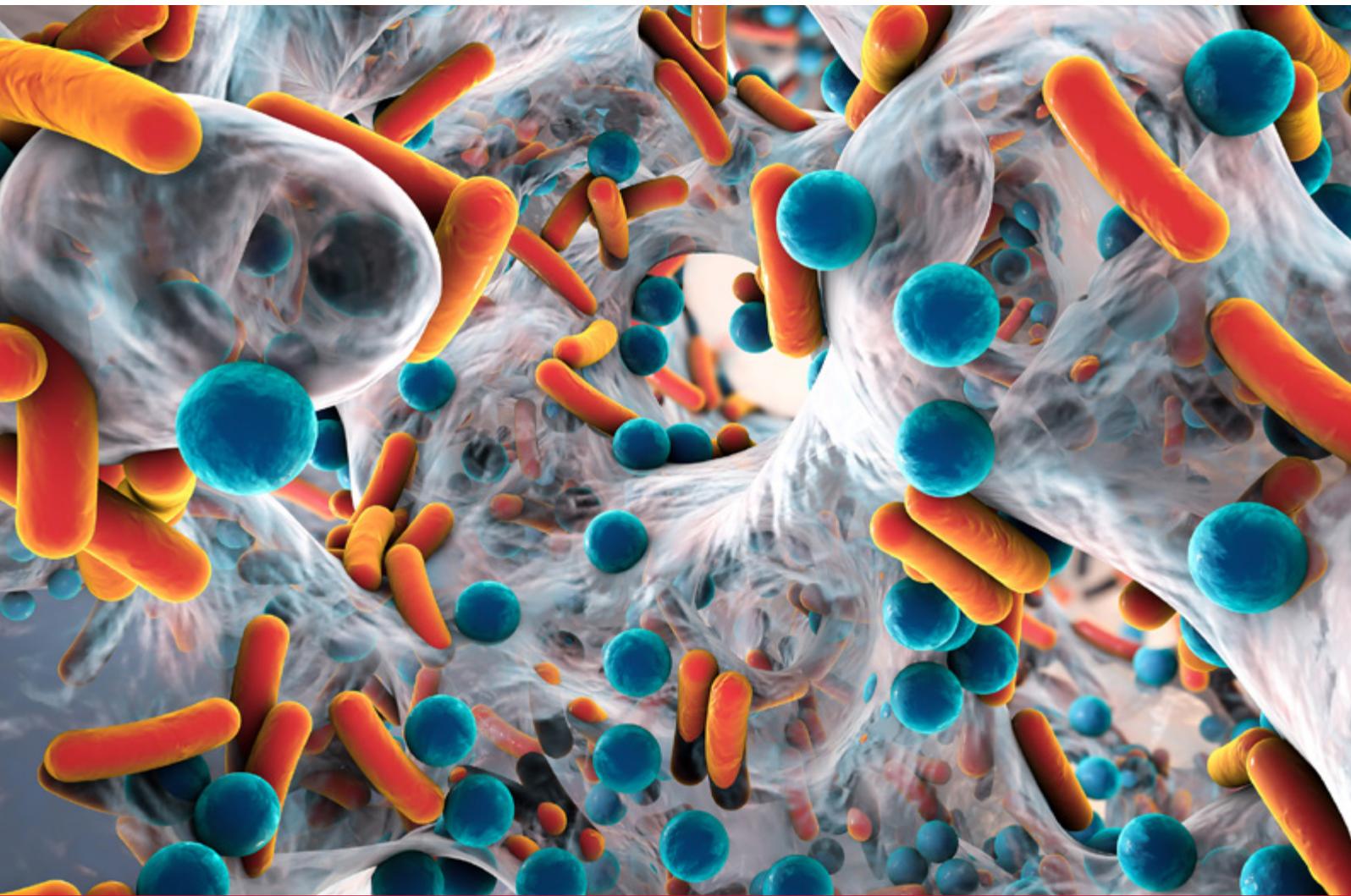


Das intestinale Mikrobiom



Moderne Stuhldiagnostik liefert ein
molekulares Profil der menschlichen Darm-Mikrobiota

Das Mikrobiom des Darms



• Das humane **Mikrobiom** bezeichnet die Gesamtheit aller Mikroorganismen, die den menschlichen Körper besiedeln. Bakterien haben im Volksmund einen eher schlechten Ruf – nicht selten werden sie nur als Krankheitserreger angesehen. Im Falle von pathogenen Erregern ist dieser Respekt berechtigt. Der Mensch lebt jedoch mit Bakterien auch in einem symbiotischen Gleichgewicht – er benötigt sie, um gesund zu bleiben.

Verdauungstrakt, Teile der Atmungsorgane und des Urogenitaltraktes sind besiedelt mit den unterschiedlichsten Bakterienarten. Diese schützen vor pathogenen Keimen.

Hauptkolonisationsorgan der Bakterien ist der menschliche **Dickdarm**. Hier siedelt eine **Mikrobengemeinschaft**, die über eintausend Arten umfasst. Dieses „intestinale Mikrobiom“, jüngst als metabolisches Organ definiert, übertrifft die Erbinformation des Menschen um das 150-fache und stellt somit den größten Bakterienverbund des menschlichen Körpers dar (1). Hierbei beeinflussen **Darmbakterien** eine Reihe komplexer Interaktionen auf metabolischer und immunregulatorischer Ebene: Sie kontrollieren essentielle Stoffwechselprozesse, indem sie unter anderem Energieträger bereitstellen oder immunmodulierende Stoffe freisetzen.

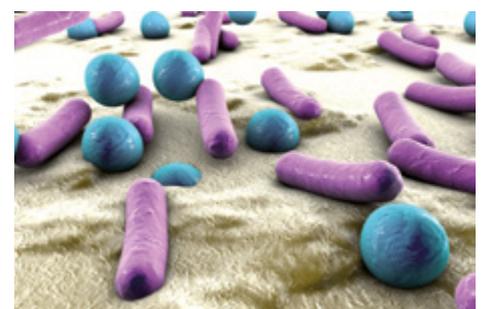
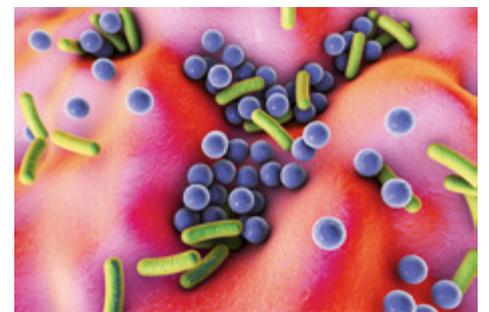
Kommensale **Darmbakterien** sind nicht nur dazu in der Lage, die aufgenommene Nahrung zu verwerten und unverdauliche Stoffe zu spalten. Sie synthetisieren lebenswichtige Vitamine und antimikrobielle Substanzen, die das Wachstum pathogener Bakterien eindämmen. Zudem wirken sie positiv auf Darmepithel und Schleimhaut sowie das Immunsystem (2).

