

# Das Mikrobiom: Ein Universum für sich



Reto Stocker

Von Reto Stocker

Mehr als 90 Prozent unserer Zellen sind mikrobiellen Ursprungs. Ihre Gesamtheit wird als Mikrobiom bezeichnet, wobei das intestinale Mikrobiom im Fokus der aktuellen Forschung steht. Ein gesundes, balanciertes Mikrobiom ist wichtig für die Wirtsabwehr von eindringenden pathogenen Keimen. Wichtige andere Rollen des Mikrobioms sind die Stimulation des Immunsystems, das konstitutive Priming systemischer Immunzellen, die Verdauung und die Bereitstellung von Nährstoffen und die Synthese von essenziellen Nährstoffen und Vitaminen. Das Mikrobiom beeinflusst auch unser Gehirn auf erstaunliche Weise und hat diagnostische und modulatorische Implikationen im Körper. In der Forschung wird das Mikrobiom mittlerweile als eigenes Organ angesehen.

## Einführung

Die Aussage, Menschen seien eigentlich bakterielle Wesen, mag auf den ersten Blick absurd anmuten. Allerdings sind mehr als 90 Prozent der Zellen, die wir mit uns herumtragen, mikrobiellen Ursprungs. Dabei handelt es sich in über 90 Prozent um Bakterien. Zu-

sätzlich finden sich andere, nicht menschliche Zellen mit Zellkern, wie zum Beispiel Pilze, Protozoen (Eukaryoten), einzellige Organismen mit einem meist in sich geschlossenen DNA-Molekül (Archaeen), und knapp 6 Prozent sind Viren.

Die Gesamtheit der Mikroben wird als Mikrobiom bezeichnet, und es besteht eine sehr enge Interaktion (Kommunikation, Kreuzernährung, Integration mit verschiedenen körpereigenen Systemen) zwischen dem menschlichen Wirt und seinem Mikrobiom. Diese Interaktion hat sich über Hunderttausende von Jahren entwickelt und repräsentiert heute eine ko-evolutionäre Balance zwischen Wirt und kolonisierender Flora.

Im Rahmen der modernen Medizin und der Entwicklung von Antibiotika entwickelte sich eine biochemische und molekulare Fähigkeit der Mikroben, ihre Virulenz zu regulieren, sich zu adaptieren und trotz der Errungenschaften der modernen Interventionen zu überleben. Dies wird als «evolutionäre Fitness» bezeichnet (1).

## Was ist das Mikrobiom genau?

Das Mikrobiom gibt es eigentlich nicht. An verschiedenen Körperregionen wie Nase, Mund, Ösophagus, Magen, Dünn- und Dickdarm und an verschiedenen Stellen der Haut hat es eine unterschiedliche Mikrobiota. Eine weitere Diversifikation gibt es zusätzlich in Abhängigkeit von Geschlecht, Alter, geografischer Lage und Klima, Kultur und Lebensweise. Zudem besteht eine unterschiedliche prozentuale Verteilung der verschiedenen Bakterien zu verschiedenen Tageszeiten (2). Statt vom menschlichen Mikrobiom zu sprechen, müsste man eigentlich vom Mikrobiom des nicht dominanten Vorderarms einer weissen Frau mit faserreicher Ernährung im Alter zwischen 45 und 55 Jahren um die Mittagszeit sprechen. Das komplexe Zusammenspiel von Raum, Zeit und Wirt erklärt die hohe Diversität des Mikrobioms, welche durch infrequente klonale Expansion, aber hohe Diversität, auf Subspezies-Level genetisch, über Ernährung und Medikamente sowie über bakterielle Pioniere (Who gets there first) beeinflusst wird (3). Viele der Bakterien sind nicht kultivierbar, weshalb erst in den letzten Jahren mittels Genanalysen mehr über dieses Universum bekannt geworden ist.

## Intestinales Mikrobiom

Im Fokus der aktuellen Forschung steht vor allem das intestinale Mikrobiom, welches sicher auch den grössten Teil des menschlichen Mikrobioms ausmacht und auf welches sich dieser Artikel im Folgenden konzentriert. Dieses besteht aus  $10^{13}$  bis  $10^{14}$  Bakterien und repräsentiert mehr als 99 Prozent der Gene (9 Millio-

### Le microbiome: un univers à part

#### Mots clés:

microbiome intestinal – système immunitaire – compétition microbienne – translocation – régulation de la virulence bactérienne – maladies associées au microbiome

Un microbiome en bonne santé et bien équilibré est important pour aider les défenses de l'organisme hôte à lutter contre l'envahissement par des agents pathogènes. Les autres rôles importants du microbiome sont la stimulation du système immunitaire, le priming constitutif des cellules immunitaires systémiques, la digestion et la fourniture de nutriments ainsi que la synthèse de nutriments essentiels et de vitamines.

Le microbiome influence aussi, de manière surprenante, notre cerveau, et il a des implications diagnostiques et modulatrices dans l'organisme. En recherche, le microbiome est désormais considéré comme étant par lui-même un organe.

nen; das menschliche Genom umfasst rund 22 000 Gene). Die Bakterien – 500 bis 1000 verschiedene Spezies – werden von drei Stämmen (grampositiven Firmicuten, gramnegativen Bacteroides und grampositiven Actinobacteriae) dominiert (4). Die Bakterien interagieren und kommunizieren mit den lokalen Geweben, welche durch sie kolonisiert worden sind. Sie stimulieren und modulieren die Schleimhautimmunologie und verdrängen andere, idealerweise pathogene Keime, zum Beispiel durch Konkurrenz um Nahrung, Raum, Produktion von Bakteriocinen, Induktion von antimikrobiellen Substanzen und Schleimbildung durch zum Beispiel intestinale Zellen von der Region, die sie kolonisiert haben (5). Sie sind an der Synthese von Nährstoffen, Vitaminen und für Wirt und andere Mikroben wichtigen Metaboliten beteiligt und primen systemische Immuneffektorzellen. Die Kolonien werden durch Antibiotika, Pestizide, antibakterielle Substanzen, aber auch durch den Geburtsweg (Sectio vs. vaginale Geburt) gestört beziehungsweise modifiziert.

### Entwicklung des intestinalen Mikrobioms

Das Mikrobiom verändert sich von der Geburt bis ins hohe Alter. Primär wird seine Anlage durch genetische Faktoren, den Geburtsweg (vaginale Geburt vs. Sectio) und die Ernährung (Muttermilch vs. Formuladäten) modifiziert, besteht aber zum Hauptteil aus Firmicuten und zeigt eine relativ tiefe Diversität und Stabilität. Mit der Entwicklung des Immunsystems, dem Auftreten von Kinderkrankheiten, antibiotischer Behandlung oder Antibiotika in Spielzeugen oder der Umgebung sowie beeinflusst durch Umgebungsfaktoren (steril vs. «schmutzig») nimmt die Diversität zu. Kindheit und frühe Adoleszenz, Pubertät und Aufnahme sexueller Aktivitäten, Umweltfaktoren und Lebensgewohnheiten steigern die Diversität weiter und führen beim Erwachsenen zu einem Mikrobiom mit hoher Diversität (v.a. Zunahme an Bacteroidetes und Proteobacteria) und Stabilität. Im höheren Alter bleibt die Diversität erhalten, aber die Stabilität der Zusammensetzung nimmt wieder ab (2). Wie bereits oben erwähnt, beeinflusst der Geburtsweg die frühe Kolonisation des Intestinaltrakts. Bei der vaginalen Geburt sind die Pioniere vor allem Laktobazillen und *Prevotella* spp. («vertikale Vererbung» durch die Mutter), bei der C-Sectio dominieren Staphylokokken, *Corynebakterien* und *Propionibakterien* spp., teilweise aus der Spitalumgebung. Das führt zu einer erhöhten Empfindlichkeit gegenüber bestimmten Pathogenen sowie zu einem erhöhten Risiko für atopische Erkrankungen (6). Haupthindernisse bei der Kolonisation bestehen in tiefen pH-Werten, Speichel und Galle, dem Immunsystem, im Finden und Anhaften an der Darmwand und im Überleben unter sehr variablem Nahrungsangebot. Keime, welche den Gastrointestinaltrakt erfolgreich kolonisieren, übernehmen dann reguläre Aufgaben in der Verdauung, der Vitaminproduktion beziehungsweise -bereitstellung und vielem mehr. Der Austausch von Genen zwischen den

