



## **MIKROBIOTA DES GASTROINTESTINALTRAKTS**

1. Mikrobiologische Grundlagen zur Darmflora
2. Funktion und Bedeutung der Darmflora
3. Darmflora-Störungen als Ursache für Erkrankungen

Ölschläger 1

## 1. Mikrobiologische Grundlagen zur Darmflora

### Zahlen zur intestinalen Mikrobiota:

im Kolon bis zu  $10^{13}$  KBE pro ml

ca. 10 x mehr Bakterienzellen als Körperzellen

ca. 100 x mehr Bakteriengene als Gene im  
humanen Genom (~20.000 Gene)

Es gibt ca. 6 Milliarden Menschen, aber in/auf  
jedem Menschen leben ca. 17.000 mal mehr  
Bakterien,  
die meisten davon im Verdauungstrakt.

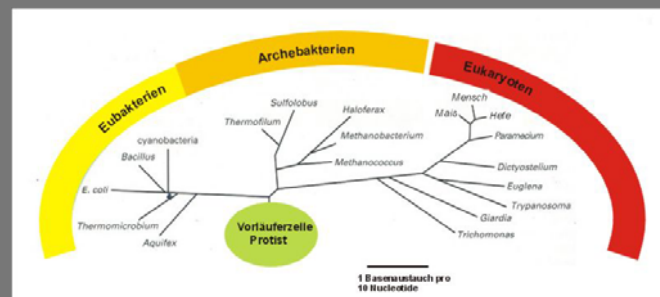
Öschläger 2

## 1. Mikrobiologische Grundlagen zur Darmflora

### Die Lebenswelt wird in drei Domänen eingeteilt:

1.1 Bacteria (Eubakterien), 1.2 Archaea (Archebakterien), 1.3 Eukarya (Eukaryoten)

In der intestinalen Mikrobiota sind Mitglieder aus allen drei Domänen vertreten,  
sowie die nicht zu den Lebewesen zählenden Viren



Öschläger 3

## 1. Mikrobiologische Grundlagen zur Darmflora

### 1.1 Die Eubakterien (Bacteria) der intestinalen Mikrobiota

Die meisten Darmbakterienspezies (ca. 99%) sind **nicht kultivierbare obligate Anaerobier**. Daher erfolgt die Identifikation mittels kultivierungsunabhängiger Methoden: PCR, DNA-Sequenzierung, FISH

Von den insgesamt ca. 50 bekannten Bakterienphyla dominieren die Phyla

**Bacteroidetes** (ca. 23 % der intestinalen Mikrobiota) und **Firmicutes** mit den Klassen Bacilli und Clostridia (ca. 65 % der intestinalen Mikrobiota).

Eine Minderheit bilden die Proteobakterien (8 %), Verrucomicrobia, Actinobacteria, Fusobacteria und Cyanobacteria.

In einer Person werden 500 bis 1000 Bakterienspezies gefunden. Das kollektive humane Mikrobiom beinhaltet jedoch über 35.000 Spezies .  
(Frank et al. 07 PNAS 104: 13780-13785)

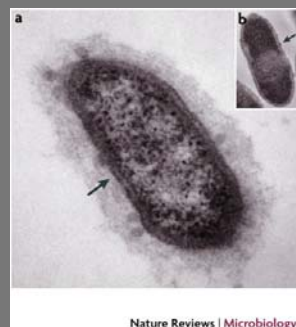
Ölschläger 4

## 1. Mikrobiologische Grundlagen zur Darmflora

### 1.2 Die Archebakterien (Archaea) der intestinalen Mikrobiota

*Methanobrevibacter smithii* (Genus: *Methanobrevibacter*) ist die häufigste Archaea-Spezies im Intestinum und repräsentiert ca. 10 % aller Anaerobier im Erwachsenen. Diese Spezies gehört zu den Methanbildnern (Macfarlane and Macfarlane 97).

2008 ist ein weiterer Genus (*Methanospaera*) mit der Spezies *Methanospaera stadmanae* als Vertreter der Archaea in der residenten Darmflora identifiziert worden.



Ölschläger 5

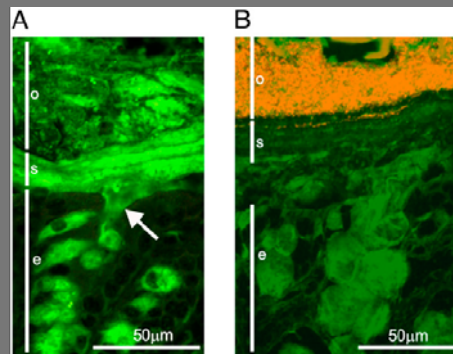
## 1. Mikrobiologische Grundlagen zur Darmflora

### Lokalisierung der Prokaryoten im Intestinum

Die Besiedelung der Mukusschicht auf dem Darmepithel und des Darmlumens ist sehr unterschiedlich. Zudem ist zu beachten, dass der Mucus aus zwei Schichten aufgebaut ist: einer zäheren unteren und einer weniger viskosen oberen Schicht.

