

Biofilme – die etwas andere Lebensweise

Ulrich Szewzyk, FG Ökologie der Mikroorganismen, TU Berlin

Regine Szewzyk, Umweltbundesamt

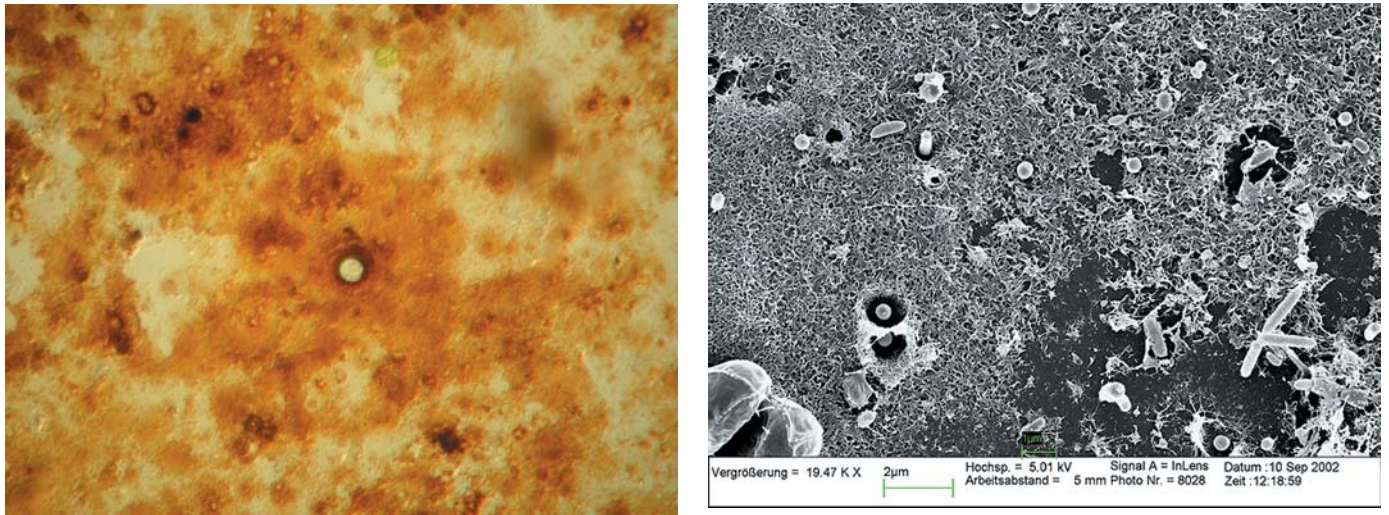


Abb. 1: Biofilme aus der Oder nach zwei Wochen Expositionszeit. a) Lichtmikroskopische Darstellung der Eisenoxid-Ablagerungen im Bereich des Holdfasts von *Leptothrix*. b) Rasterelektronenmikroskopische Darstellung des Holdfasts von *Leptothrix* sp. mit Basiszelle, aus welcher der spätere Zellfaden hervorgeht.

An allen Grenzflächen in der Natur und in technischen Systemen, die ausreichend Wasser enthalten, kommen angeheftete Mikroorganismen (Biofilme) vor. Biofilme stellen die bei weitem wichtigste Lebensweise von vielen Mikroorganismen dar und sind entscheidend an wichtigen Stoffumwandlungen und Stoffkreisläufen beteiligt. In technischen Anlagen können Biofilme einerseits Materialzerstörungen (Biodegradation, Korrosion) und Verstopfungen verursachen, andererseits aber auch in diversen Reaktoren in biotechnologischen Verfahren eingesetzt werden. Die grundlegenden Mechanismen, die an der Entwicklung und Erhaltung von Biofilmen beteiligt sind, werden durch eine Kombination mikroskopischer, mikrobiologischer und molekulargenetischer Methoden immer besser verstanden. Es zeichnet sich deutlich ab, dass neben dem Fraß durch tierische Weidegänger und Protozoen die Interaktion und Kommunikation zwischen Mikroorganismen von entscheidender Bedeutung für die Entwicklung von Biofilmen sind.