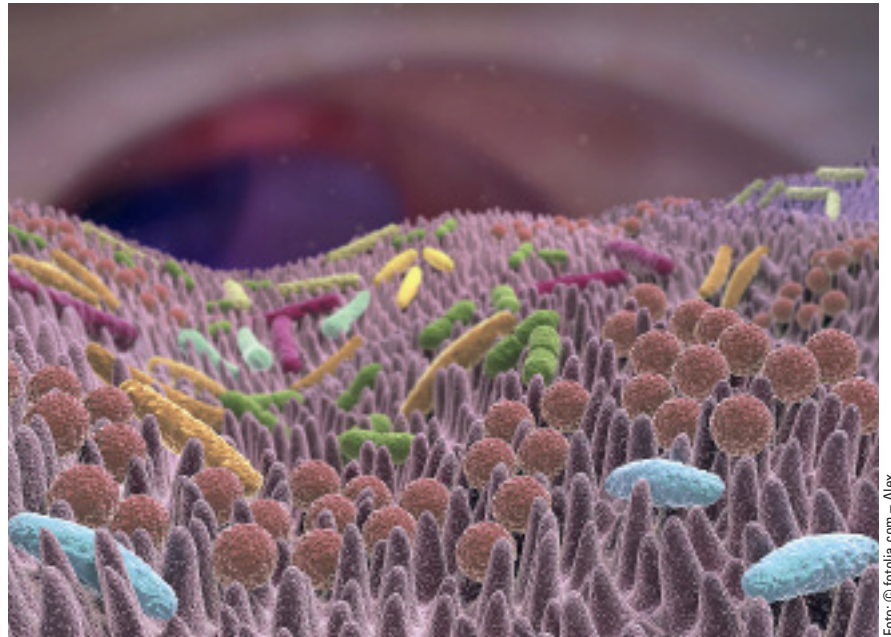


Foto: © fotolia.com – Alex

Im Fokus der aktuellen Forschung steht vor allem das intestinale Mikrobiom, welches sicher auch den grössten Teil des menschlichen Mikrobioms ausmacht.

Die Bakterien – 500 bis 1000 verschiedene Spezies – werden von drei Stämmen (grampositiven Firmicuten, gramnegativen Bacteroides und grampositiven Actinobacteriae) dominiert (4). Die Bakterien interagieren und kommunizieren mit den lokalen Geweben, welche durch sie kolonisiert worden sind. Sie stimulieren und modulieren die Schleimhautimmunologie und verdrängen andere, idealerweise pathogene Keime, zum Beispiel durch Konkurrenz, um Nahrung, Raum, Produktion von Bakteriocinen, Induktion von antimikrobiellen Substanzen und Schleimbildung durch zum Beispiel intestinale Zellen von der Region, die sie kolonisiert haben (5).

Myriaden von Spezies kann neue Kombinationen von antibiotikaresistenten «Superbugs» generieren. Das Vorhandensein und die Zusammensetzung des Mikrobioms hat im Laufe des Lebens einen grossen Einfluss auf die Entwicklung des Immunsystems: In der späten Pränatalphase findet sich im Gastrointestinaltrakt eine tiefe Dichte und Komplexität an kommensalen Mikroorganismen («Mitesser»; Lebewesen, das sich von den Nahrungsrückständen eines Wirtsorganismus ernährt, ohne ihn zu schädigen), eine tiefe Epithelzellproliferation, eine hohe Produktion an antimikrobiellen Peptiden (CRAMP; Cathelicidin-Related Antimicrobial Peptides), eine hohe Expression des Toll-like-Rezeptors 4 (TLR4) ohne TLR-Stimulation, tiefe IgA-produzierende Plasmazellen und ein tiefes Homing (Rückkehr immunkompetenter Lymphozyten über die Lymphbahn in Lymphozyten und Milz) sowie eine Differenzierung von Lymphozyten. Unter dem Einfluss der Kolonisation im Gastrointestinaltrakt des Neugeborenen kommt es gegen Ende der Entwöhnung von der Muttermilch zu einem Anstieg der Epithelzellproliferation, einem Abfall von CRAMP und einer Zunahme der Dichte und der Komplexität an kommensalen Mikroorganismen, einem Abfall der Expression des TLR4 mit Toleranz gegenüber der TLR-Stimulation, einer Zunahme des Homings und der Differenzierung von Lymphozyten und am Schluss zu einem Anstieg der IgA-produzierenden Plasmazellen sowie im Rahmen der Panethzellreifung der Produktion von panethzellproduzierten Peptiden und REG3γ (Regenerating Islet-Derived Protein 3 Gamma) zu einem der zahlreichen durch Panethzellen produzierten antimikrobiellen Peptide (7).

«Im höheren Alter bleibt die Diversität erhalten, aber die Stabilität der Zusammensetzung nimmt wieder ab.»

## Lokale Funktion des intestinalen Mikrobioms

Im Gastrointestinaltrakt spielt das Mikrobiom im Rahmen der integrierten Physiologie eine sehr grosse Rolle. Es beeinflusst die mukosale Immunologie durch Kooperation und Unterwanderung und spielt zusammen mit Umweltfaktoren durch die Kolonisation des Mukuslayers mit symbiotischen und kommensalen Keimen eine zentrale Rolle bei der Entwicklung des kindlichen Immunsystems. Symbiotische Keime können dabei auch inflammatorische Reaktionen hemmen.

## Interaktion des Mikrobioms mit dem lokalen und dem systemischen Immunsystem

Komponenten des Mikrobioms exprimieren molekulare Strukturen, sogenannte Microorganism-Associated Molecular Patterns (MAMP) wie zum Beispiel Lipopolysaccharid (LPS) und Peptidoglykan. Diese werden durch Pattern Recognition Receptors (PRR), wie zum Beispiel die auf den intestinalen Epithelzellen exprimierten Toll-like-Receptors (TLR), erfasst. Die PRR-Antwort orchestriert dann die Immunantwort über signalübertragende Kaskaden mit konsekutiver Aktivierung des Nuclear-Factor-Kappa-B-(NF- $\kappa$ B-) Pathways, was die antibakterielle Immunantwort initiiert. MAMP, Metabolite und Nährstoffe wirken als Signale auf die intestinalen Zellen zur kontinuierlichen Produktion und Sekretion von Mukus, antimikrobiellen Substanzen und Zytokinen. Dabei variiert nicht nur die Zusammensetzung des Mikrobioms, sondern auch die Expression der PRR in den verschiedenen Abschnitten des unteren Gastrointestinaltrakts, weshalb die Interaktion zwischen Mikrobiom und dem Immunsystem in den verschiedenen Abschnitten unterschiedlich ist (8).