Und es werden ihnen noch weitere wichtige Funktionen zugeschrieben:

- Stimulation des **Immunsystems**: Stärkung des Mukosa-Immunsystems (MIS), Verdrängung von Krankheitserregern durch Bildung von β -Defensin und IgA
- **Vitamin-Versorgung**: Synthese der Vitamine B1, B2, B6, B12 und K im Darm
- Unterstützung der **Verdauung**: Abbau schwer verdaulicher Kohlenhydrate oder Ballaststoffe
- Produktion von **kurzkettigen Fettsäuren** wie Essigsäure (Acetat) und Buttersäure (Butyrat), die das Darmmilieu mitbestimmen
- Kurzkettige Fettsäuren dienen als **Energiequelle** für Darmschleimhautzellen
- Förderung der **Darmperistaltik** über kurzkettige Fettsäuren
- Bekämpfung von **Entzündungen**: besonders Butyrat wirkt entzündungshemmend und schleimhautprotektiv
- **Entgiftung** von Fremdstoffen

Diverse Bakterienansammlungen auf der Darmsoberfläche

3D Illustration



Ein gesundes Darm- Mikrobiom kann in seiner Zusammensetzung durchaus variieren. Es wird beeinflusst durch die bakterielle Erstbesiedlung nach der Geburt, durch genetische Faktoren und, ganz wesentlich, durch die Ernährungsweise. Wie die Ernährung die Bakterienstämme und -arten in ihrer Häufigkeiten beeinflusst, zeigt Abbildung 1. Hauptsächlich Ballaststoffe führen zur Vermehrung der Bakteriengruppe der Firmicuten, mit prominenten Mitgliedern wie *Eubacterium rectale*, *Eubacterium hallii*, *Ruminococcus bromii* oder diversen *Roseburia*- Arten.

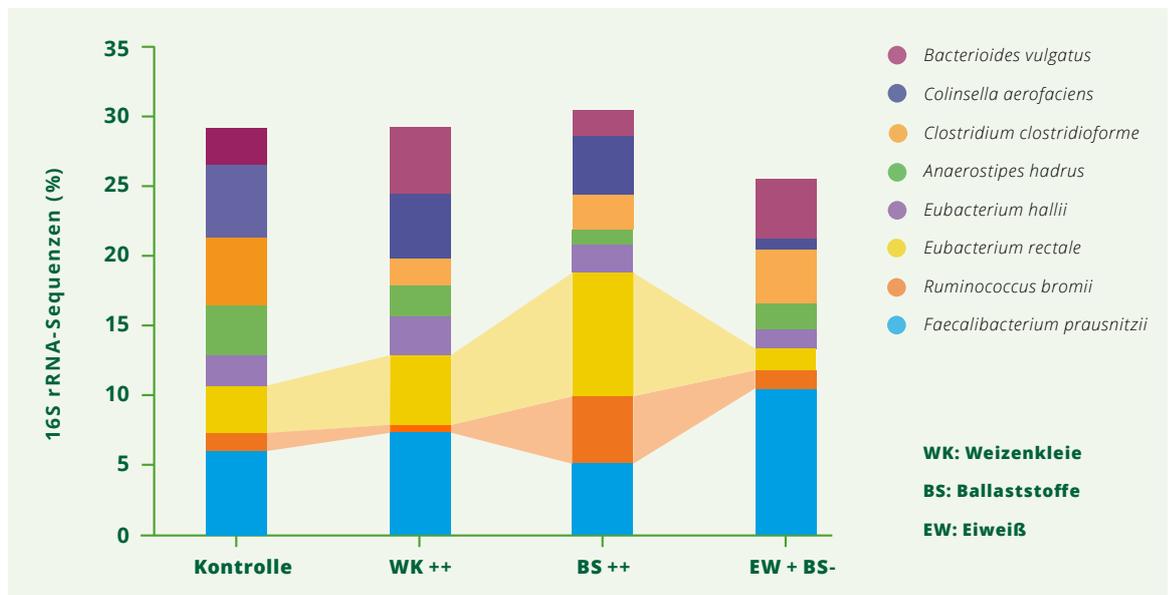


Abbildung 1.

Einfluss der Ernährung auf die Darm Mikrobiota.

Diagramm modifiziert nach Flint *et al.*

Die Besiedelung des Dünndarms unterscheidet sich deutlich von der des Dickdarms: Im Dünndarm ist sie deutlich geringer als im Dickdarm, wo Keimzahlen von 10^{11} bis 10^{12} Bakterien/g Stuhl erreicht werden. Etwa die Hälfte der ausgeschiedenen Stuhlmenge eines gesunden Erwachsenen besteht aus Bakterienmaterial (3).

Die Funktionen des intestinalen Mikrobioms werden nur dann richtig erfüllt, wenn geeignete Bakterientypen in optimaler Organisation auf der Darmschleimhaut siedeln. Kommt es zu Verschiebungen innerhalb dieses Gleichgewichts, so wird die Entstehung endogener Infektionen begünstigt und schwerwiegendere, systemische Erkrankungen können entstehen. Schwankungen innerhalb der intestinalen Mikrobiota können daher in unmittelbarem Zusammenhang mit **klinischen Symptomen** stehen.

Die mikrobielle Darmgemeinschaft

Kommensale

Die im menschlichen Dickdarm heimischen Bakterien fermentieren die über die Nahrung aufgenommenen Kohlenhydrate und Proteine in kurze Fettsäureketten (Milch-, Essig-, Buttersäure etc.) und Gase (Wasserstoff, Kohlendioxid). **Butyrat**, das Salz der Buttersäure, ist die wichtigste Energiequelle für die Kolonozyten – darüber hinaus wirkt es stark entzündungshemmend. Besonders die butyratbildenden Firmicuten gelten als wichtiger Lieferant dieser kurzkettigen Fettsäuren, allen voran *Faecalibacterium prausnitzii*. Es repräsentiert ganze 5 - 15 % der menschlichen Darmbakterien und zählt somit zu den häufigsten Bewohnern des Darms. Als ausgesprochen potenter Butyratbildner nimmt es eine zentrale Rolle in der Energieversorgung der Darmzellen ein. Neben der Butyratbildung glänzt *F. prausnitzii* mit anti-entzündlichen Eigenschaften durch Inaktivierung des Transkriptionsfaktors NF-KB- sowie IL-8-Produktion (2, 4).

Nicht selten weist ein Anstieg von Akut-Phase-Proteinen im Stuhl – wie α -1-Anti-trypsin oder Calprotectin – auf entzündliche Irritationen der Darmschleimhaut hin. Die **molekulargenetische Stuhl Diagnostik** von **biovis'** liefert hierzu Aussagen über bakterielle Indikatoren. Häufig korreliert das Fehlen von *F. prausnitzii* mit der Entzündungsstärke.