Über die Definition des Begriffs Biofilm ist in den letzten Jahren viel diskutiert worden. In diesem Artikel sollen darunter mikrobielle Lebensgemeinschaften an Grenzflächen mit einer wässrigen Phase verstanden werden. Solche Lebensgemeinschaften wurden in Form des Aufwuchses auf festen Oberflächen (meist wurden Objektträger exponiert) oder der Grenzfläche Wasser-Luft (Kahmhaut) schon vor gut 150 Jahren intensiv mikroskopisch untersucht. Die Beschreibung konzentrierte sich damals jedoch meist auf die mikroskopischen Protozoen, Tiere und Pflanzen, während prokaryotische Mikroorganismen kaum beachtet wurden. Erst im Verlauf des 20. Jahrhunderts wurden Bakterien und Archaea als wichtige, häufig sogar dominierende Komponenten der Biofilme erkannt.

Auf Bakterienflocken, zum Teil als treibende Biofilme bezeichnet, und auf Biofilme an der Grenzfläche Wasser-Luft wird in diesem Artikel nicht explizit eingegangen, obwohl viele der Betrachtungen und Theorien auch für diese Strukturen mehr oder weniger zutreffen.

Vorkommen und Struktur von Biofilmen

► Umfangreiche Untersuchungen selbst exotischer Lebensräume in den letzten Jahrzehnten (heiße Quellen, tiefe geologische Formationen, Antarktis, marine Sedimente, technische Anlagen) belegten übereinstimmend das ubiquitäre Vorkommen von Biofilmen in allen wässrigen Systemen. In manchen Lebensräumen scheint das Leben an Grenzflächen sogar die bei weitem überwiegende Lebensweise der Organismen darzustellen. Typische Beispiele sind Systeme mit hohen Anteilen an Grenzflächen wie zum Beispiel Sedimente, Böden, geologische Formationen, die Gewebe von Metazoen und Pflanzen, aber auch technische Installationen (z. B. Trinkwasserleitungen). Die wahrscheinlich am intensivsten untersuchten Biofilme stammen aus der medizinischen Mikrobiologie und sind mit persistierenden Infektionen und der Besiedlung von Implantaten und Kathetern verknüpft^[1]. Auf diese speziellen Biofilme soll hier nicht im Detail eingegangen werden.

Die wichtigsten Komponenten, aus denen sich Biofilme aufbauen, sind die Zellen der Mikroorganismen und die sie umhül-

lende Schleimmatrix – auch EPS (extrazelluläre, polymere Substanzen) genannt – sowie darin integrierte anorganische Bestandteile. Obwohl man annehmen sollte, dass die Zellen selbst an erster Stelle wahrgenommen wurden, waren es häufig die anorganischen Bestandteile, die dem Betrachter auffällig erschienen und oft fälschlicherweise als Produkt rein chemischer Prozesse eingestuft wurden. Typische Beispiele sind die Biofilme, die sich auf den Filtern zur Enteisung und Entmanganung bei der Trinkwasseraufbereitung entwickeln. Die in diesen Filtern lebenden Bakterien, die auch in natürlichen Habitaten eine wichtige und vermutlich deutlich unterschätzte Rolle bei der Eisenoxidation spielen, werden typischerweise an den Einlagerungen von Eisen- beziehungsweise Manganoxiden in der Umgebung der Zellen erkannt. Obwohl die Aktivität von solchen eisen- und manganoxidierenden Bakterien in Wasserfiltern schon seit gut 100 Jahren bekannt ist, werden selbst heute noch entsprechende Filter unter dem Gesichtspunkt der chemischen Oxidation betrieben. Ein Beispiel für eisenablagernde Bakterien in einem Biofilm aus der Oder ist in *Abb. 1* dargestellt. In der Gegenüberstellung von lichtmikroskopischem und rasterelektronenmikroskopischem Bild sieht man deutlich die enge Verknüpfung der mineralischen Bestandteile und der EPS, die gemeinsam eine strukturelle Komponente des sich entwickelnden Biofilms bilden^[2].

Biofilme mit wenig anorganischen Einlagerungen werden für den Betrachter meist erst dann auffällig, wenn sie eine bestimmte Dicke überschritten haben und sich aufgrund der EPS-Ausscheidungen eine dicke Schleimschicht gebildet hat.