Nur in der oberen Mukusschicht (o) werden Bakterien und zwar nur die Genera *Clostridium*, *Lactobacillus* und *Enterococcus* gefunden.

In den Faeces sind dagegen *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, Mitglieder der Enterobakterienfamilie, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* und *Ruminococcus* zu finden.



Johansson et al. 2010 PNAS

Ölschläger 6

## 1. Mikrobiologische Grundlagen zur Darmflora

### Lokalisierung der Prokaryoten im Intestinum

#### Normale Flora /Mikrobiota

##### Gaster und Duodenum

( $10^1$ - $10^3$  KBE / ml) , *Lactobacillus*,  
*Streptococcus*, Hefen

##### Jejunum und Ileum

( $10^4$ - $10^8$  KBE / ml) Lactobacillen,  
Coliforme, Streptokokken,  
*Bacteroides*, *Bifidobacterium*,  
*Fusobacterium*

##### Colon

( $10^{10}$ - $10^{13}$  KBE / ml) *Bacteroides*,  
*Bifobacterium*, *Streptococcus*,  
*Eubacterium*, *Fusobacterium*,  
Coliforme, Clostridia, Veillonella,  
Lactobacillen, *Proteus*,  
*Staphylococcus*, *Pseudomonas*,  
Hefen



#### Darmpathogene Mikroorganismen

*Helicobacter pylori*

*Vibrio cholerae*,  
*E. coli* (ETEC, EPEC),  
Rotavirus,  
*Giardia lamblia*

*Salmonella enterica*,  
*Yersinia* spp.,  
*Campylobacter* spp.

*Shigella* spp.,  
*E. coli* (EIEC, EHEC),  
*Clostridium difficile*  
*Entamoeba histolytica*

Ölschläger 7

## 1. Mikrobiologische Grundlagen zur Darmflora

### Kolonisierung durch Bakterien

Die Kolonisierung beginnt mit der Geburt.

Im ersten Lebensjahr ist die Mikrobiota noch wenig komplex und variiert zwischen Individuen beträchtlich.

Danach gleicht sie sich der von jungen Erwachsenen an und wird stabiler.

Die Komposition der mütterlichen Darmmikrobiota beeinflusst wesentlich jene der Nachkommen (vaginale Entbindung).

Es gibt jedoch eine Kernmikrobiota, die in allen Menschen anzutreffen ist und die von *Bacteroidetes* und *Firmicutes* Mitgliedern gebildet wird.

Ölschläger 8

## 1. Mikrobiologische Grundlagen zur Darmflora

### 1.3 Eukaryota als Teil der humanen Darmmikrobiota

Die Diversität von (einzelligen) Eukaryota im menschlichen Verdauungstrakt ist sehr niedrig und zeitlich recht stabil (Scanlan and Marchesi 2008). Ca. 80 % der humanen Population sind von einer *Blastocystis* Spezies besiedelt. *Blastocystis* sind obligate Anaerobier, die in die Gruppe der Stramenophiles zusammen mit Braunalgen und Diatomeen gehören.

Häufig sind auch Pilze der Gattungen *Gloeotenia/Paecilomyces* und *Galactomyces* in Stuhlproben identifiziert worden.

Relativ häufig ist auch *Candida* (*paraspilosis* > *albicans*) nachzuweisen.

Selten wird *Entamoeba coli* gefunden.



*Blastocystis hominis* (Pfeil) und Neutrophiler

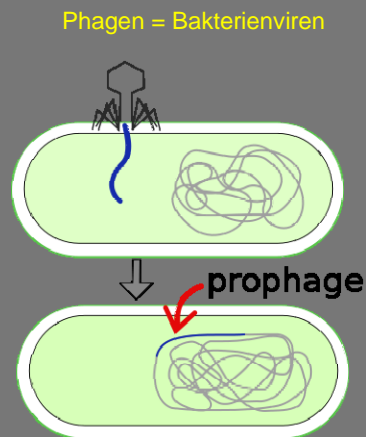
Ölschläger 9

## 1. Mikrobiologische Grundlagen zur Darmflora

### 1.3 Viren des Intestinaltrakts

Die Analyse von Stuhlproben (Reyes et al. 2010) ergab, dass Viren sehr häufig als Prophagen im Genom der Bakterien präsent sind (> 1200 Phagentypen). 80% der identifizierten Phagengenomsequenzen stimmen mit keiner bekannten Phagensequenz überein. Diese Prophagenpopulationen sind bemerkenswert stabil (wenige Mutationen) und persistieren auch über längere Beobachtungszeiträume.