Im gesunden Dickdarm sind die Epithelzellen von einer schützenden Schleimschicht bedeckt. Ist diese **Muzinschicht** beschädigt oder wird nicht ausreichend Muzin gebildet, können Erreger, Schadstoffe oder Allergene in direkten Kontakt mit der Schleimhaut gelangen, was zu Entzündungen führt. Somit schützt die Aufrechterhaltung einer intakten Schleimhautbarriere vor Entzündungen. Dabei ist maßgeblich das Bakterium *Akkermansia muciniphila*, ein Vertreter der Verrucomikroben, beteiligt, da es die Schleimproduktion durch Becherzellen ankurbelt. Der Abbau von Schleim fördert die Neuproduktion und stellt zugleich Substrat in Form von Oligosacchariden und kurzkettigen Fettsäuren für die Butyratbildung zur Verfügung – ein wichtiger Zusammenhang, dessen Grundlage sich mit der Mikrobiomdiagnostik beurteilen lässt und das Verständnis mit jeder durchgeführten Analyse wächst (2, 5).

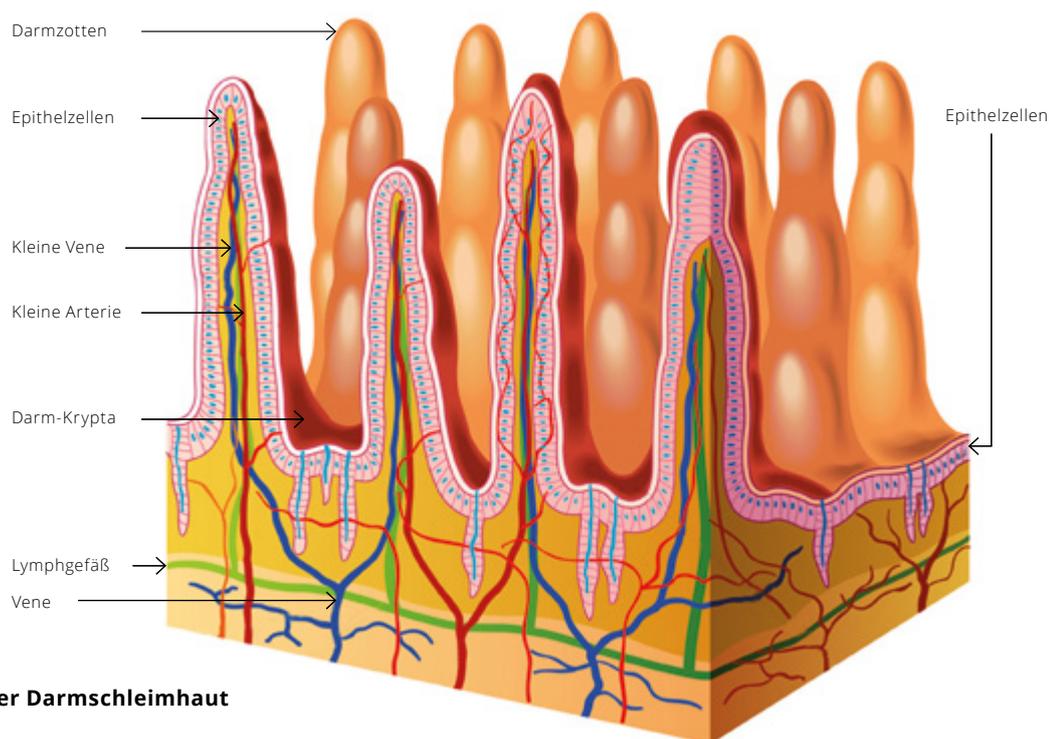


Abbildung 2: **Aufbau der Darmschleimhaut**
3D Illustration

Pathogene

Der bakterielle Stoffwechsel arbeitet nicht ausschließlich zum Wohle des Menschen. Über Bildung von **Schwefelwasserstoff (H₂S)** beteiligen sich auch sulfatreduzierende Bakterien an der Entwicklung von Darmerkrankungen. H₂S ist ein toxisches Stoffwechselprodukt, das die Darmepithelien schädigt und so das Auftreten von Zelltypen begünstigt. Die Arten *Bilophila wadsworthii*, *Desulfomonas pigra* und *Desulfovibrio piger* gelten als besonders potente H₂S-Bildner.

Die Gattung der obligat anaeroben Clostridien umfasst sowohl Krankheitserreger als auch nützliche Keime, die immunmodulierend wirken und zum Anstieg von IL - 10 beitragen. Besonders Clostridien des Cluster I beinhalten toxinbildende Arten, welche gehäuft bei Störungen des autistischen Formenkreises gefunden werden und nicht selten Ursache für mit Autismus assoziierte, intestinale und häufig auch extraintestinale Beschwerden sind.

Zusätzlich lassen sich des Öfteren potentiell **pathogene Gattungen** wie *Haemophilus* und *Fusobacteria* – beide assoziiert mit den Schleimhäuten des Nasen-Rachenraums – im Darm nachweisen. Jüngste Ergebnisse der Grundlagenforschung zeigen die Beteiligung von Erregern dieser Gattungen bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED), kolorektalen Karzinomen und Appendizitis. Zusammenhänge wie diese und zukünftige Erkenntnisse werden laufend und mit vergleichsweise geringem Aufwand in die molekulargenetische Stuhldiagnostik integriert (6, 7).

Enterale Mikrobiomanalyse

Bekannte Darmbakterien wie *E. coli*, *Enterococcus*, *Bifidobakterium*- sowie diverse *Laktobazillen*-Arten sind verlässlich kultivierbar und machen einen wichtigen Teil der Darm-Mikrobiota aus. Eine Vielzahl von Anaerobiern, also Mikroorganismen, die nur in sauerstofffreien Lebensräumen wachsen können, lassen sich aber nur sehr aufwendig oder gar nicht kulturell anzüchten – demzufolge wird ein Großteil dieser Bakterien (z. B. *Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila*) bei herkömmlichen Stuhluntersuchungen schlecht bis überhaupt nicht erfasst. Diese Bakterien stellen jedoch die größte Gruppe der Darm-Mikrobiota dar und verfügen über essentielle metabolische Fähigkeiten. Mit den bisherigen diagnostischen Methoden ist es bereits möglich, vielfältige Aussagen zu treffen. Wichtige Informationen über Butyrat-, Mucin- oder H₂S-Bildung und die dafür verantwortlichen Bakterien blieben bisher jedoch offen.

Da die Charakteristiken und individuellen Funktionen der Bakterien in ihren Genomen kodiert sind, ist eine umfassende Analyse des intestinalen Mikrobioms auch nur über zusätzliche genetische Untersuchungen möglich – und genau das macht sich die neue Diagnostik von **biovis'** zu Nutze: Die klassische Stuhluntersuchung wird durch zwei moderne Verfahren aus der Molekulargenetik ergänzt, was die Betrachtung zahlreicher aerober und anaerober Keime sowie ganzer stoffwechselrelevanter Gruppierungen ermöglicht.