Das intestinale Epithel verfügt über verschiedene Zellen, welche sich im Sinne einer Arbeitsteilung ergänzen: Gobletzellen produzieren und sezernieren Muzine, welche zwei Schichten Mukus bilden, wovon nur die lumenseitige Schicht durch das intestinale Mikrobiom besiedelt ist. Panethzellen enthalten Granula mit antimikrobiellen Substanzen (z.B. Defensinoine und Lektine), welche in die Mukusschicht sezerniert werden. M-Zellen sind die wichtigsten Zellen zum Sampling von Antigenen und Bakterien aus dem Darm-lumen und transferieren diese zu den unterliegenden Peyer-Plaques (aggregierte Lymphknoten). Zur erleichterten Aufnahme der Mikroben sind die M-Zellen nicht von Mukus bedeckt. Dendritische Zellen prozessieren und präsentieren Antigene von T- und B-Zellen in den Peyer-Plaques oder migrieren zu den mesenterialen Lymphknoten, um dies zu tun. B-Zellen, die herangereift sind, werden zu Ig-A-sezernierenden Plasmazellen. Auch die intraepithelialen dendritischen Zellen sind direkt in die Aufnahme von Antigenen und Bakterien von der mukosalen Oberfläche involviert (7). Die Enterozyten (intestinale Epithelzellen) sind über Tight Junctions miteinander verbunden. Eine enge Regulation der Tight Junctions

macht das intestinale Epithel zu einer selektiv permeablen Membran. Enteroendokrine Zellen sezernieren verschiedene Hormone (z.B. Serotonin) als Antwort auf verschiedene Stimuli, einschliesslich bakteriell produzierter Toxine.

Es bestehen verschiedene bi-direktionale Verbindungen zwischen Wirt und dem intestinalen Mikrobiom:

- Die intestinalen Bakterien versorgen den menschlichen Körper mit kurzkettigen Fettsäuren, Vitaminen, anderen essenziellen Komponenten und anderen Nährstoffen.
- Im Rahmen eines starken Gegenseitigkeitsverhältnisses innerhalb des Mikrobioms kann ein Teil der Bakterien primäre Nährstoffe verwerten, während andere von deren Metaboliten (sekundäre Nährstoffquelle) abhängig sind.
- Andere Mitglieder des Mikrobioms spielen bei der Beseitigung von Abfallprodukten eine Rolle.

## Interaktion des intestinalen Epithels mit den pathogenen Mikroorganismen

Es gibt verschiedene Gründe, weshalb Bakterien mit dem Darmepithel des Wirts interagieren: Einerseits erfüllen sie damit nutritive Bedürfnisse, wofür sie auch in die Zelle eindringen und zytotoxische Aktivitäten entfalten können, andererseits können sie den Wirt im Sinne der klassischen, oftmals parazellulären Translokation invadieren (9). Einer der Mechanismen, wie diese Interaktion ermöglicht wird, besteht darin, dass die Bakterien hochspezifische Adhäsine oder gar eigene Rezeptoren in die Zellmembran der Wirtszelle einbringen, um sich daran anzuhängen und eine Wirtsantwort auszulösen (10, 11). Ein Beispiel dafür stellen enteropathogene *E. coli* dar: Diese Keime können eine kontaktabhängige Aktivierung einer Signalübertragung in intestinalen Zellen bewirken, welche dann zum Unterbruch der epithelialen Tight Junctions und damit zur parazellulären Permeabilitätssteigerung führt. Des Weiteren können sie die Epithelzelle zur Zytokinproduktion anregen, die Zellfunktion per se kompromittieren, eine Zellapoptose induzieren und Neutrophile aktivieren (12). Im Weiteren verfügen gewisse Keime über ein Arsenal an Möglichkeiten, um die Wirtszelle unter Umgehung des körpereigenen Immunsystems auszubeuten:

- *Type-III-Sekretion-System*: Dieses System erleichtert dem Bakterium die Injektion von letalen Toxinen in die (Wirts-)Zelle, ohne dass die Bakterien in diese eindringen müssen. Typische Keime, welche dieses Sekretionssystem verwenden, sind *Yersinia*, *E. coli* und *Pseudomonaden*. Das System wird ebenfalls beim Kontakt zwischen Bakterium und Epithel des Wirts aktiviert (13). Faszinierend daran ist, dass die Bakterien eine Art Mikrospritzenpumpe verwenden, um bakterielle Zytotoxine in einer Dosis in die Zellmembran zu injizieren, die gross genug ist, damit sie in einer substanziellen Menge das Zytoplasma erreichen (14). Das System wird mit anderen Virulenzgenen koreguliert und steht unter der Kontrolle des Quorum-Sensing-Systems.

«Der Geburtsweg beeinflusst die frühe Kolonialisierung des Intestinaltrakts.»

- *Biofilm*: Biofilm produzierende Bakterien produzieren einen dünnen Film zwischen Bakterium und Wirt, welcher die Pathogene für das wirteigene Immunsystem unerreichbar werden lässt. Der Biofilm besteht aus Polysaccharidfasern in einer Wasserstrasse, welche den Bakterien eine Zell-zu-Zell-Kommunikation und eine Abfallentsorgung erlaubt und für Immunzellen undurchdringlich ist. Dieser Biofilm ist zudem gegenüber Desinfektionsmitteln und Antibiotika resistent (15). Ein typischer Biofilmbildner ist *Pseudomonas*. Das erklärt, weshalb diese Keime in der Lunge von Patienten mit zystischer Fibrose praktisch unmöglich eliminiert werden können, sobald sie im Biofilm existieren.
- *Molekulare Mimikry*: Ein weiteres faszinierendes Beispiel, wie Bakterien die Wirtszelle durch feindliche Übernahme der zellulären Signalübertragung zu ihrem Vorteil ausbeuten können, ist die Verwendung von Molekülen, die den Wirtsmolekülen ähnlich sind (16). Diese Moleküle werden während der Anhaftung freigesetzt und inaktivieren das zelluläre Alarmsystem des Wirts (17).

### **Mikrobieller Wettbewerb innerhalb der Darmflora**

Die Konkurrenz zwischen verschiedenen Darmkeimen wird vor allem dann relevant, wenn zum Beispiel bei kritisch Kranken die bakteriellen Umfeldbedingungen für die Keime ungünstig sind und die Ressourcen knapp werden.

So konnte gezeigt werden, dass die mikrobielle Population eines gestressten Wirts zu Stämmen shiftet, welche eher der Penetration von Antibiotika widerstehen können oder gar antibiotikaresistent sind (4). Zusätzlich führen kompetitive Bedingungen zu einer aktiven Einschränkung der eigenen Bedürfnisse oder aber auch der Bedürfnisse oder gar der Existenz der Konkurrenten. So konnte gezeigt werden, dass gewisse Bakterien Moleküle (z.B. Bakteriocine) freisetzen, welche das Wachstum konkurrierender Bakterien hemmen oder diese gar eliminieren (18). Die Keime verfügen damit über die Fähigkeit, klonal zu avirulenten oder eben virulenten Stämmen zu expandieren. Aggressive Konkurrenz führt zur Expansion von virulenten Phänotypen, wobei der aus der Virulenz resultierende Schaden des Wirts im Sinne eines Kollateralschadens eintritt.

Zusammengefasst kann somit festgehalten werden, dass die Mikroben fähig sind, Änderungen in ihrer lokalen Umgebung wahrzunehmen und Säugetierzellen zur Ernährung, zum Selbstschutz oder zum Angriff auszubeuten.

