

Bakterielle Biofilme

Teil 1: Vorkommen, Entstehung und Mechanismen

H. D. Hoppe

Einleitung

Bakterien stellen die ältesten Lebewesen auf unserem Planeten dar. Über den ältesten Fund berichten Vreeland et al. 2000 im Wissenschaftsjournal Nature. Ihnen gelang es, ein Bakterium zu reaktivieren, das 250 Millionen Jahre in einem Salzkristall eingeschlossen war. Damit wird deutlich, warum Bakterien zu den erfolgreichsten Lebensformen der Erde zählen. Selbst nach Millionen von Jahren können diese Mikroorganismen noch ihre Lebensfähigkeit erhalten.

Nachweise lassen sich bis zu 320 Milliarden Jahre zurück verfolgen. So sind an der australischen Küste die ältesten Versteinerungen von bakteriellen Biofilmen zu finden [12]. Auch in Deutschland können derartige Ablagerungen besichtigt werden. Im Nordostharz (Sachsen-Anhalt) im Gebiet um Halberstadt sind 240 Millionen Jahre alte Stromatolithen zu besichtigen (Abb. 1).

Lebensräume von Bakterien

In der traditionellen mikrobiologischen Forschung liegt der Fokus auf der Untersuchung von einzelnen Zelllinien. In der Natur existieren Bakterien allerdings überwiegend innerhalb von Biofilmen [4]. Diese Bakteriengemeinschaften sichern eine ausreichenden

de Nährstoffzufuhr und die Erhaltung der Art.

Die Ausbildung von Biofilmen basiert auf dem physikalischen Prinzip der Grenzflächenhaftung. Sie bilden sich in der Regel in wässrigen Systemen an der Grenzfläche zu einer festen Phase. Überall zu beobachten sind diese Besiedlungen an Steinen in Bächen und Flüssen (Abb. 2). Bakterien bilden eine glitschige Oberfläche, den Biofilm, filtern damit Nährstoffe für ihr Überleben aus dem Wasser und leisten einen Beitrag zur Gewässerreinigung.

Selbst in der häuslichen Umgebung werden wir damit konfrontiert. Winzige Nahrungsreste in Wischlappen bieten günstige Bedingungen für die Entwicklung von Biofilmen. In den Abwasserrohren von Duschen und Waschbecken sind ebenfalls diese Filme zu beobachten (Abb. 3).

Cyanobakterien produzieren Sauerstoff und erlauben damit erst die Möglichkeit der menschlichen Besiedlung unseres Planeten. Pflanzen (Leguminosen) gehen Symbiosen mit Bakterien ein und nutzen deren Vermögen, Stickstoff zu binden, für ihre Ernährung. Durch mikrobielle Fermentation werden Lebensmittel hergestellt, zum Beispiel Käse oder Joghurt.

Einen weiteren Lebensraum für bakterielle Biofilme stellen Trinkwasserverteilungssysteme dar. An potentiellen pathogenen Erregern sind insbesondere *Legionella pneumophila* und *Pseudomonas aeruginosa* zu nennen [2]. *P. aeruginosa* zählt zu den Erregern von Wundinfektionen. Untersuchungen innerhalb eines Bundesforschungsprojektes zu Biofilmen in der Trinkwasserversorgung in Deutschland haben gezeigt, dass mit den Standardanalyseverfahren nach der deutschen



Abbildung 1
240 Millionen Jahre alte Stromatolithen im Huy (Wilhelmshall) bei Halberstadt.

Trinkwasserverordnung die Besiedlung mit den genannten Keimen weit unterschätzt werden [2].

Ohne Bakterien wäre eine Existenz des Menschen nicht denkbar. Der Mensch befindet sich in einer unsichtbaren Partnerschaft bzw. Symbiose mit diesen Mikroorganismen. In und auf unserem Körper tragen wir ca. 100 Trillionen Bakterienzellen. In unserem Darm befinden sich rund ein bis zwei Kilogramm Bakterien [1]. Große Teile unserer Nahrung werden erst durch Bakterien aufgeschlossen und dem menschlichen Körper zur Verfügung gestellt. Darmbakterien produzieren essentielle Vitamine, wie B 12 [10].

Die residente Mikroflora unserer Haut ist Bestandteil unseres Immun-



Abbildung 2
Biofilm (graue Beläge) am Randbereich eines Gewässers.

Dr. Heinz-Dieter Hoppe
HoppeConsult, Geschäftsführung
Pölle 27/28, 06484 Quedlinburg
E-Mail: hoppe@wundheilung.net



Abbildung 3
Biofilm (dunkle Beläge) an einem Wasserablaufrohr.

systems und schützt den menschlichen Körper vor einer Besiedlung mit pathogenen Keimen [7].

