen Reduktionen drei unabhängiger Experimenten mit dem Median  $\pm$  Ober- und Untergrenze.

## Material und Methoden

**Bakterienstämme:** Die Experimente wurden mit den Stämmen *C. jejuni* 81-176 pMW1007-gfp (freundlicherweise von Prof. Backert, FAU, zur Verfügung gestellt)<sup>[1]</sup>, *C. jejuni* F38011 (freundlicherweise von Prof. Lu, UBC, zur Verfügung gestellt) und *Pseudomonas* (*P.*) *aeruginosa* DSM 1117 durchgeführt.

**Biofilm-Messung:** Mono-Spezies-Biofilme sowie Dual-Spezies-Biofilme beider Spezies wurden in sterilen 96-Well-Polystyrol-Mikrotiterplatten in Mueller-Hinton-Boullion für 72h bei 37°C unter mikroaeroben Bedingungen bebrütet. Anschließend wurde die Biofilmmasse durch Kristallviolettffärbung und Messung der Absorption bestimmt.

**DNase Behandlung:** Nach der Entfernung des Überstandes der etablierten Biofilme wurden die Wirksamkeit drei verschiedener DNase I-Applikationen untersucht (2 U/ml): DNase I in Wasser I) ohne vorherigen Waschschrift, II) nach einem vorherigen Waschschrift oder III) in DNase-Puffer nach einem vorherigen Waschschrift. Die Effektivität der DNase-Applikation ist als prozentuale Reduktion der Biofilmmasse im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle berechnet worden.

Wurden die etablierten Biofilme, vor der Behandlung mit DNase I in Wasser, gewaschen (II), war nur bei den *C. jejuni* Mono-Spezies-Biofilmen eine Reduktion der Biofilmmasse zu beobachten. Wurden die gewaschenen Biofilme jedoch mit DNase I in einem geeigneten Puffer, inklusive  $MgCl_2$ , (III) behandelt, konnte für alle Biofilmvariationen eine Reduktion der Biofilmmasse erzielt werden (Abb. 2).

## Schlussfolgerung

Diese Daten deuten darauf hin, dass die Wirksamkeit von Reduktionsstrategien erheblich von der mikrobiellen Zusammensetzung der Biofilme und somit auch von der Zusammensetzung der EPS-Struktur beeinflusst wird.

Darüber hinaus sind definierte Bedingungen für die DNase I Applikation zu nutzen, um vorhandenen Biofilme effizient zu reduzieren.

## Danksagung

Diese Studie wurde vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (PAC-Campy, Förderkennzeichen 01K11725A/C) gefördert.



## Referenz

1. Krause-Gruszczynska, M., et al., Cell Microbiol, 2007. 9(10):