Um die Genome der Bakterien eindeutig identifizieren zu können, behilft man sich der **Mikrobiomanalyse** – eine molekulargenetischen Methode – die auf der Sequenzierung isolierter Bakterien-DNA aus klinischen Proben basiert. Hierbei werden Signale erfasst, die ausschließlich in Bakterien vorkommen. Über die individuellen 16S rRNA-Sequenzen der Bakterien lässt sich ermitteln, welche und wie viele Bakterien genau in einer Probe vorhanden sind – Hiermit wird die Artenvielfalt abgedeckt. Wissenschaftlich wird diese Technik als 16S rRNA-Sequenzierung bezeichnet. Abbildung 3 veranschaulicht einen typischen Versuchsablauf.

Mit den Mikrobiom-Analysedaten können nun Sequenzvergleiche zur Zusammensetzung der Darmflora von Gesunden gezogen und der sequenzierte Genabschnitt einer bestimmten Bakterienart zugeordnet werden (8).

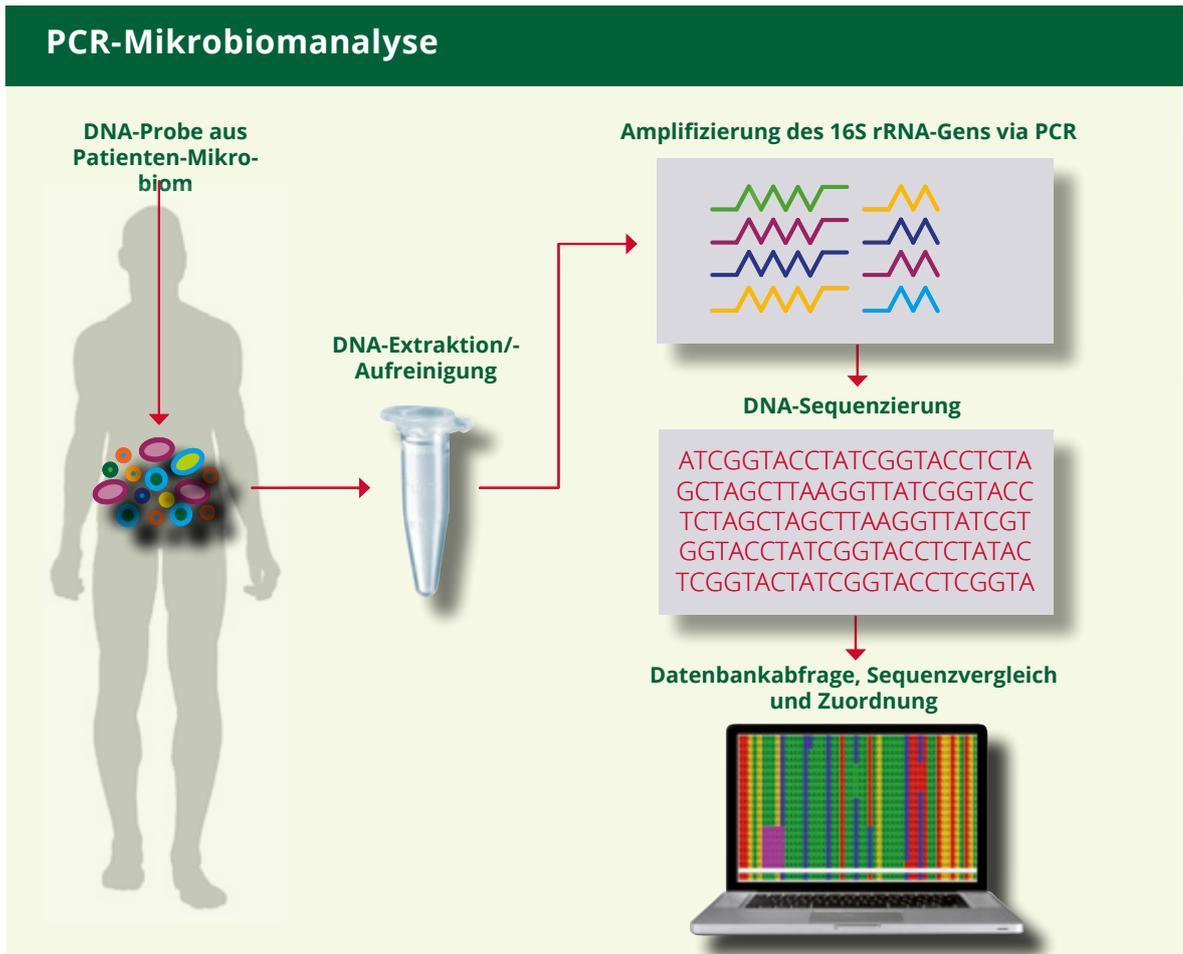


Abbildung 3:

Versuchsablauf der Mikrobiomanalyse. Die Bakterien-DNA wird aus der Stuhlprobe des Patienten isoliert und mittels PCR vervielfältigt. Die Genfragmente, die nun in hoher Kopienzahl vorliegen, werden anschließend sequenziert. Die Fülle entstehender Daten wird mit speziellen Computerprogrammen ausgewertet. Die Gensequenzen werden mit Referenzgenomen verglichen, um die Bakterien rechtmäßig zuzuordnen. Schaubild nach Keller *et al.*

Dies geschieht mithilfe von **Referenzgenomen**, die über die Datenbanken des „Human Microbiome Project“ bereitgestellt werden – einer Initiative, die 2008 ins Leben gerufen wurde, um die menschlichen Mikroben auf molekularer Ebene zu identifizieren und katalogisieren (9).

Die Mikrobiomanalyse erfasst über 250 Parameter. Unter Berücksichtigung aller nachweisbaren Arten und Gattungen kann eine Aussage über die bakterielle Diversität, d. h., die **Artenvielfalt**, getroffen werden. So bietet eine hohe Bakteriendiversität im Optimalfall Schutz vor endogenen Infektionen, doch sie ist häufig in Folge von Antibiotikatherapien oder im Rahmen diverser Krankheitsbilder verringert – in diesen Fällen können sich opportunistische Erreger wie pathogene Bakterien, Pilze und Viren mühelos vermehren (3, 10).

Einordnung nach Enterotypen

Parallel wird bei einer Darm-Mikrobiomanalyse der **Enterotyp** bestimmt. Es gibt drei Hauptgruppen, in die sich die menschlichen Darmbakterien einteilen lassen. Enterotypen definieren sich über die jeweils im Dickdarm vorherrschenden Gattungen *Bacteroides*, *Prevotella* und *Ruminococcus*, die Nahrungsbestandteile unterschiedlich spalten, was wiederum Folgen für die Resorption von Vitaminen und Mineralien hat. Die Enterotypen bilden stabile, deutlich unterscheidbare Bakterien-Cluster mit typischen Stoffwechseleigenschaften. Enterotyp 1 ist vor allem gekennzeichnet durch hohe *Bacteroides*-Keimzahlen, Enterotyp 2 durch starke *Prevotella*-Besiedlung. Enterotyp 3 weist stark ausgeprägte *Ruminococcus*-Flora auf (10).