Diese Virenpopulationen sind im Gegensatz zu den Bakterienpopulationen jedoch meist spezifisch für das sie tragende Individuum (z.B. unterschiedlich zwischen Mutter und Kind).



Wikimedia.org

Ölschläger 10

## 1. Mikrobiologische Grundlagen zur Darmflora

Wichtig ist, sich zu vergegenwärtigen, dass die intestinale Mikrobiota eine wichtige Quelle für Probiotika ist.

Ölschläger 11

## 2. Funktion und Bedeutung der Darmflora

Ötschläger 12

## 2. Funktion und Bedeutung der Darmflora

### 2.1 Entwicklung des Verdauungstrakts und des Immunsystems

Studien mit keimfreien Tieren zeigten sehr deutlich, dass die Darmmikrobiota essentiell ist für die normale Entwicklung der Morphologie des Verdauungstrakts und des intestinalen-mukosalen wie auch des systemischen Immunsystems.

Gnotobiotische Tiere weisen folgende Defekte auf:

- Milz und Lymphknoten werden schwach ausgebildet
- besitzen hypoplastische Peyer'sche Plaques
- die Anzahl an IgA-produzierenden Plasmazellen ist reduziert und die Menge an sekretierten IgA und IgG Immunoglobulinen ist vermindert
- die Ausbildung der oralen Toleranz ist nur eingeschränkt möglich

Ötschläger 13

## 2. Funktion und Bedeutung der Darmflora

### 2.2 Ausbildung von immunologischer Toleranz

Die Darmmikrobiota selbst ist in komplexer Weise daran beteiligt, Toleranz gegen sich zu erreichen. Dazu gehört beispielsweise die Modulation von DCs im intestinalen Epithel durch Mitglieder der Darmmikrobiota (*Lactobacillus* spp. und verschiedene *E. coli*), die zur DC-vermittelten Differenzierung von T Zellen in Th2 und Treg Subpopulationen führt, die einen eher tolerogenen Zustand des Verdauungstrakts befördern. Zudem inhibieren bestimmte Darmbakterien (*Bacteroides thetaiotaomicron*) die Expression von Genen für proinflammatorische Proteine.

Gleichzeitig muss das mukosale Immunsystem eine Translokation von Mitgliedern der Mikrobiota aus dem Verdauungstrakt verhindern ohne eine exzessive und schädliche systemische Immunantwort auszubilden. Dies wird u.a. erreicht durch die räumliche Trennung der Mikrobiota vom Darmepithel (Mucus) und die Sekretion von IgA (2 g/d) gerichtet gegen die intestinale Mikrobiota sowie von antimikrobiellen Peptiden (z.B. Defensine).

Ölschläger 14

## 2. Funktion und Bedeutung der Darmflora

### 2.3 Schutz vor Pathogenen

#### 2.3.1 Competitive Exclusion

- Belegen von Adhäsionsstellen
- Verbrauch von limitierenden Substanzen (e.g. Eisenionen)
- Produktion von antibakteriellen Molekülen (Antibiotika, Bakteriozine, Mikrozyme, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Essigsäure, Milchsäure)

#### 2.3.2 Schutz vor Toxinen

- Proteasen
- Bindung an die bakterielle Zellwand
- Inhibition durch organische Säuren

Ölschläger 15



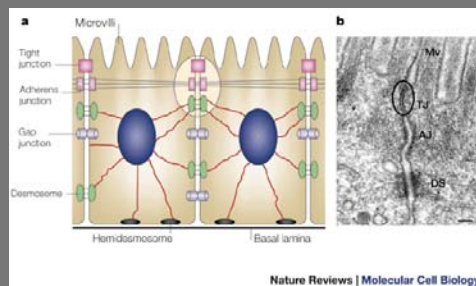
## 2. Funktion und Bedeutung der Darmflora

### 2.3.3 Stärkung der Darmbarriere

Verstärkung der Expression von sprr2, das wichtig ist für die Desmosomenstabilität (*B. thetaiotaomicron*).