### **Translokation – eine paradoxe Strategie**

Aus den oben erwähnten Beobachtungen stellen sich folgende Fragen:

- Warum sollten die intestinalen Keime in tiefere Gewebe eindringen und sich dort ausbreiten, wenn sie sich von den Epithelzellen ernähren können und

Virulenzfaktoren in und zwischen ihnen freisetzen können?

- Warum sollten sich diese Mikroben von den Epithelzellen in Lymphknoten oder gar ins Blut des Wirts begeben, wo sie sich ja der heftigsten Immunreaktion des Wirts aussetzen, die dieser zur Verfügung hat?

Grundsätzlich gibt es nur wenige vernünftige Erklärungen, warum diese Translokation durch die epitheliale Membran in das systemische Kompartiment stattfinden könnte: Entweder ist sie das Resultat extrem ungünstiger Bedingungen im intestinalen Milieu (ungenügend Nährstoffe, Hypoxämie, extreme mikrobielle Konkurrenz), oder aber sie ist ein zufälliges Überschwappen bei einem infektiösen Prozess und weist damit lediglich auf eine erhöhte Virulenz hin.

Das erklärt, weshalb die klassische Theorie, dass die Überwindung der intestinalen Barriere eine systemische Entzündungsreaktion und in der Folge ein Sepsissyndrom, ein multiples Organversagen oder sogar den Tod zur Folge hat, mit verschiedenen Beobachtungen im Widerspruch steht: So resultieren aus der intravenösen systemischen Injektion der gleichen Quantität und Spezies von Bakterien, wie sie bei der Translokation beobachtet werden kann, kaum eine inflammatorische Reaktion, kein Organversagen und eine vollständige Erholung (19). Dieselbe Beobachtung kann nach der Injektion eines extrem hoch virulenten *Pseudomonas*-Stamms gemacht werden, wenn dieselbe Menge injiziert wird wie die, welche bei der spontanen Translokation nachgewiesen werden kann (20). Jedoch braucht es viel weniger Organismen desselben *Pseudomonas-aeruginosa*-Stamms, um den Wirt zu töten, wenn diese intrazökal injiziert werden, als wenn eine intravenöse Injektion vorgenommen wird (21). Das weist darauf hin, dass andere Prozesse als die bakterielle Translokation am tödlichen Effekt dieses Pathogens im Intestinaltrakt beteiligt sein müssen. Diese Vermutung wird auch durch andere Beobachtungen gestützt: So führt die Instillation von *P. aeruginosa* in die Trachea bei Versuchstieren zu einer Mortalität von 100 Prozent, während die gleiche Menge, wenn sie intravenös injiziert wird, eine Mortalität von 0 Prozent zur Folge hat (22). Daraus kann geschlossen werden, dass zumindest im experimentellen Setting die Translokation, selbst wenn mit einer Bakteriämie vergesellschaftet, irrelevant für den letalen Ausgang ist und dass keine Korrelation zwischen Bakteriämie und Mortalität besteht. Die Hauptdeterminante der Mortalität ist die Fähigkeit der Mikroben, sich an das mukosale Epithel anhaften zu können und dort Reaktionen zu induzieren. Das kann dadurch erklärt werden, dass, wie in der Literatur gut beschrieben, die Klärung von Bakterien aus Blut und retikuloendotheliales System (Leber, Milz, Lymphknoten, Mesenterium) rasch, effizient und meist ohne Entzündungsreaktion erfolgt (23–25).

Zusammengefasst kann festgehalten werden, dass Bakterien ihre Virulenzgene als Reaktion auf die Populationsdichte und das aktuelle Milieu an- und

«Mikroben sind fähig, Änderungen in ihrer lokalen Umgebung wahrzunehmen und Säugetierzellen zur Ernährung, zum Selbstschutz oder zum Angriff auszubeuten.»



Foto: © fotolia.com – fotoliaxrender

Das Beispiel Salmonellen zeigt, welchen Einfluss eine Reduktion des Sauerstoffgehaltes im intestinalen Milieu hat: Wachsen Salmonellen bei tiefem Sauerstoffgehalt, induzieren sie einen epithelialen Permeabilitätsdefekt, was nicht beobachtet werden kann, wenn der Sauerstoffgehalt normal ist (38).

abschalten können und eine niedrigere Virulenz zeigen, wenn sie sich in Lymphknoten und Blut befinden, da ihre Anzahl dort klein ist und die Expression der Virulenz (besseres Erkennen durch das Immunsystem des Wirts) eher eine Belastung als einen Nutzen darstellt. Damit erklärt sich auch die Beobachtung, dass die Bakteriämie per se (Ausnahme Endokarditis oder schwere Immundefekte) ein Ereignis mit tiefer, den Wirt bedrohender Virulenz darstellt.

Diese Aussage wird durch eine Reihe von weiteren Beobachtungen gestützt: Nur 10 Prozent der abgenommenen Blutkulturen sind positiv, obwohl nur bei Verdacht auf schwere Infektion überhaupt solche abgenommen werden (26, 27). Auch bei schwersten Infekten können in Blutkulturen nie mehr als  $>10^3$  cfu/mL an Bakterien nachgewiesen werden (28); zur Induktion einer Sepsis, eines Multiorganversagens oder einer erhöhten Mortalität braucht es jedoch mehr als  $10^8$  cfu/mL an Bakterien (29). Nach Injektion von  $6 \times 10^6$  cfu/mL *P. aeruginosa* alle 8 Stunden kann man in den Blutkulturen lediglich  $<10^4$  cfu/mL nachweisen, und die Mortalität bleibt bei 0 Prozent (23). Positive Blutkulturen bei kritisch Kranken, Traumatopatienten und Brandverletzten haben keinen prädiktiven Wert bezüglich Organversagens und Mortalität (30, 31), da es selbst bei sehr hohen Konzentrationen (fünf Potenzen höher als klinisch beobachtet) zu einer raschen Klärung ohne wesentliche Entzündung kommt.

Das stellt die These, dass die Bakteriämie für die Triggerung des multiplen Organversagens (MOV) und eine erhöhte Mortalität verantwortlich ist, klar infrage.

Wie kann das erklärt werden? Wahrscheinlich stellt die Bakteriämie lediglich ein «Spillover»-Phänomen aus Geweben mit hoher mikrobieller Belastung dar. Und obwohl ein Zeichen für das invasive Potenzial

des bedrohenden Pathogens in einem lokalen Fokus, ist die Bakteriämie per se harmlos.

Zusammengefasst kann festgehalten werden, dass eine Bakteriämie mit Keimdichten, wie man sie klinisch üblicherweise sieht, nur selten für eine systemische Sepsis beziehungsweise ein MOV verantwortlich ist. Ein Beispiel für diese Aussage ist die Kathetersepsis: Normalerweise hat diese, selbst bei Persistenz eines speziell virulenten Keims in der Blutbahn, wenig klinische Auswirkungen und verursacht selten ein multiples Organversagen oder gar den Tod des Patienten (32, 33). Wie kann das sein, trotz der Perzeption, dass die Kathetersepsis ein lebensbedrohliches Problem darstellen kann? Um das zu erklären, muss klar zwischen der echten Kathetersepsis und der sekundären Besiedelung des Katheters durch eine Bakteriämie aus einem Fokus mit virulenten, endogenen Keimen unterschieden werden. Während Ersteres selten zum Organversagen führt, kann ein solches bei Letzterem koexistieren. Bei diesem können die Katheterentfernung und die antibiotische Therapie allein oft nicht die Infektion beseitigen, weshalb die sekundäre Besiedelung eine deutlich schlechtere Prognose hat (34). Es muss deshalb darauf geachtet werden, dass die koexistierende Infektion nicht als Kathetersepsis fehl-diagnostiziert wird, weil diese sehr wohl mit einem erhöhten Sterberisiko einhergehen kann und grundsätzlich nach einer Fokussuche und -sanierung verlangt.