Definition Biofilm

Nach Percival et al. 2011 sind Biofilme sich selbst regulierende, komplexe mikrobielle Ökosysteme, die in ihrer Struktur und Zusammensetzung je nach Ort ihres Auftretens stark variieren [8]. Die Mikroorganismen haften an einer Oberfläche (Grenzfläche) und sind von einer organischen Polymermatrix umgeben. Neben mikrobiellen Zellen können sich azelluläre Bestandteile, wie Mineralien, Korrosionspartikel, Ton- oder Lehm-partikel, als auch Blutbestandteile in der Matrix befinden.

Lebenszyklus eines Biofilms

Um Bakterien eine Besiedlung von Grenz- bzw. Oberflächen zu ermöglichen, bedarf es bestimmter Voraussetzungen [8]:

1. Die Grenzfläche muss sich im Kontakt mit Wasser oder feuchter Luft befinden.
2. Frei schwimmende Bakterien müssen anwesend sein.
3. Nährstoffe für das Wachstum der Bakterien müssen zur Verfügung stehen.

All diese Bedingungen werden hervorragend in chronischen Wunden erfüllt. Der Wundgrund steht in enger Verbindung zum Wundexsudat. Zerstörte Gewebsreste, eiweißhaltiges Substrat stehen als Nahrungsquelle zur Verfügung.

Diese Voraussetzungen werden als konditionierter Film bezeichnet [8]. Nur auf einer vorbereiteten, also mit Nährstoffen besetzten, Oberfläche können

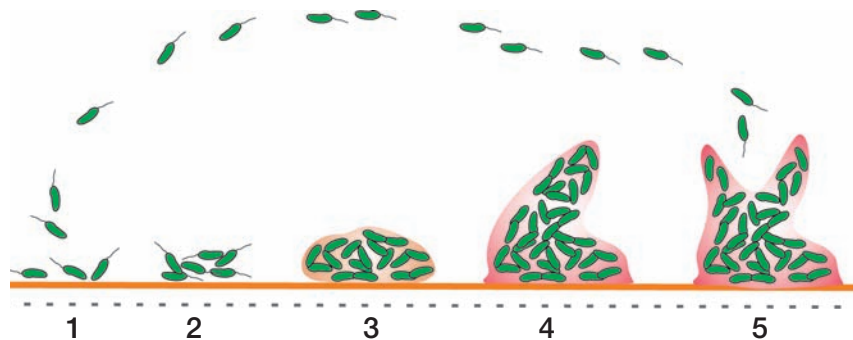


Abbildung 4

Lebenszyklus eines Biofilms: 1. Planktonische (freischwimmende) Bakterien besiedeln eine Oberfläche, 2. Reversible Bindung an die Oberfläche, 3. Irreversible Bindung und Produktion von Komponenten der extrazellulären Matrix, Bakterien werden immobil, 4. Ausgereifter Biofilm, 5. Ablösung und Verbreitung von planktonischen Bakterienzellen.

sich frei schwimmende Bakterien anheften und zu einem Biofilm entwickeln.

Die eigentliche Adhäsion der Bakterien erfolgt in zwei Schritten, der reversiblen und irreversiblen Phase [8]. In der reversiblen Phase ist nur ein lockeres Anheften zu beobachten, während in der irreversiblen Phase eine dauerhafte Bindung an die Oberfläche stattfindet. Zunächst wird ein Kontakt zur Oberfläche mittels Pili und Fimbrien (Haar-ähnlichen Gebilden auf der Zelloberfläche) hergestellt.

Bakterien fördern diesen Bindungsprozess durch Bildung von spezifischen Adhäsinen, welche an Rezeptoren des Substrats (konditionierter Film) und der extrazellulären Matrix binden. Während der Adhäsion wird die extrazelluläre Matrix (EPS – extrazellulär polymeric substances) gebildet. Die EPS, bestehend aus Polysacchariden, Proteinen, Nukleinsäuren und Lipiden, bildet die dreidimensionale Struktur des Biofilms [3].

Die Matrix bietet den Mikroorganismen Schutz vor äußeren Einflüssen, mechanischer Beanspruchung und Nahrung.