Bakterienquantifizierung

Um die etablierten Anzuchtmethoden zu ergänzen und vereinzelte Parameter zu ermitteln, bedient man sich eines molekularbiologischen Verfahrens, das sich auf die qPCR (quantitative PCR) stützt. Die Methode ermöglicht eine präzise Quantifizierung einzelner Bakterien auf Basis spezifischer Sonden. So können mit den gewonnenen Daten gezielte Fragestellungen beantwortet und therapeutische Maßnahmen erarbeitet werden.

Befundung

Für die Analyse der Zusammensetzung des Mikrobioms auf Ebene der Bakterienphyla werden *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* und *Proteobacteria* sowie *Akkermansia muciniphila* und selten zu findende *Fusobacteria* berücksichtigt. Schon auf dieser höchsten taxonomischen Ebene lassen sich typische Muster erkennen, so zum Beispiel eine erhöhte *Firmicutes* / *Bacteroidetes*-Ratio, oder die bei verschiedenen Krankheitsbildern dominanten *Proteobacteria*. Der weitere Befund ist inhaltlich strukturiert und vertritt wichtige Gattungen und deren metabolisch aktive Arten – die häufigsten sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Bakterienstämme	Bakterienarten	Häufigkeit
Bacteroidetes Abbau löslicher Ballaststoffe KH*	<i>Bacteroides vulgatus</i> <i>Alistipes sp.</i> <i>Parabacteroides sp.</i> <i>Prevotella sp.</i>	++++ ++ + ++
Firmicutes Abbau unlöslicher Ballaststoffe	<i>Faecalibacterium prausnitzii**</i> <i>Eubacterium rectale**</i> <i>Eubacterium hallii**</i> <i>Rominosoccus bromii</i> <i>Clostridium clostridioforme</i> <i>Roseburia sp.**</i>	++ bis ++++ ++ bis +++ + bis +++ + bis ++ +++ + bis +++
Actinobacteria	<i>Bifidobacterium sp.</i>	++ bis +++
Proteobacteria	<i>Escherichia coli</i>	+
Verrucomicrobia	<i>Akkermansia muciniphila***</i>	+

Tabelle 1: **Die wichtigsten Bakterien des intestinalen Mikrobioms**

*KH = Kohlenhydrate / ** = Buttersäurebildner / *** = Mucinbildner

Korrelationen zwischen Dysbiose und klinischer Syptomatik

Das intestinale Mikrobiom ist zurzeit Gegenstand intensiver **Forschung** – mit hochinteressanten Ergebnissen: Die Organisation der menschlichen, darmbesiedelnden Bakterienflora lässt signifikante Korrelationen mit dem Gesundheitszustand erkennen. Daher ist es auch möglich, den Patienten zu therapieren, indem Veränderungen innerhalb des intestinalen Mikrobioms durch Ernährungsfaktoren oder Präbiotika herbeigeführt werden,

um ein ausgewogenes Verhältnis der Stämme und Arten zueinander zu erreichen oder gezielt Defizite wichtiger Bakterienarten zu beseitigen. Im Folgenden ist eine Auswahl derjenigen **gesundheitlichen Beeinträchtigungen** zusammengestellt, die auf **Schwankungen der enteralen Mikroflora** beruhen:

1. Adipositas

Bei adipösen Patienten finden sich im intestinalen Mikrobiom häufig verschobene Verhältnisse zwischen den Firmicutes- und Bacteroidetes-Stämmen. Gesunde zeigen meist eine **Firmicutes / Bacteroidetes**-Ratio von 1 : 1 bis 3 : 1, während Menschen mit Übergewicht in 35 % der Fälle ein deutlich zu Gunsten der *Firmicutes* verschobenes Verhältnis von 3 : 1 bis 25 : 1 (in Extremfällen sogar bis zu 200 : 1) haben. Eine Dominanz der *Firmicutes* ermöglicht den Abbau von Ballaststoffen sowie die Gewinnung von Energie. Übergewichtigkeit ist daher auch das langfristige Resultat einer „Zusatzversorgung“ durch übermäßig stark ausgeprägte *Firmicutes*-Flora (19).

Adipositas ist häufig auch durch sehr niedrige Keimzahlen des *Faecalibacterium prausnitzii* gekennzeichnet, eines *Firmicuten*, der zu den drei häufigsten Bakterien im Darm gehört. *F. prausnitzii* bildet **Butyrat**, wodurch die Darmschleimhaut versorgt und gleichzeitig vor Entzündungen geschützt wird, da das Salz der Buttersäure die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NFκB hemmt und die Freisetzung des Chemokins Interleukin-8 blockiert. Bei adipösen Patienten weisen z. T. deutlich erhöhte hsCRP- und Interleukin-6-Spiegel auf ein entzündliches Geschehen hin, das nahezu immer mit niedrigen *F. prausnitzii*-Keimzahlen einhergeht. Gelingt es bei diesen Patienten *F. prausnitzii* zu vermehren, so wird die Darmschleimhaut geschützt und lokale Entzündungsreaktionen gehen zurück (4).

Auch *Akkermansia muciniphila* liegt bei adipösen Patienten oft in dezimierter Keimzahl vor. Das Bakterium kann **Mucus**, eine die Darmepithelzellen bedeckende Schleimschicht, abbauen. Hier erfolgt jedoch keine Abnahme der Mucinschichtdicke. Vielmehr werden die Becherzellen angeregt, mehr Schleim zu bilden, was der Schleimhaut eine Schutzbarriere bietet und sie von chemischen, mechanischen oder entzündlichen Reizen abschirmt. Während fettreiche Ernährung zu erkennbarer Abnahme von *Akkermansia muciniphila* führt, bewirkt die Zufuhr von Oligosacchariden (zum Beispiel in Form von Präbiotika) eine teilweise deutliche Keimzahlvermehrung. In

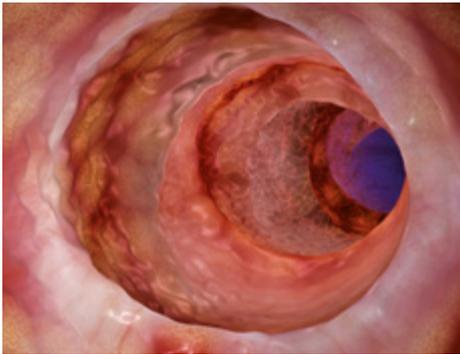


Fettzellen, 3D Illustration

Tierexperimenten führte dieses Phänomen zu Gewichtsabnahme, Aufbau der Mucinschicht, Stabilisierung der Schleimhautbarriere und positivem Einfluss auf Nüchternblutzucker und Insulinresistenz. Bisher vorliegende Daten deuten darauf hin, dass auch beim Menschen ein ähnlich günstiger Effekt durch den Einfluss von *A. muciniphila* erreicht wird (11).