### Regulation der bakteriellen Virulenz

Bakterien verfügen über ein «sensory input system» (35). Dieses erlaubt ihnen, Änderungen in der lokalen Umgebung zu detektieren und sich in einem kompetitiven Umfeld und in Zeiten eines reduzierten Nährstoffangebots in Hinblick auf die Sicherstellung des eigenen Überlebens anzupassen. Damit hat die Mikroumgebung beziehungsweise das lokale Milieu einen grossen Einfluss auf das Verhalten der Keime: In Zeiten tiefer Konkurrenz für Nährstoffe und neutraler Wachstumsbedingungen (z.B. unter Laborbedingungen mit nährstoffreichen Zuchtmedien) wird, mit dem Ziel der Reduktion des Energieverbrauchs, die Virulenzgene zur Energiekonservierung ausgeschaltet (36). Wenn sich das lokale Milieu verschlechtert, werden Virulenz-Genprodukte exprimiert. Die charakteristischen Elemente des lokalen Milieus sind einfache physikalische und chemische Signale, Änderungen der Nährstoffkonzentration, des pH-Werts und des Redoxstatus sowie die Wirkung von gegenregulatorischen Hormonen (37). Aufgrund von Änderungen in diesen Milieufaktoren können die Bakterien ihre Virulenzgene an- und abschalten, während sie sich von einem Milieu zum anderen bewegen: In einem Fall werden die Gene so gesetzt, dass eine Adhärenz des Bakteriums an Zellen (z.B. intestinale Epithelzellen) möglich wird; im Fall des Transits durch Gewebe werden sie ausgeschaltet, um eine Adhärenz an «feindliche» Makrophagen oder Neutrophile zu vermeiden.

### *Mikrobielle Virulenz als Antwort auf Änderung des lokalen Milieus: Sauerstoff*

Am Beispiel der Salmonellen kann schön gezeigt werden, welchen Einfluss eine Reduktion des Sauerstoffgehalts im intestinalen Milieu hat: Wachsen Salmonellen bei tiefem Sauerstoffgehalt, induzieren sie einen epithelialen Permeabilitätsdefekt, was nicht beobachtet werden kann, wenn der Sauerstoffgehalt normal ist (38). Das könnte dahingehend interpretiert werden, dass entweder der Sauerstoffgehalt über diesen Defekt erhöht ist oder aber die Salmonellen mittels der erhöhten Permeabilität aus dem aktuellen Milieu zu entkommen suchen.

### *Mikrobielle Virulenz als Antwort auf Änderung des lokalen Milieus: Stress*

Untersuchungen haben gezeigt, dass Bakterien den Zustand des Wirts erkennen und darauf reagieren können. So konnte nachgewiesen werden, dass beim typischen Darmbakterium *Escherichia coli* die Virulenz-Gen-Expression durch Noradrenalin, das wichtigste gegenregulatorische Hormon im katabolen Stress, hochreguliert wird. Ein überzeugender Hinweis, dass Bakterien erkennen, ob der Wirt sich in einem Status des Wohlbefindens oder sich im Stress befindet, und sich entsprechend anpassen (39).

Auch chirurgischer Stress gibt den intestinalen Bakterien Signale, welche zur Expression von Virulenz führen. Dieses Postulat kann durch experimentelle Beobachtungen untermauert werden. So führt chirurgischer Stress, zum Beispiel als Folge einer Hepatektomie, zur Hochregulierung von PA-I-Lektin/Adhäsion (40), zu einem der zwei Virulenzdeterminanten von *P. aeruginosa*. Das geschieht in Verbindung mit einem signifikanten Anstieg der Noradrenalin-Konzentration im Zoekum und ausgeprägten Veränderungen beim pH-Wert und Redoxstatus (41). Das zeigt, dass chirurgischer Stress über Veränderungen des intestinalen Milieus zur Expression von potenziell bedrohlichen Virulenzfaktoren der kolonisierenden, pathogenen intestinalen Flora führen kann, welche erkennt, dass der Wirt, und damit seine Eigeninteressen, bedroht sind.

### **Zell-zu-Zell-Kommunikation zwischen Bakterien innerhalb des Mikrobioms**

Die Modulation der bakteriellen Virulenz wird erst relevant, wenn nicht nur ein Bakterium, sondern ganze Populationen gemeinsam reagieren. Dazu hat die Evolution ausgeklügelte Kommunikationssysteme entwickelt, welche unter anderem auf diffusiblen Molekülen, zum Beispiel N-Acyl-Homoserin-Lakton, basieren. Diese erlauben den Bakterien, ihre Umgebung wahrzunehmen, ihre Populationsdichte zu detektieren, die Virulenzgene zu aktivieren und sich in sozialen Gruppen zu bewegen.

So konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass ein einzelnes Bakterium, wenn es mittels Mikroforceps von seiner Gruppe entfernt wird, retraktil wird, zu «zucken» beginnt, und versucht, sich zu seiner Gruppe zurückzubewegen. Das belegt, dass das Bakterium in

der Lage ist, seine Position und die Abgeschiedenheit von seiner Gruppe zu erkennen (42). Jedoch begeben sich Bakterien, die sich in dicht gedrängten Populationen befinden, in eine stationäre Phase und bremsen das Wachstum, um die Ressourcen zu schonen (43). Dieses Verhalten wird durch ein bakterielles Kommunikationssystem, das sogenannte Quorum-Sensing-Signaling-System, ermöglicht, welches als globaler Regulator der Virulenz-Gen-Expression wirkt (44). Dieses System befähigt die Bakterien, ihre Populationsdichte zu detektieren und Virulenz nur dann zu induzieren, wenn eine kritische Masse überschritten wird. Bakterien, die mittels dieses Systems kommunizieren, können einen Überraschungsangriff gegen den Wirt lancieren und dabei ein koordiniertes und überwältigendes Arsenal an Virulenzfaktoren einsetzen.

Zusammengefasst kann festgehalten werden, dass Bakterien fähig sind, sich in funktionellen Gruppen zu organisieren und zu kommunizieren, um damit in ihrem besten Interesse zu handeln, wenn eine Anpassung oder eine Reaktion auf Bedrohung notwendig sind.

### **Systemische Funktionen des Mikrobioms und mikrobiomassoziierte Krankheiten**

Wie bereits oben beschrieben, hat das Mikrobiom einen wesentlichen Einfluss auf das gesamte Immunsystem. Der Einfluss stoppt also nicht im Gastrointestinaltrakt. Metaboliten, wie zum Beispiel kurzkettige Fettsäuren (SCFA) oder Butyrat, werden teilweise als Hauptnährstoffe von den intestinalen Epithelzellen aufgenommen, gelangen aber auch direkt in die systemische Zirkulation. SCFA haben eine antiinflammatorische Wirkung auf Leukozyten. Komponenten des intestinalen Mikrobioms translozieren in die systemische Zirkulation und primen kontinuierlich Neutrophile. Das wiederum stärkt die Fähigkeit, pathogene Keime abzutöten. Darüber hinaus funktioniert das Mikrobiom als sekretorisches Organ und spielt bei der Bereitstellung von systemischen Nährstoffen und der Produktion von diversen Metaboliten (z.B. Citrat, Kreatinin, Taurin, Laktat, Glycin u.v.m.) sowie im Leber- und Gallemetabolismus eine entscheidende Rolle.