Das Anheften der mikrobiellen Zellen ist nur das Initialstadium der Biofilmbildung. Darauf folgt mikrobielles Wachstum und die Produktion und Akkumulation von extrazellulären Polymeren. Die Bakterien werden in eine hydratisierte Polymermatrix eingebettet und immobil. Bedingt durch ihre Immobilität sind die Mikroorganismen auf den Substratfluss innerhalb des

Biofilms und der Interaktion mit Nachbarzellen angewiesen. Das heißt, dass Nährstoffe über spezielle Kanäle in der Matrix transportiert und/oder Nachbarzellen ausgetauscht werden [8]. Innerhalb der EPS können sich unterschiedliche Bakterienarten ansiedeln, die eine physiologische Kooperation eingehen. Die synergistischen Interaktionen zwischen den eingebetteten Mikroorganismen haben weitreichende Bedeutung für den Bestand und Schutz der Einzeller innerhalb des Biofilms (siehe Bakterielle Biofilme Teil 2 – Chronische Wunden).

Das mikrobiologische Ökosystem Biofilm befindet sich jetzt auf seinem Höhepunkt, in einer stabilen Phase, im Sinne von Wirt-Biofilm-Balance [6]. Durch unterschiedliche Einflüsse, zum Beispiel Knappheit an Nährstoffen, pH-Wert Verschiebungen, mechanische Belastungen oder Applikation von Antinfektiva kommt es zur Abtragung einzelner Bakterien, ganzer Kolonien oder Abrieb (Sloughing, Erosion und Abrasion)[8]. Es bilden sich planktonische Tochterzellen, die zu einer erneuten Verbreitung der Bakterien und Neubildung von Biofilm führen [5] (Abb. 4).

Kommunikation zwischen Bakterienzellen

Die Interaktionen zwischen einzelnen Bakterienzellen laufen nicht automatisch ab, sondern die Mikroorganismen nutzen dafür ein eigenes Kommunikationssystem. Diese Zell-zu-Zell Kommunikation basiert auf der Über-

tragung von chemischen Signalen und wird Quorum sensing genannt [10]. Signalmoleküle werden kontinuierlich von Bakterienzellen produziert und nach außen abgegeben. Sich in der Nähe befindliche andere Bakterien registrieren und zählen über spezielle Rezeptoren die Moleküle. Die Bakterien haben damit eine Form zur Messung der eigenen Populationsdichte entwickelt. Wenn eine bestimmte Anzahl der Signalmoleküle überschritten wurde, weiß der Einzeller, dass er nicht mehr allein, sondern zu Tausenden versammelt ist. Daraufhin werden physiologische Aktivitäten induziert, zum Beispiel haftet sich jetzt die Bakterienzelle an einer Oberfläche an [10] oder es entwickelt sich eine Infektion im Wirtsorganismus [13].

Diese Fähigkeit zur Messung der Populationsdichte kann exemplarisch an einer nicht pathogenen Symbiose zwischen marinen Leuchtbakterien (*Vibrio fischeri*) und Zwergtintenfischen (*Euprymna scolopes*) dargestellt werden [9].

Euprymna scolopes (Abb. 5) hat in seiner adulten Form eine Größe von ca. 3–4 cm. Er lebt in flachen Küstengewässern vor Hawaii und ist nachtaktiv. Tagsüber vergräbt er sich im Sand. Der Tintenfisch besitzt ein sogenanntes Leuchtorgan, in dem sich biolumineszierende Bakterien, der Art *Vibrio fischeri* befinden. Tagsüber teilen sich die Bakterien und produzieren Signalmoleküle. Nach Sonnenuntergang, wenn der Tintenfisch auf Jagt geht, hat die Anzahl der Signalmoleküle und dementsprechend die Bakterienpopulation eine hohe Dichte erreicht. Wenn die Molekülzahl einen bestimmten Wert



Abbildung 5
Euprymna scolopes, ein Zwergtintenfisch, der eine Symbiose mit marinen Leuchtbakterien eingeht. Copyright by Mattias Ormestad / azote.se.

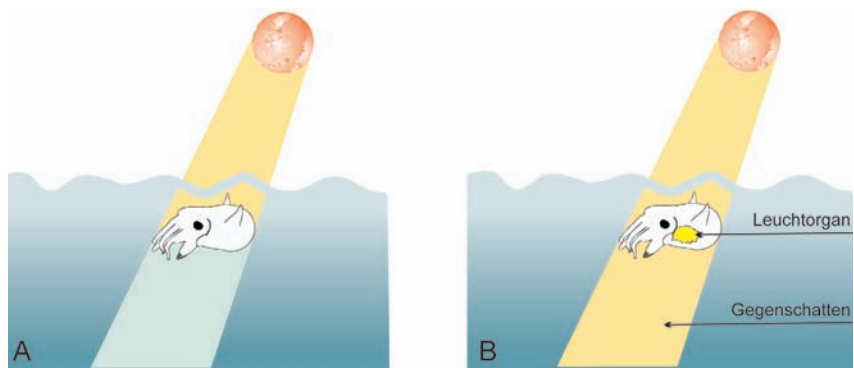


Abbildung 6

A: Tintenfisch ohne Leuchtorgan. Unter dem Tintenfisch bildet sich ein Schatten, so dass er von seinen Fressfeinden gesehen werden kann.