2. Metabolisches Syndrom

Auch bei Patienten mit metabolischem Syndrom zeigen sich immer wieder Veränderungen im intestinalen Mikrobiom, vorrangig handelt es sich hierbei um niedrige *Akkermansia muciniphila*-Keimzahlen. Gelingt eine Erhöhung der *A. muciniphila*-Keimzahl, werden Insulinresistenz und Nüchternblutzuckerwerte positiv beeinflusst (12).

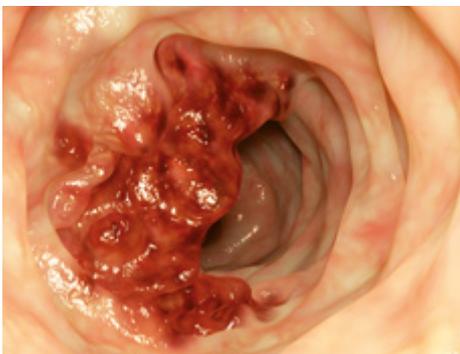


Morbus Crohn, 3D Illustration

3. Darmentzündungen

Das **Reizdarm-Syndrom** ist eine häufige Ausschlussdiagnose bei unklaren langanhaltenden und wiederkehrenden Darmbeschwerden. Schon länger existieren Belege dafür, dass eine Therapie mit Probiotika größtenteils die Symptome lindern kann. Jüngere Studien zeigen, dass die Keimzahlen von *F. prausnitzii* bei Reizdarm-Patienten um etwa 30 % dezimiert sind. Noch geringere Keimzahlen zeigen Patienten mit Morbus Crohn. Da *F. prausnitzii* der bedeutendste Produzent des entzündungshemmenden Butyrats ist, wirken sich verminderte Keimzahlen des Bakteriums doppelt negativ aus: Die hemmende Wirkung von *F. prausnitzii* auf NFκB und Interleukin-8 sowie der schleimhautstabilisierende, antientzündliche und schützende Effekt der Buttersäure sind in diesem Fall nicht mehr gegeben (4, 6).

Bei Kindern mit der Erstdiagnose **Morbus Crohn** ließen sich in bis zu 70 % der Fälle *Campylobacter*-Arten isolieren. Ein ursächlicher Einfluss wird daher immer wieder diskutiert. Lassen sich *Campylobacter*-Arten in Patientenproben nachweisen, können Probiotika verabreicht werden, da diese ein starkes Gegengewicht zu pathogenen Erregern bilden (13).



Darmkrebs, 3D Illustration

Das **Leaky-Gut-Syndrom** ist ein weiteres Krankheitsbild, das mit dem intestinalen Mikrobiom in engem Zusammenhang steht. Stuhluntersuchungen zeigen geringe Präsenz von mucinabbauenden *A. muciniphila* im Darm der Betroffenen, die unter einem Permeabilitätsdefekt der Tight Junctions leiden (14).

4. Darmtumore

Neben anderen bekannten Faktoren fördert **Schwefelwasserstoff** durch Schleimhautreizungen die Ausbildung von Zelltypen und damit die Entstehung von kolorektalen Karzinomen. Verantwortlich für die H₂S-Bildung sind sulfatreduzierende Bakterien (SRB) wie *Desulfomonas piger* und *Desulfovibrio piger* und H₂S-bildende Clostridien. Liegen SRB in erhöhten Keimzahlen vor, sollte über Ernährungsumstellung und milieuverändernde Pro- oder Präbiotika (z. B. resistente Stärke) einer weiteren Vermehrung der H₂S-bildenden Bakterien entgegengewirkt werden.

Tumorerkrankungen im Darm weisen ebenfalls **deutliche Verschiebungen des Mikrobioms** auf: Häufig zeigt sich eine Verminderung von *F. prausnitzii* bis unterhalb der Nachweisgrenze. Infolgedessen fehlt das entzündungshemmende Butyrat (15).

5. Arthritis

Auch bei rheumatoider Arthritis kann die Untersuchung des intestinalen Mikrobioms **Fehlbesiedelungen** anzeigen, die gegebenenfalls mit der Entstehung oder dem Verlauf der Krankheit in Verbindung stehen. Eine mögliche Folge der Fehlbesiedelung kann man am Beispiel des Darmbakteriums *Prevotella copri* erkennen: Besiedelt es den menschlichen Darm in physiologischer Anzahl, dann profitieren davon sowohl Immun- als auch Verdauungssystem. Bei Patienten, die an rheumatoider Arthritis leiden, liegen *Prevotella copri* und *Prevotella sp.* oft in erhöhten Konzentrationen vor. Wissenschaftler vermuten, dass eine Überzahl an *P. copri* das Wachstum und die Funktion anderer Darmbakterien unterdrückt (16).

6. Autismus

Bei der Entstehung von Autismus spielen **genetische Faktoren** eine Schlüsselrolle. Darüber hinaus bestimmen auch weitere Faktoren den Verlauf der Entwicklungsstörung mit. Kinder mit Störungen aus dem autistischen Formenkreis klagten sehr häufig über gastrointestinale Beschwerden. Studien zeigten, dass eine Gabe von Antibiotika nicht nur Magen-Darm-Beschwerden reduzierte, sondern auch Einfluss auf andere, mit Autismus assoziierte Symptome hatte. Einigen Studien zufolge können Veränderungen der Darm-Mikroflora die Hirnentwicklung und das Verhalten beeinflussen (Darm-Hirn-Achse). Somit liegt die Vermutung nahe, dass eine beeinträch-



Arthritis, Degenerierte Hände

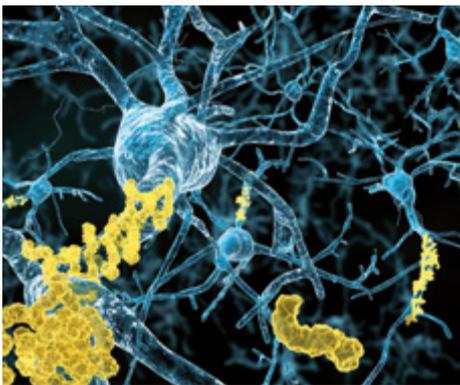
tigte Artenvielfalt im Darm sowohl am Ausbruch als auch an den Verlauf von Autismus gekoppelt sein kann (17).

Tatsächlich finden sich in Stuhlproben erkrankter Kinder sehr häufig erhöhte Keimzahlen an toxinbildenden Clostridien. Hier wurden sogar Clostridien-Arten gefunden, die sich ausschließlich bei Autisten, nicht aber in der neurotypischen Kontrollgruppe nachweisen ließen. Wie genau Clostridien Ausbruch und Verlauf innerhalb des Autismusspektrums beeinflussen, ist noch immer unklar. Lassen sich im Stuhl der Patienten toxinbildende Clostridien nachweisen (Clostridien des Cluster I), kann die Toxinbildung durch Gabe geeigneter Probiotika reduziert werden (7).