Aufgrund der vielfältigen Funktionen sowie der Interaktion zwischen dem Mikrobiom und dem Wirt ist es nachvollziehbar, dass heute eine Reihe von systemischen Erkrankungen mit dem Mikrobiom beziehungsweise einer Dysbiose in Verbindung gebracht werden. Dazu gehören (45):

- Gut-Brain-Axis (s.u.)
  - Autismus (↑ *C. bolteae*/Clostridiensporen; Mechanismus unbekannt)
  - Stimmung: Ängstlichkeit, Depressionen
- Asthma, Atopie, Autoimmunerkrankungen
  - Hygienehypothese (s.u.), übermäßige Immunantwort, hochregulierte, regulatorische T-Zellen (↓ Bifidobakterien, Gram + Organismen, ↑ Clostridien) (46, 47)

«Auch chirurgischer Stress gibt den intestinalen Bakterien Signale, welche zur Expression von Virulenz führen.»

- Hypertension, ischämische Herzkrankheit, peripher-arterielle Gefäßkrankheiten (metabolisches Syndrom, veränderte Fettablagerung/Metabolismus)
- Kolonkarzinom (tierische Fette, tiefe SCFA/Butyratspiegel), schlechte Vitaminabsorption (↑ 7a-dehydroxilierende Bakterien), Umwandlung von Cholsäure zu Deoxycholsäure, ein Kokarzinogen (↓ H<sub>2</sub>S-metabolisierende Bakterien)
- Gallenwegserkrankungen durch Störung des enterohepatischen Gallenkreislaufs
- veränderter Xenobiotika- und Medikamentenmetabolismus durch bakteriell medierte kompetitive Abbauwege
- morbide Adipositas und metabolisches Syndrom (↓ Bacteroidetes, ↑ Actinobacteria), unter anderem TLR-vermittelt (48)
- entzündliche Darmerkrankungen: Hygienehypothese (s.u.), veränderte Immunantwort (TLR-Signaling), kleinere mikrobielle Diversität, Aktivierung spezifischer Bakterien wie zum Beispiel Escherichia, Reduktion von Lactobacillus und Bifidobakterien, höhere Anhaftung der Bakterien an Epithel als bei Gesunden (49–51).

#### **Beispiel: morbide Adipositas**

Es besteht ein eindeutiger Beitrag der Darmflora zur Entwicklung einer morbiden Adipositas, unabhängig von genetischen Faktoren, Lifestyle und anderen Faktoren:

- Individuen mit kleinerer Populationsdiversität neigen eher zu Übergewicht oder morbider Adipositas.
- Jedoch wird die Flora durch Verhaltenselemente beeinflusst: Die Flora bei Übergewichtigen ist effizienter in der Kalorienbereitstellung und begünstigt damit die Gewichtszunahme. Somit konditioniert die Flora den Wirt und der Wirt die Flora, daraus resultiert ein sich selbststabilisierendes Übergewicht oder eine sich selbststabilisierende Magerkeit (48)
- Tierexperimentell konnte zudem nachgewiesen werden, dass die Stuhltransplantation von schlanken beziehungsweise adipösen Mäusen in sterile Därme darüber entschied, ob die Mäuse fett wurden, selbst wenn die Nahrungszufuhr limitiert war (52).

Heute stellt sich zusätzlich die Frage, ob hier auch eine Antibiotikaverbindung besteht (53).

#### **Beispiel: Gut-Brain Axis**

Zahlreiche Interaktionen bestehen zwischen Verdauungstrakt (insbesondere der Darmflora) und zentralem Nervensystem (54). Signale des zentralen Nervensystems (ZNS) können Darmfunktionen verändern, und viszerale Nachrichten vom Darm wiederum beeinflussen das Gehirn. Untersuchungen in den letzten Jahren haben gezeigt, dass es eine bidirektionale Kommunikation zwischen dem Gastrointestinaltrakt (GI-Trakt) und dem Gehirn gibt. Das mukosale und das systemische Immunsystem beeinflussen dabei den GI-Trakt und das Gehirn. Der Hirnstamm agiert als Kontrollsystem (z.B. für Schmerzverarbeitung) und sendet Signale in beide Richtungen via Rückenmark

und autonomes Nervensystem. Im GI-Trakt beziehungsweise in den enterischen Nervenzellen produzierte Neurotransmitter und Neuropeptide beeinflussen die Physiologie von Darm und zentralem Nervensystem. Das Mikrobiom beeinflusst zusätzlich die Entwicklung und die Funktion des GI-Traktes und des zentralen Nervensystems (55). Studien mit experimenteller Manipulation des Mikrobioms (tierexperimentell und klinisch) konnten zum Beispiel zeigen, dass eine Kombination von *Lactobacillus helveticus* und *Bifidobacterium longum* bei der Ratte und *Lactobacillus rhamnosus* bei der Maus das Angstverhalten und bei Freiwilligen psychologische Überlastungszeichen reduziert (56) und dass probiotische Bakterien Angst und chronisches Fatiguesyndrom beim Menschen reduzieren können (58).

Zentrale Fragen rund um die Hirn-Darm-Achse sind noch ungelöst. Kann beispielsweise das Mikrobiom Lernfähigkeit und Gedächtnis beeinflussen? Welche Rolle spielt das Mikrobiom bei der kindlichen Neuroentwicklung beziehungsweise bei den Hirnfunktionen des Erwachsenen? In diesem Kontext besteht noch Forschungsbedarf. Veränderungen in der Gut-Brain-Axis sind wahrscheinlich mit inflammatorischen Darmerkrankungen, chronischen Abdominalschmerzen, Essstörungen und Veränderungen von Stressreaktionen und Verhalten assoziiert. Häufig treten stressassoziierte psychiatrische Syndrome und Krankheiten des Verdauungstrakts gleichzeitig auf. Im Weiteren besteht eine Beziehung zwischen Autismus und dem intestinalen Mikrobiom, wobei bei autistischen Patienten im Vergleich zu einer nicht autistischen Population eine signifikante Reduktion verschiedenerer Bakterien (*Veillonellaceae*, *Prevotella*, *Lactobacilli* und *Coprokokken*) gefunden werden kann.

#### **Beispiel: erhöhte Inzidenz von entzündlichen/allergischen Erkrankungen und Hygienehypothese**

Die Inzidenz von entzündlichen/allergischen Erkrankungen hat über die letzten Jahrzehnte dramatisch zugenommen. Daran beteiligt scheinen das Fehlen älterer Geschwister, die städtische Lebensweise und vor allem die verstärkte Hygiene zu sein. All das reduziert den Kontakt mit symbiotischen Organismen, pathogenen Keimen und Parasiten. Das kompromittiert die Entwicklung des kindlichen Immunsystems und fördert das Entstehen von Allergien und Autoimmunerkrankungen (59).

Schon länger bekannt ist, dass Kinder, die auf einem Bauernhof aufwachsen, die Haustiere besitzen und beim Spielen schmutzig werden, ein deutlich tieferes Risiko für die Entwicklung von Allergien und Autoimmunerkrankungen haben (60).

### **Wie können wir unser Mikrobiom pflegen und schützen?**

Das Mikrobiom muss als Teil des Menschen – eigentlich als ein zusätzliches Organ – betrachtet werden. Das bedingt, dass wir unsere Denkweise (weg von

«Es besteht ein eindeutiger Beitrag der Darmflora zur Entwicklung einer morbiden Adipositas.»