Die EPS spielen als Reaktionsraum eine entscheidende Rolle. Durch die teilweise oder komplette Immobilisierung von Exoenzymen in der unmittelbaren Umgebung der Zelle kann die Effizienz des Abbaus, zum Beispiel von partikulärem Material, deutlich verbessert und die Aufnahme von Spaltprodukten begünstigt werden. Besonders wichtig sind diese Fähigkeiten im Hinblick auf die Zerstörung von Materialien^[3]. Obwohl auch diese Problematik schon seit längerer Zeit bekannt ist, kommt es immer noch zum Einsatz von Materialien, zum Beispiel im Trinkwasser, die von adhären Bakterien angegriffen und teilweise abgebaut werden können. Dies hat die Bildung dicker Biofilme (*Abb. 2*) und dadurch bedingt eine massive Aufkeimung des sonst einwandfreien Wassers im Bereich dieser Materialien (Duschschläuche, flexible Verbindungen in Installationen) zur Folge.

Unabhängig davon, ob anorganische Materialien eingelagert wurden oder nicht, sind Biofilme in ihrem Aufbau typischerweise



Abb. 2: Biofilm auf der Innenseite eines handelsüblichen Duschschlauchs nach 14-tägigem Durchströmen mit Trinkwasser. Durch die oft großen Mengen an bioverfügbaren Substanzen in den Schläuchen entwickeln sich dicke Biofilme, in denen große Mengen an Amöben, potenzielle Wirte für Legionellen, vorkommen.

sehr heterogen und weisen beispielsweise keine einheitliche Dicke auf.

Vorteile des Lebens im Biofilm

Die unterschiedlichen Lebensbedingungen planktischer und adhären Zellen sind wiederholt dargestellt worden. Als einer der wichtigsten Vorteile des Lebens in Biofilmen gilt die in der Regel bessere Versorgung mit metabolisierbaren Substraten an einer Oberfläche durch die ständige Adsorption und die dadurch erfolgende Konzentrierung der Moleküle (Antenneneffekt).

Auch der Schutz der adhären Zellen im Vergleich zu planktischen Zellen im Hinblick auf die Wirksamkeit von Antibiotika oder Desinfektionsmitteln ist gut dokumentiert. Während suspendierte Bakterien mit Antibiotika und Desinfektionsmitteln relativ leicht abgetötet werden können, lassen sich Bakterien in Biofilmen nur sehr schwer oder gar nicht abtöten. Dies liegt nicht nur an der Diffusions- beziehungsweise Reaktionsbarriere, die die EPS darstellen, sondern auch an dem unterschiedlichen physiologischen Zustand, in dem sich Bakterien in Biofilmen befinden^[4]. Das Versagen von vielen Antibiotika zur Bekämpfung von Bakterien in Biofilmen (z. B. auf Implantaten) führte zur Entwicklung von Testsystemen mit Oberflächen-assoziierten Bakterien. Entsprechende Methoden zur Testung von Desinfektionsmitteln sind noch nicht in aller Konsequenz umgesetzt.

Mischpopulationen – Interaktionen

Durch die enge räumliche Nähe und relative Konstanz der Nachbarschaft bestimmter

Bakterien, können sich Gemeinschaften entwickeln, die in komplexer Weise kooperieren und interagieren. Ein klassisches Beispiel für die Kooperation von Mikroorganismen sind Abbauprozesse, die nur oder zumindest begünstigt durch Mischpopulationen durchgeführt werden können. Die am besten untersuchten Beispiele sind die syntrophischen Beziehungen anaerober Bakterien (interspecies hydrogen transfer)^[5] und der Co-Metabolismus beim Abbau von Schadstoffen.