7. Alzheimer

Auch bei Alzheimer-Patienten zeigen sich Veränderungen im intestinalen Mikrobiom. In einer kürzlich durchgeführten Studie wiesen nahezu 100 % aller untersuchten Alzheimer-Patienten (n = 52) einen Mangel an *F. prausnitzii* auf. Zusätzlich fanden sich bei 87,5 % der Untersuchten erhöhte Marker für Entzündungen der Darmschleimhaut (Calprotectin oder Antitrypsin). Bei 91 % der Patienten ließen sich über hsCRP Hinweise auf systemische Entzündungen im Körper nachweisen (20).

Mangel an *F. prausnitzii* begünstigt Entzündungen der Darmschleimhaut. Gelingt es, über Präbiotika die Bakterienkeimzahl wichtiger Arten wie *A. muciniphila* und *F. prausnitzii* deutlich zu vermehren, stellt sich ein anti-entzündlicher und schleimhautprotektiver Effekt ein. Behandlungen mit **Prä- und Probiotika zur Artenvermehrung** sind daher auch bei Alzheimer-Patienten sinnvoll.



Alzheimer-Erkrankung
Neuronen mit Amyloid-Plaques,
3D Illustration

Diagnostischer Wandel: Die Zukunft hat begonnen

Mithilfe der molekulargenetischen Stuhldiagnostik gelingt es nun, Veränderungen innerhalb des intestinalen Mikrobioms zu erkennen und Voraussetzungen für gezielte **pro- und präbiotische Therapien** schaffen. Wenn durch die neue Diagnostik erkannt wird, welche Veränderungen im intestinalen Mikrobiom des jeweiligen Patienten vorliegen, kann eine differenzierte und an die Situation angepasste Therapie erfolgen. Dafür bieten sich Kombinationen verschiedener Pro- und Präbiotika an, die mit gutem Erfolg bei

Patienten mit Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa, Leaky-Gut-Syndrom u. a.), Adipositas und Antibiotika-assoziierten Durchfallerkrankungen eingesetzt wurden (18, 19).

biovis' Diagnostik erstellt eine individuelle und **ausführliche Befundung mit maßgeschneiderten Therapieempfehlungen** auf Grundlage umfassender, molekulargenetischer Untersuchungen des intestinalen Mikrobioms, optional ergänzt um Parameter wie Pankreas-Elastase, Gallensäuren, Calprotectin, α -1- Antitrypsin und sIgA – der Musterbefund in Abbildung 4 vermittelt einen ersten Eindruck. Die folgende Zusammenstellung (Tabelle 2) demonstriert verschiedene Therapieoptionen, die speziell auf die Laborergebnisse und den Therapiefortschritt zugeschnitten eingesetzt werden können.

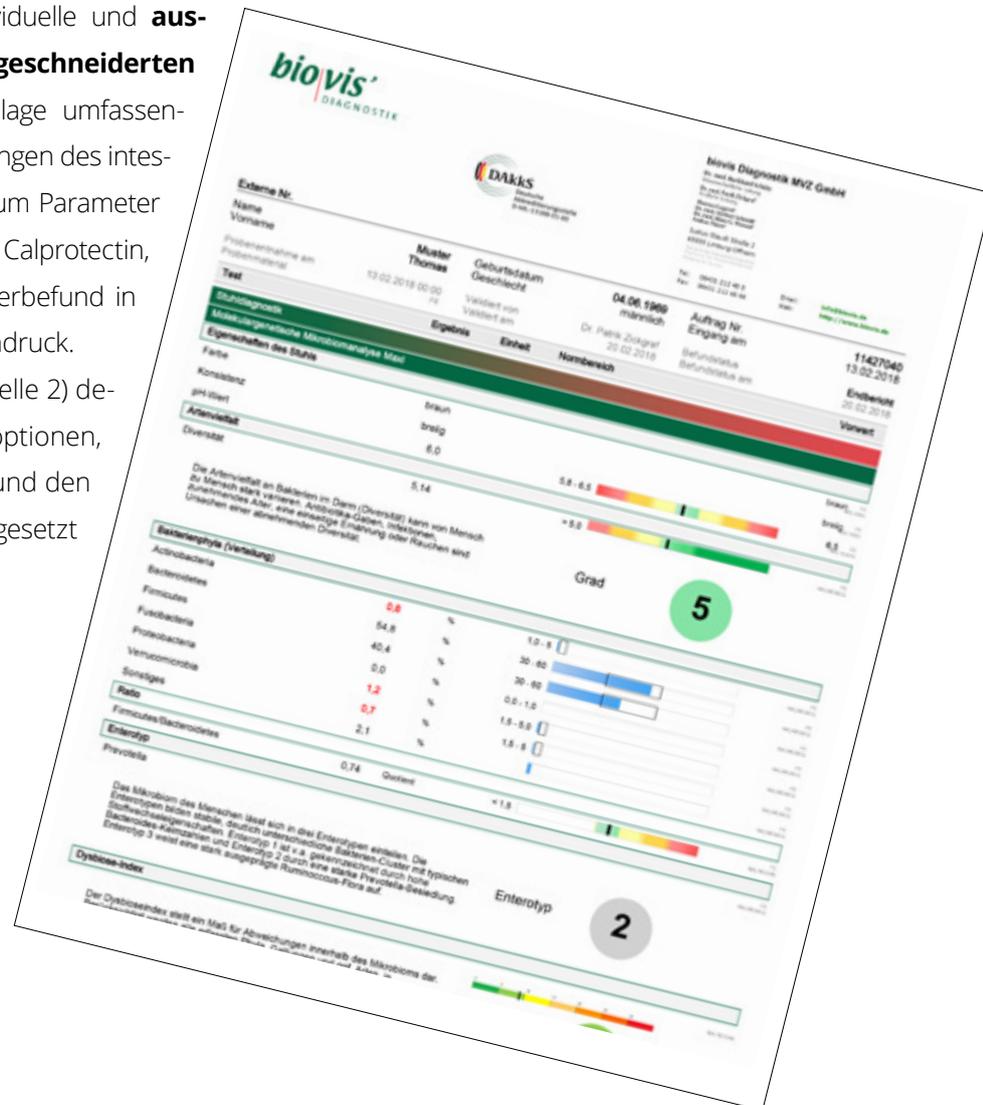


Abbildung 4: Erste Seite eines **Musterbefunds von biovis'**. Die farbigen Balken zeigen die Laborergebnisse samt einer Bandbreite für die zu ermittelnden Werte an. Index und Quotient beschreiben Patientenwerte: Werden diese in roter Farbe angezeigt, deutet das auf einen Mangel des jeweiligen Parameters hin. Schwarz steht für Werte innerhalb des normalen Bereichs.