Bakterien, Bakterien nur als potenzielle Feinde betrachten) in eine Richtung lenken müssen, die unser Verhalten und unsere Lebensweise mikrobiomgerecht werden lässt. Das beginnt bereits bei der Ernährung. Wir müssen daran denken, dass wir nicht nur unseren Organismus direkt, sondern auch die Milliarden von Mikroben unseres Mikrobioms miternähren. Diverse Nahrungsmittel können heute entweder als eher mikrobiomfreundlich oder aber als eher mikrobiom-schädlich identifiziert werden. Das Mikrobiom liebt Nahrungsmittel, die reich an Inulin, Arabinogalaktanen, Oligosacchariden und löslichen/fermentierbaren Fasern sind. Das findet sich vor allem in diversen Gemüsen, Früchten, Vollkornprodukten und fermentierten Nahrungsmitteln. Auf der andern Seite finden sich prozessierter Zucker, künstliche Süßmittel, raffinierte Getreide- und Stärkeprodukte und diverse Additive und Konservierungsmittel. Zusammen mit konventionell gezüchtetem Fleisch und Farmfischen wirken sich diese Nahrungsmittel ungünstig auf Diversität und Stabilität des Mikrobioms aus. Letztere vor allem deshalb, weil die Tiere während der Zucht oft mit Antibiotika versorgt werden.

Weitere mikrobiomfreundliche Verhaltensweisen umfassen die natürliche, vaginale Geburt und das Stillen. Basierend auf der Hygienehypothese kann eine einfache Empfehlung gegeben werden: «Don't be so clean.» Das gilt vor allem auch für Kinder, die vom Spielen im Schmutz, vom Kontakt mit Haustieren und von dem Bauernhof profitieren. «Antibakterielle» Substanzen, zum Beispiel substituierte/chlorierte Phenole, Carbonylanilinderivate (z.B. in Seifen, Lotionen), sollten, ausser wenn sie benötigt werden (z.B. Sterilzonen in Spitälern, klinische Händedesinfektion), vermieden werden.

Der Zusammenhang zwischen Antibiotikagaben und der Entwicklung von multiresistenten Keimen ist schon lange bekannt und gibt Anlass zu grosser Besorgnis. Weniger bekannt sind die potenziell negativen Auswirkungen auf das Mikrobiom. In einem von M. Blaser 2011 in «Nature» publizierten Artikel weist dieser darauf hin, dass antibiotikainduzierte Veränderungen des Mikrobioms, unter Umständen bereits nach einmaliger Gabe, sogar die Übertragung von tödlichen Keimen begünstigen können, da die uns wohlgesonnenen Mikroben reduziert/eliminiert werden und damit die Besiedelung des GI-Trakts mit pathologischen Keimen nicht verhindern können. Er betont auch, dass der individuelle Gebrauch von Antibiotika nicht nur permanente Veränderungen in der Darmflora bewirkt, sondern – zum Beispiel bei Kindern von werdenden Müttern mit Antibiotikatherapie und bei den durch Sectio entbundenen Kindern – auch den Lebensstart mit einem signifikant veränderten und mit ungenügend freundlicher Darmflora ausgestatteten Mikrobiom beeinträchtigt, was in der Folge zu einer Reihe von Komplikationen und Erkrankungen beitragen kann (61, 62).

In einer Studie konnte gezeigt werden, dass die Einmalgabe eines intravenösen Antibiotikums zu einer signifikanten Veränderung in der Diversität der Bak-

terienstämme und zur Entwicklung von pathologischen *C. difficile* führen kann (63). In einer anderen Untersuchung wurde gezeigt, dass eine Kurzzeitbehandlung mit dem Antibiotikum Ciprofloxacin die Diversität der intestinalen Mikroflora signifikant veränderte, dies mit Einfluss auf zirka ein Drittel der Bakterienspezies. Zwar erholten sich die meisten Stämme, aber diverse Spezies zeigten auch nach 6 Monaten keine Erholung; ein Hinweis, dass auch permanente Veränderungen der gutartigen Flora selbst nach Kurzzeitantibiose eintreten können (64). Es ist gut bekannt, dass eine antibiotische Behandlung einer Diarrhö durch Infektion mit resistenten Pathogenen (*Salmonellen*, *C. perfringens*, *S. aureus*, evtl. *C. albicans*) und zahlreiche metabolische Veränderungen als Folge der reduzierten Stuhlmikroflora verursachen kann. Das unterstreicht, dass die Störung der normalen Flora durch Überwucherung mit pathogenen Keimen verursacht wird.

## Zusammenfassung

Ein gesundes, balanciertes Mikrobiom ist wichtig für die Wirtsabwehr von eindringenden pathogenen Keimen, da diese durch Konkurrenz um essenzielle Nährstoffe, Platz und Andockstellen am Darmepithel und an der Kolonisierung des Darms gehindert werden können. Mitglieder des intestinalen Mikrobioms sezernieren zudem Bakteriocine (von Bakterien produzierte Toxine), die andere Keime am Wachstum hindern oder einen Überlebensvorteil gegenüber pathogenen Keimen sichern. Wichtige andere Rollen des Mikrobioms sind die Stimulation des Immunsystems, das konstitutive Priming systemischer Immunzellen, die Verdauung und die Bereitstellung von Nährstoffen, die Synthese von essenziellen Nährstoffen und Vitaminen und so weiter für den Wirt.

Im Weiteren hat das Mikrobiom diagnostische und modulatorische Implikationen auf Adipositas und metabolisches Syndrom, Angststörungen, Depression und Autismus, Fatiguesyndrom und Störungen der Schmerzverarbeitung, inflammatorische und andere Darmerkrankungen, Allergien und Autoimmunerkrankungen, Herzfunktion und Karzinome sowie Antibiotikaresistenz.

### Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. med. Reto Stocker  
Leiter, Institut für Anästhesien und Intensivmedizin  
Klinik Hirslanden  
Witellikerstrasse 40  
8032 Zürich  
E-Mail: reto.stocker@hirslanden.ch

### Literatur

- Ochman H, Moran NA: Genes lost and genes found: the molecular evolution of bacterial pathogenesis and symbiosis. *Science* 2001; 292: 1096–1098.
- Spor A. et al.: Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. *Nature Reviews Microbiology* 2011; 9: 279–290.
- Ilseung C, Blaser MJ: The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nature Reviews Genetics* 2012; 13.4: 260–270.
- Hooper LV, Gordon JI: Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* 2001; 292: 1115–1118.