Ein weiteres Beispiel für die Interaktion von Bakterien in Biofilmen ist das Wachstum von Bakterien, die hohe Nährstoffansprüche stellen, in für sie unwirtlicher, da nährstoffarmer Umgebung. So konnte gezeigt werden, dass sich Stämme von *Escherichia coli* in Biofilmen von Umweltbakterien vermehren können, obwohl sie im freien Wasser nicht wachsen konnten. Es wird angenommen, dass die Umweltbakterien in den Biofilmen Nährstoffe abgeben, die von *E. coli* zum Wachstum benötigt werden^[6,7]. Auch für einige humanpathogene Bakterien sind Biofilme ideale Habitate. Legionellen, die beim Menschen eine schwere Form der Lungenentzündung auslösen können, vermehren sich intrazellulär in Amöben in Biofilmen. Im freien Wasser können sie zwar lange Zeiten überleben, aber nicht wachsen^[8]. Für solche Interaktionen sind in der Regel dicke Biofilme notwendig, wie sie etwa in der Hausinstallation auftreten können. In dünnen Biofilmen, wie sie typischerweise in nährstoffarmen Trinkwassernetzen auftreten, spielen solche Prozesse kaum eine Rolle, wie in einem kürzlich abgeschlossenen, vom BMBF geförderten Verbundprojekt gezeigt werden konnte.

Struktur-Funktionsbeziehungen

Zwei wesentliche Charakteristika von Biofilmen haben in den letzten Jahren zunehmend das Interesse der Forschung auf sich gezogen: die Dynamik und die Heterogenität von Biofilmen. Um die Modellbildung zu erleichtern, waren Biofilme oft als statische Strukturen mit homogenem Aufbau betrachtet worden. Inzwischen haben viele Untersuchungen belegt, dass sie sowohl hinsichtlich ihrer räumlichen Struktur als auch ihrer Artenzusammensetzung und des chemischen Aufbaus starken zeitlichen Schwankungen unterliegen. In der Diskussion, welche Faktoren maßgeblich für diese ständigen Veränderungen, aber auch für die Ausbildung konkreter Strukturen verantwortlich sind, wurden lange Zeit hydrodynamische Kräfte als hauptverantwortlich eingestuft. Eine aktive Beteiligung der Mikroorganismengemeinschaft an der Ausbildung räumlicher Strukturen war zunächst nicht in Betracht gezogen worden. Die Fähigkeit von Mikroorganismen zur inner- und zwischenartlichen Kommunikation und Interaktion erbrachte zunehmend Hinweise für eine Beteiligung biologischer Prozesse an der Strukturbildung^[9]. Die den optimalen Austausch von Metaboliten ermöglichende Anordnung von Zellen in Biofilmen und Aggregaten sowie die Bedeutung von Wachstum und aktiver Ablösung von Zellen eines Biofilms wurden in den letzten Jahren als strukturbestimmende biologische Faktoren erkannt^[10]. So besitzen Bakterien in Biofilmen unter anderem die Fähigkeit, sich aktiv aus dem Biofilmverband zu lösen und als Schwärmer in die freie Wasserphase und damit möglicherweise in neue, günstige Habitate zu gelangen^[11, 12]. Schwärmerzellen und Biofilm-bildende Zellen unterscheiden sich bei diesem Lebenszyklus nicht nur physiologisch sondern oft auch morphologisch^[11].

Wichtige Parameter für diese dynamische Entwicklung von Biofilmen sind die Konzentration und Qualität verwertbarer organischer Verbindungen. Die Menge der verfügbaren organischen Substanzen entscheidet nicht nur über den momentanen Aktivitätszustand der Zellen, sondern kann auch den Eintritt in ein anderes Stadium des Lebenszyklus induzieren. Änderungen in der Substratkonzentration können bewirken, dass Zellen in Ruhestadien oder VBNC („viable but not culturable“-)Stadien übergehen, sich aktiv von der Oberfläche ablösen und in planktische Stadien (Schwärmer) übergehen oder dass Schwärmer sich an Grenzflächen anlagern^[13, 14].

Die Entdeckung der Kommunikation von Bakterien mit Hilfe von Autoinducern (z. B. Acyl-Homoserinlaktone) warf die Frage nach

der Bedeutung dieser Kommunikation für die Bildung und Strukturierung von Biofilmen auf, in denen sich Bakterien in enger räumlicher Nähe zueinander befinden. Neuere Untersuchungen zeigen, dass Autoinducer, obwohl ihre Wirkung artabhängig ist, generell für die Steuerung der Biofilmbildung wichtig zu sein scheinen^[15–17].

Die Kommunikation von Bakterien untereinander, die dynamischen Austauschprozesse zwischen den Phasen, Wachstumsprozesse und Fraß durch Protozoen und tierische Weidegänger bestimmen also neben den hydrodynamischen Verhältnissen wesentlich die mikro- und makroskopische Struktur der Biofilme.