Probiotika	<ul style="list-style-type: none"> • Schutz vor Pathogenen durch Bildung von b-Defensin oder slgA • Reduktion der Clostridien-Toxine • Reduktion entzündlicher Darmerkrankungen • Reduktion der TNF-alpha-Bildung • Reduktion des a-1-Antitrypsin • Verbesserung der Schleimhautbarriere (Leaky Gut) • Förderung des gesunden intestinalen Mikrobioms während Antibiotikagabe und Darminfekten 	
Präbiotika	Förderung	Hemmung
Stärke	<i>R. bromii</i> <i>E. rectale / Roseburia sp.</i> <i>Bifidobakterien</i>	Sulfatreduzierer
Inulin	<i>F. prausnitzii</i> <i>Bifidobakterium sp.</i> <i>Laktobacillus sp.</i>	<i>Bacteroides sp.</i> <i>Prevotella sp.</i> <i>Clostridium sp.</i> Sulfatreduzierer
Pektin	<i>Bacteroides</i>	
Fructoseoligosaccharide (FOS)	<i>F. prausnitzii</i> <i>A. muciniphila</i>	<i>Bacteroides sp.</i>
Galactoseoligosaccharide (GOS)	<i>Bifidobacterium sp.</i>	<i>Prevotella sp.</i>
Low-Carb-Ernährung		<i>R. bromii</i> <i>E. rectale / Roseburia sp.</i> <i>Bifidobacterium sp.</i> <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>
Fetteiche Ernährung		<i>A. muciniphila</i>
Fett-u. eiweißreiche Ernährung	Sulfatreduzierer	
Fetteiche Ernährung + FOS	<i>A. muciniphila</i> <i>F. prausnitzii</i>	
Ergänzung	Glutamin verbessert Schleimhautqualität, -regeneration und -barrierefunktion	

Tabelle 2: Therapie nach Maß: Optionen mit Prä- und Probiotika

Genom-Sequenzierung

Die Genom-Sequenzierung ist der Goldstandard in der Grundlagenforschung und erfasst mehr als 250 verschiedene Arten und Gattungen – und somit deutlich mehr als alle anderen Methoden. Die sequenzbasierte Mikrobiomanalyse ermöglicht **unkomplizierte Handhabung und kostengünstige Bearbeitung von Patientenproben.**

Für die präzise Untersuchung des Darm-Mikrobioms mittels molekulargenetischer Verfahren berücksichtigt **biovis'** Diagnostik neueste Erkenntnisse der Grundlagenforschung und zieht somit als aktuelles, zukunftsweisendes Werkzeug der Stuhldiagnostik eine große medizinische Relevanz nach sich. Die ständige Optimierung durch bessere Aufschluss- und Nachweisverfahren sowie das Einbeziehen weiterer, relevanter Indikatorkeime mit ständig neu hinzugefügten Erkennungssequenzen bedeutender Darmbakterien, wird einen festen Platz in der modernen, funktionellen Stuhldiagnostik einnehmen.

Quellen

1. Qin, J. et al.: A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. In: *Nature* 464, S. 59-65, 2010
2. Jandhyala, S. M. et al: Role of the normal gut microbiota. In: *World J Gastroenterol* 21(29), S. 8787-8803, 2015
3. Bull M.J., Plummer N.T.. Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease. In: *Integrative Medicine: A Clinician's Journal* 13(6), S. 17-22, 2014
4. Miquel, S. et al.: Faecalibacterium prausnitzii and human intestinal health. In: *Curr Opin Microbiol.* 16(3), S. 255-261, 2013
5. Everard A., et al.: Cross-talk between Akkermansia muciniphila and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. In: *PNAS* 110(22), S. 9066-9071, 2013
6. Ramezani, A. et al.: The Gut Microbiome, Kidney Disease, and Targeted Interventions. In: *JASN* 25(4), S. 657-670, 2014
7. Song, Y. et al.: Real-Time PCR Quantitation of Clostridia in Feces of Autistic Children. In: *AEM* 70, S. 6459-6465, 2004
8. Mandal, S. et al.: Analysis of composition of microbiomes: a novel method for studying microbial composition. In: *MEHD* 26, S. 27663-27670, 2015
9. The NIH HMP Working Group et al.: *The NIH Human Microbiome Project*. In: *Genome Res.* 19, S. 2317-2323, 2009.
10. Arumugam, M. et al.: Enterotypes of the human gut microbiome. In: *Nature* 473(7346), S. 174-180, 2011
11. Everard, A. et al.: Cross-Talk between Akkermansia muciniphila and Intestinal Epithelium Controls Diet-Induced Obesity. In: *PNAS* 110(22), S. 9066-9071, 2013
12. Hansen, C. H. F. et al.: Early life treatment with vancomycin propagates Akkermansia muciniphila and reduces diabetes incidence in the NOD mouse. In: *Diabetologia* 55, S. 2285-2294, 2012
13. Deshpande, N. P. et al.: Comparative genomics of Campylobacter concisus isolates reveals genetic diversity and provides insights into disease association. In: *BMC Genomics* 14, 585, 2013
14. Michielan, A. et al.: Intestinal Permeability in Inflammatory Bowel Disease: Pathogenesis, Clinical Evaluation, and Therapy of Leaky Gut. In: *Mediators of Inflammation*, 2015, 628157
15. Nava G.M. et al.: Abundance and diversity of mucosa-associated hydrogenotro-

phic microbes in the healthy human colon. In: *The ISME Journal* 6(1), S. 57-70, 2012

16. Scher, J. U. et al.: Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. In: *eLife*, 2, e01202, 2013

17. Smith, P.A.: Brain, meet gut. In: *Nature* 526, S. 312-314, 2015

18. Scott, K. P. et al. Manipulating the gut microbiota to maintain health and treat disease. In: *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26, S. 25877-25977, 2015

19. Keller, P.M. et al.: 16S-rRNA-Gen-basierte Identifikation bakterieller Infektionen. *BIOspektrum* S. 755-759, 2010

20. Leblhuber, F. et al.: Elevated fecal calprotectin in patients with Alzheimer's dementia indicates leaky gut. *J Neural Transm (Vienna)* 122(9) S. 1319-1322, 2015

- **Sie haben noch Fragen zum Thema?**
- **Sie interessieren sich für die neuen Möglichkeiten der Diagnostik bei *biovis'*?**
- **Sie möchten Stuhlproben untersuchen lassen?**
- **Dann rufen Sie uns an oder schreiben Sie uns - wir sind gerne für Sie da!**

biovis' Diagnostik GmbH
 Brüsseler Str. 18
 65552 Limburg-Eschhofen
 Tel.: +49 6431 21248 0
 Fax: +49 6431 21248 66
 info@biovis.de
www.biovis.de

Bildnachweise:

© vitstudio – stock.adobe.com

© Kateryna_Kon – stock.adobe.com

© sebastian kaulitzki – stock.adobe.com

© Juan Gärtner – stock.adobe.com

© nebari – stock.adobe.com

© rob3000 – stock.adobe.com

biovis'

Diagnostik MVZ GmbH

Brüsseler Str. 18

65552 Limburg-Eschhofen

Tel.: +49 6431 21248 0

Fax: +49 6431 21248 66

info@biovis.de

www.biovis.de