5. Hooper LV: Do symbiotic bacteria subvert host immunity? *Nature Reviews Microbiology* 2009; 7: 367–374.
6. Dominguez-Bello MG et al.: Development of the human gastrointestinal microbiota and insights from high-throughput sequencing *Gastroenterology* 2011; 140: 1713–1719. doi: 10.1053/j.gastro.2011.02.011.
7. Renz H et al.: The impact of perinatal immune development on mucosal homeostasis and chronic inflammation. *Nature Reviews Immunology* 2011; 12: 9–23.
8. Lebeer S: Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens *Nature Reviews Microbiology* 2010; 8: 171–184.
9. Mulvey SA, Hultgren SG: Cell biology: Bacterial spelunkers. *Science* 2000; 289: 732–733.
10. Mulvey MA et al.: From the cover: Bad bugs and beleaguered bladders – Interplay between uropathogenic *Escherichia coli* and innate host defenses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 8829–8835.
11. Kenny B, DeVinney R et al.: Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) transfers its receptor for intimate adherence into mammalian cells. *Cell* 1997; 91: 511–520.
12. Frankel G et al.: Enteropathogenic and enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: More subversive elements. *Mol Microbiol* 1998; 30: 911–921.
13. Cheng LW, Schneewind O: Type III machines of Gram-negative bacteria: Delivering the goods. *Trends Microbiol* 2000; 8: 214–220.
14. Aulino ET et al.: Snapshots of usher-mediated protein secretion and ordered pilus assembly. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 9240–9245.
15. Gorby GL et al.: Microbial invasion: A covert activity. *Can J Microbiol* 1988; 34: 507–512.
16. Orth K et al.: Inhibition of the mitogen-activated protein kinase superfamily by a *Yersinia* effector. *Science* 1999; 285: 1920–1923.
17. Neish AS et al.: Prokaryotic regulation of epithelial responses by inhibition of I $\kappa$ B $\alpha$  ubiquitination. *Science* 2000; 289: 1560–1563.
18. Riley MA, Gordon DM: The ecological role of bacteriocins in bacterial competition. *Trends Microbiol* 1999; 7: 129–133.
19. Moore FA: The role of the gastrointestinal tract in postinjury multiple organ failure. *Am J Surg* 1999; 178: 449–453.
20. Gorby GL et al.: Microbial invasion: A covert activity. *Can J Microbiol* 1988; 34: 507–512.
21. Schook LB, Carrick L Jr, Berk RS: Murine gastrointestinal tract as a portal of entry in experimental *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Infect Immun* 1976; 14: 564–567.
22. Kurahashi K et al.: Pathogenesis of septic shock in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *J Clin Invest* 1999; 104: 743–750.
23. Rozdzinski E et al.: Antinflammatory effects in experimental meningitis of prokaryotic peptides that mimic selectins. *J Infect Dis* 1993; 168: 1422–1428.
24. Rozdzinski E et al.: Inhibition of leukocyte-endothelial cell interactions and inflammation by peptides from a bacterial adhesion which mimic coagulation factor X. *J Clin Invest* 1995; 95: 1078–1085.
25. Durham RM et al.: Effect of MTP on TNF- $\alpha$  in perfused rat liver after bacteremia and ischemia/reperfusion. *J Surg Res* 1998; 76: 179–184.
26. Hegggers JP et al.: The efficacy of pediatric blood culture sets in the determination of burn bacteremia. *J Burn Care Rehabil* 1990; 11: 419–422.
27. Isaacman DJ et al.: Effect of number of blood cultures and volume of blood on detection of bacteremia in children. *J Pediatr* 1996; 128: 190–195.
28. Yagupsky P, Nolte FS: Quantitative aspects of septicemia. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3: 269–279.
29. Breuille D et al.: A sustained rat model for studying the long-lasting catabolic state of sepsis. *Infect Immun* 1999; 67: 1079–1085.
30. Luna CM et al.: Blood cultures have limited value in predicting severity of illness and as a diagnostic tool in ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1999; 116: 1075–1084.
31. Raymond DP et al.: Impact of bloodstream infection on outcomes among infected surgical inpatients. *Ann Surg* 2001; 233: 549–555.
32. Rello J et al.: Evaluation of outcome of intravenous catheter-related infections in critically ill patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1027–1030.
33. Soufir L et al.: Attributable morbidity and mortality of catheter-related septicemia in critically ill patients: A matched, risk-adjusted, cohort study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20: 396–401.
34. Terra RM et al.: Remaining small bowel length: Association with catheter sepsis in patients receiving home total parenteral nutrition – Evidence of bacterial translocation. *World J Surg* 2000; 24: 1537–1541.
35. Mekalanos JJ: Environmental signals controlling expression of virulence determinants in bacteria. *J Bacteriol* 1992; 174: 1–73.
36. Foster JW, Spector MP: How *Salmonella* survive against the odds. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49: 145–174.
37. Freestone PP et al.: Stimulation of bacterial growth by heat-stable, norepinephrine-induced autoinducers. *FEMS Microbiol Lett* 1991; 172: 53–60.
38. Francis CL et al.: Morphological and cytoskeletal changes in epithelial cells occur immediately upon interaction with *Salmonella typhimurium* grown under low-oxygen conditions. *Mol Microbiol* 1992; 21: 3077–3087.
39. Kinney KS et al.: Norepinephrine as a growth stimulating factor in bacteria: Mechanistic studies. *Life Sci* 2000; 67: 3075–3085.
40. Alverdy J et al.: Gut-derived sepsis occurs when the right pathogen with the right virulence genes meets the right host: Evidence for in vivo virulence expression in *Pseudomonas aeruginosa*. *Ann Surg* 2000; 232: 480–489.
41. Komatsu S et al.: Effects of intestinal stasis on intercellular adhesion molecule 1 expression in the rat: Role of enteric bacteria. *Gastroenterology* 1997; 112: 1971–1978.
42. Merz AJ et al.: Pilus retraction powers bacterial twitching motility. *Nature* 2000; 407: 98–102.
43. Schiemann DA, Olson SA: Antagonism by Gram-negative bacteria to growth of *Yersinia enterocolitica* in mixed cultures. *Appl Environ Microbiol* 1984; 48: 539–544.
44. Parsek MR, Greenberg EP: Acyl-homoserine lactone quorum sensing in Gram-negative bacteria: A signaling mechanism involved in associations with higher organisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 7: 8789–8793.
45. Kinross JM, Darzi AW, Nicholson JK: Gut microbiome-host interactions in health and disease. *Genome Medicine* 2011; 3: 14–14.
46. Visser J: Tight junctions, intestinal permeability, and autoimmunity: celiac disease and type 1 diabetes paradigms. *Ann N Y Acad Sci.* 2009; 1165: 195–205.
47. Rook G: Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: The broader implications of the hygiene hypothesis *Immunology* 2009; 126: 3–11.
48. Ley RE: Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444: 1022–1023.
49. Guarner F: Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003; 361: 512–519.
50. Linskens RK: The bacterial flora in inflammatory bowel disease: current insights in pathogenesis and the influence of antibiotics and probiotics. *Scand J Gastroenterol (Suppl.)* 2001; 234: 29–40.
51. Peterson DA et al.: Metagenomic approaches for defining the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Cell Host Microbe* 2008; 3: 417–427.
52. Turnbaugh PJ: An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest *Nature* 2006; 444: 1027–1031.
53. Cho et al.: Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity *Nature* 2012; 488: 621–626.
54. Collins SM: The relationship between intestinal microbiota and the central nervous system in normal gastrointestinal function and disease. *Gastroenterology* 2009; 136: 2003–14 doi: 10.1053/j.gastro.2009.01.075
55. O'Mahony SM et al.: Maternal separation as a model of gut-brain axis dysfunction. *Psychopharmacology (Berl)* 2011; 71–88.
56. Messaoudi M et al.: Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *Br. J. Nutr.* 2011; 105: 755–764.
57. Bravo JA: Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *PNAS* 2011; 38; 16050–16055.
58. Rao AV: A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathogens* 2009; 1: 6. DOI: 10.1186/1757-4749-1-6.
59. Gern JE: Relationship of viral infections to wheezing illnesses and asthma. *Nature Reviews Immunology* 2002; 2: 132–138.
60. Tlaskalová-Hogenová H: Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Immunol Lett.* 2004; 93: 97–108.
61. Blaser M: Antibiotic overuse: Stop the killing of beneficial bacteria. *Nature* 2011; 476: 393–394.
62. Dethlefsen L, Relman DA: Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2011; 108 (suppl.1): 4554–4561.
63. Ambrose NS et al.: The influence of single dose intravenous antibiotics on faecal flora and emergence of *Clostridium difficile*. *J. Antimicrob. Chemother* 1985; 15: 319–326.
64. Dethlefsen L: The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol.* 2008; 6:e280. doi: 10.1371/journal.pbio.0060280