Das Wissen um diese Prozesse und ihre weitere Erforschung werden neue Wege öffnen zum besseren Verständnis der Biofilm-Lebensweise.

Literatur:

- [1] Götz, F. (2002) *Mol.Microbiol.* 43, 1367–1378
- [2] Gehrke, T., Hallmann, R., Kinzler, K. und Sand, W. (2001) *Water Sci.Technol.* 43, 159–167
- [3] Morton, L. H. und Gaylarde, C. C. (2001) *Culture* 22, 1–8
- [4] Gilbert, P., Collier, P. J. und Brown, M. R. (1990) *Antimicrob.Agents Chemother.* 34, 1865–1868
- [5] Noguera, D. R., Pizarro, G., Stahl, D. A. und Rittmann, B. E. (1999) *Wat.Sci.Tech.* 39, 123–130
- [6] Szewzyk, U., Manz, W., Amann, R., Schleifer, K. H. und Stenström, T.-A. (1994) *FEMS Microbiol.Ecol.* 13, 169–176
- [7] Banning, N., Toze, S. und Mee, B. J. (2003) *Microbiology* 149, 47–55
- [8] Szewzyk, U., Szewzyk, R., Manz, W. und Schleifer, K.-H. (2000) *Ann.Rev.Microbiol.* 54, 81–127
- [9] Kjelleberg, S. und Molin, S. (2002) *Curr.Opin.Microbiol.* 5, 254–258
- [10] van Loosdrecht, M. C. M., Picioreanu, C. und Heijnen, J. J. (1997) *FEMS Microbiol.Ecol.* 24, 181–183
- [11] Gilbert, P., Evans, D. J. und Brown, M. R. (1993) *J.Appl.Bacteriol.Symp.Suppl.* 74, 675–785
- [12] Eberl, L., Winson, M. K., Sternberg, C., Stewart, G. S., Christiansen, G., Chhabra, S. R., Bycroft, B., Williams, P., Molin, S. und Givskov, M. (1996) *Mol.Microbiol.* 20, 127–136
- [13] Szewzyk, U. und Schink, B. (1987) *J.Gen.Microbiol.* 134, 183–190
- [14] Lawrence, J. R., Korber, D. R., Wolfaardt, G. M. und Caldwell, D. E. (1995) *Adv.Microb.Ecol.* 14, 1–75
- [15] Conway, B. A., Venu, V. und Speert, D. P. (2002) *J.Bacteriol.* 184, 5678–5685
- [16] Shih, P. C. und Huang, C. T. (2002) *J.Antimicrob.Chemother.* 49, 309–314
- [17] Hentzer, M., Riedel, K., Rasmussen, T. B., Heydorn, A., Andersen, J. B., Parsek, M. R., Rice, S. A., Eberl, L., Molin, S., Hoiby, N., Kjelleberg, S. und Givskov, M. (2002) *Microbiology* 148, 87–102

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Ulrich Szewzyk
 FG Ökologie der Mikroorganismen, TU Berlin
 Franklinstrasse 29, Sekr. OE5
 D-10587 Berlin
 Tel.: 030-314 73461
 Fax: 030-314 73460
 Ulrich.Szewzyk@TU-Berlin.de
 www.tu-berlin.de/fb6/microbial_ecology/index_d.html



Ulrich Szewzyk

Geboren 1957, Studium der Biologie in Tübingen, Diplom und Promotion (1987) bei Prof. Norbert Pfennig / Prof. Bernhard Schink, Konstanz, über anaerobe Biofilme; Post doc

(1988–90) bei Prof. Staffan Kjelleberg (Biofilme und marine Invertebratenlarven), Göteborg, Schweden; 1990–94 am Schwedischen Zentrum für Seuchenhygiene, Stockholm, bei Prof. Thor Axel Stenström (Biofilme im Trinkwasser), 1993 Habilitation; seit 1994 Professor für Mikrobielle Ökologie an der TU Berlin. Arbeitsschwerpunkte: Trinkwassermikrobiologie; Membranbioreaktoren; marine Mikrobiologie.