B: Der Zwergtintenfisch *Euprymna scolopes* schützt sich vor seinen Fressfeinden durch die Bildung von Gegenschatten mit Hilfe biolumineszierender Bakterien (*Vibrio fischeri*), (verändert nach Ruby 1996).

überschreitet, fangen die Bakterien an zu leuchten.

Die Biolumineszenz von *Vibrio fischeri* ist für den Zwergtintenfisch lebenserhaltend. Bei Mondlicht entsteht am Meeresgrund ein Schatten, wenn *Euprymna scolopes* angestrahlt wird. Durch das Leuchten der Bakterien wird Licht zum Meeresgrund abgegeben und es entsteht ein Gegenschatten (Abb. 6). Fressfeinde des Tintenfisches erkennen diese Beute nicht.

Am Morgen, zum Sonnenaufgang, pumpt *Euprymna scolopes* den größten Teil der Bakterien aus seinem Leuchtorgan und vergräbt sich im Sand. *Vibrio fischeri* hat den ganzen Tag Zeit um sich zu vermehren und am Abend wieder zu erstrahlen.

An diesem Beispiel wird deutlich, wie effektiv die Natur im Laufe der Evolution sinnvolle Symbiosen entwickelt. Der Zwergtintenfisch kann sich vor seinen Fressfeinden schützen und die Bakterien erhalten eine ökologische Nische mit Nahrung.

Literatur

1. BORK P: Bakteriengemeinschaften im Darm. Spektrum der Wissenschaft, Januar 2012: 19–21.
2. FLEMMING HC: BMBF-Verbundprojekt „Biofilme in der Trinkwasser-Installation“. Version 2.1, 2010a.
3. FLEMMING HC, WINGENDER J: The biofilm matrix. Nature Reviews 2010b, Microbiology, Vol. 8: 623–633.
4. KORBER, DR, LAWRENCE JR, LAPPIN-SCOTT HM, COSTERTON JW: Growth of Microorganisms on Surfaces. In: Lappin-Scott, H.M.; Costerton, J.W.: Microbial Biofilms. Cambridge University Press 1995: 15–45.
5. MCDUGALD D, RICE SA, BARRAUD N, STEINBERG PD, KJELLEBERG S: Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. Nature Reviews Microbiology, AOP, published online 28 November 2011; doi:10.1038/nrmicro2695: 1–12.
6. PERCIVAL, SL, DOWD SE: The Microbiology of Wounds. In: Percival, S.L. and Cutting, K. (Hrsg.): Microbiology of Wounds. Taylor and Francis Group 2010: 187–217.
7. PERCIVAL SL, EMANUEL C, CUTTING KF, WILLIAMS DW: Microbiology of the skin and the role of biofilms in infection. Int Wound J 2012; 9: 14–32.
8. PERCIVAL SL, MALIC S, CRUZ H, WILLIAMS DW: Introduction to Biofilms. In: Percival, S.L.; Knottenbelt, D.C.; Cochrane, C.A. (Eds.): Biofilms and Veterinary Medicine. Springer 2011: 41–68.
9. RUBY EG: Lessons from a cooperative, bacterial-animal association: The *Vibrio fischeri*-*Euprymna scolopes* light organ symbiosis. Annu. Rev. Microbiol 1996; 50: 591–624
10. SLONCZEWSKI JL, FOSTER JW: Microbiology. An Evolving Science. 2nd ed. W. W. Norton & Company New York 2011.
11. VREELAND RH, ROSENZWEIG WD, POWERS DW: Isolation of a 250 million-year-old halotolerant bacterium from a primary salt crystal. Nature 2000. Vol. 407: 897–200.
12. WACEY D, KILBURN MR, SAUNDERS M, CLIFF C, BRASIER MD: Microfossils of sulphur-metabolizing cells in 3.4-billion-year-old rocks of Western Australia. Nature Geoscience 2011; 4: 698–702.
13. WILLIAMS P, WINZER K, CHAN WC, CÁMARA M: Look who's talking: communication and quorum sensing in the bacterial world. Phil. Trans. R. Soc. B 2007, 362: 1119–1134.