Induktion der Expression von Proteinen involviert in „Tight Junctions“ (ZO-1, ZO-2: *E. coli* Nissle 1917)

Amplifizierung der Mucin Produktion (bestimmte *Lactobacillus* Stämme)

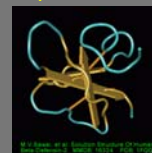
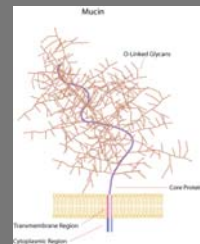


Ölschläger 16

## 2. Funktion und Bedeutung der Darmflora

### 2.3.4 Modulation des Immunsystems

- Induktion/Erhöhung der Expression von Mucin
- Induktion der Wirtssynthese von antimikrobiellen Peptiden (z.B. Defensinen, Cathelicidin LL-37)
- Induktion von antiinflammatorischen Cytokinen (z.B. IL-10)
- Beeinflusst den Zeitpunkt des Auftretens und die Häufigkeit von Allergien (Dr. Sonnenborn: Allergieprävention und Behandlung durch Probiotika 18:30 Uhr)



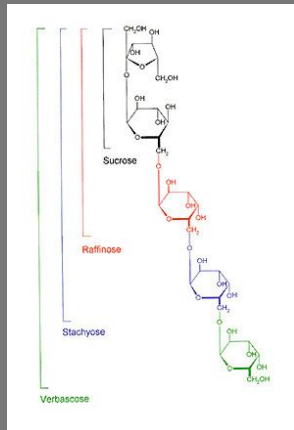
Ölschläger 17

## 2. Funktion und Bedeutung der Darmflora

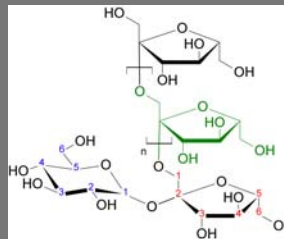
### 2.4 Aufschluss von „unverdaulichen“ Nahrungsbestandteilen

Metabolisierung von resistenten Kohlenhydraten

Lactose, Raffinose, Stachyose, Verbascose



Fructosepolymere z.B. Inulin



Ölschläger 18

## 2. Funktion und Bedeutung der Darmflora

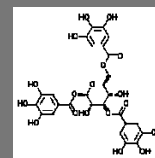
### 2.5 Katabolische Inaktivierung von antinutritiven Nahrungsbestandteilen

Tannine (Proanthocanidine, Polyhydroxyphenole)

Phytate (Hexaphosphorsäure des Myoinosits)

Diese Faktoren komplexieren Mineralien wie Eisen-, Zink- und Calciumionen.

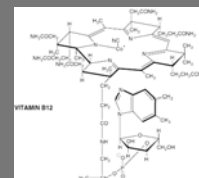
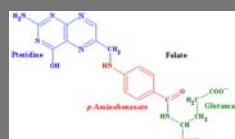
Effekt: verstärkte Absorption von Mineralien.



### 2.6 Synthese von Vitaminen bzw. Erhöhung des Plasmaspiegels für Vitamine

Erhöhung des Plasmaspiegels für Vitamin D und K

Erhöhung des Plasmaspiegels für Folat und Vitamin B12



Ölschläger 19

### 3. Darmflora-Störungen als Ursache für Erkrankungen

Öschlager 20

### 3. Darmflora-Störungen als Ursache für Erkrankungen

#### 3.1 Störungen der Darmmikrobiota durch Antibiotikabehandlungen

3.1.1 Antibiotika-assoziierte Diarrhö  
(siehe den Vortrag von Herrn Professor Krammer um 18:50 Uhr)

3.1.2 Pseudomembranöse Colitis (*Clostridium difficile*)

Öschlager 21

### 3. Darmflora-Störungen als Ursache für Erkrankungen

#### 3.2 Störung der Mikrobiota durch Pathogene

*S. typhimurium* induziert eine heftige inflammatorische Wirtsreaktion, die viele Mitglieder der Microbiota dezimiert.

#### 3.3 Small intestinal bacterial overgrowth SIBO /

Bakterielle Überbesiedlung des Dünndarms  
Durch fehlende Peristalsis: akute Pankreatitis

3.4 SIBO (in 27 %) nach Genesung von einer durch *Campylobacter jejuni* verursachten akuten Gastroenteritis, die sich in IBS (Reizdarm / Colon irritabile) äußert .

Ölschläger 22

### 3. Darmflora-Störungen als Ursache für Erkrankungen

#### 3.5 Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Beobachtet wird bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen immer eine Veränderung der Mikrobiota:

z.B. die Zunahme der Gattung *Clostridium* und/oder der Enterobacteriaceen, während eine Abnahme der Zahl an *Faecalibacterium prausnitzii* (Morbus Crohn des Ileums) und von Bifidobakterien berichtet wurde.

Ob dies aber Ursache oder Wirkung ist, bleibt noch zu klären. Nichtsdestotrotz kann durch die therapeutische Gabe von bestimmten Stämmen der humanen Mikrobiota eine Verlängerung der Remissionszeit bei Colitis ulcerosa Patienten erreicht werden z.B. durch den probiotischen *E. coli* Stamm Nissle 1917 oder *Bifidobacterium longum* (Macfarlane 08). Dies ist jedoch in Morbus Crohn Patienten in der Regel nicht möglich.

Ölschläger 23