Das Darmmikrobiom von Tieren: Warum Mäuse und Schweine sich um ihr Mikrobiom Sorgen machen sollten

Thomas Clavel

Zusammenfassung

Das Darmmikrobiom ist nicht nur bei Menschen, sondern auch bei allen anderen Säugetieren u. a. für die Stimulierung des Immunsystems, den Abbau von Nahrungsbestandteilen und den Schutz gegenüber Infektionserregern von großer Bedeutung. In der biomedizinischen Forschung ermöglichen Tiermodelle wie Maus und Schwein präzise mechanistische Studien zur Aufklärung von Mikroben-Wirt-Interaktionen. Die Forschungsergebnisse können stark von der Art der Kolonisierung im Darm abhängen und in der Tierzucht kann das Mikrobiom das Wachstum der Tiere beeinflussen. Zwei gute Gründe, weshalb auch Mäuse und Schweine sich um ihr Mikrobiom Sorgen machen könnten. Der überwiegende Anteil der Vielfalt an Darmbakterien bei Mäusen und Schweinen ist derzeit noch unbekannt. Wir haben daher über klassische Kultivierungsmethoden das Darmmikrobiom von Mäusen intensiv untersucht und konnten u. a. 15 neue Arten in der Sammlung Mouse Intestinal Bacterial Collection (miBC) hinterlegen. Trotz zahlreicher Vorteile von Mausmodellen, die einen erfolgreichen Einsatz in der Forschung ermöglichen, unterscheiden sich Mäuse in ihrer Darmphysiologie und Ernährungsweise relativ stark von Menschen. Modelle mit Schweinen sind z. B. für die Erforschung von komplexen und langwierigen Erkrankungen wie dem Dickdarmkrebs geeigneter. Wir interessieren uns dabei besonders für die Rolle gallensäureabbauender Bakterien und arbeiten dazu an einem neuen Erkrankungsmodell beim Schwein. Die Herstellung und Anwendung gezielter Mischungen von definierten bakteriellen Isolaten (»Minimal-Mikrobiome«) könnte in der nahen Zukunft nicht nur klinisch, sondern auch agrarwissenschaftlich, z. B. in der Tierhaltung, von großer Bedeutung werden.

Summary

The gut microbiome of animals: why mice and pigs should worry about their microbiomes

The gut microbiome of humans and other mammals is important for their health, e. g., by stimulating the immune system, degrading food compounds, and protecting against pathogens. The gut microbiota can also affect animal growth in farming. In biomedical research, mouse and pig models allow performing mechanistic studies that help understanding the molecular mechanisms that underlie microbe-host interactions. However, scientific findings can vary substantially from one laboratory to another, depending on microbial colonization, and many of the microorganisms in the guts of mice and pigs are still unknown. Therefore, we are studying their microbiomes intensively with anaerobic cultivation techniques. In mice, we were able to describe 15 new species within the Mouse Intestinal Bacterial Collection (www.dsmz.de/miBC). Nonetheless, despite numerous advantages of mouse models, mice differ substantially from human with respect to their gut physiology and nutrition. Pig models are therefore more suitable for studying complex and long-term diseases, such as colorectal cancer. My working group is especially interested in gut bacteria that metabolize bile acids to study their role in carcinogenesis. Such studies may in the future be helped by the design and use of defined mixtures of cultured gut bacteria (“minimal microbiomes”).

✉ Prof. Dr. Thomas Clavel, Uniklinik RWTH Aachen, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Pauwelsstraße 30, 52074 Aachen; tclavel@ukaachen.de

Rundgespräche Forum Ökologie, Bd. 47 »Die unbekannte Welt der Mikrobiome«, S. 81–88.
© 2019 Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München – ISSN 2366–2875 – ISBN 978–3–89937–239–7

Einführung

Wir alle tragen ein ganzes Universum an Mikroben in unserem Darm – neben Bakterien vor allem Archaeen, Pilze, Protozoen und auch Viren – mit sehr vielen verschiedenen Spezies, die verschiedene Funktionen übernehmen. Darmbakterien sind nicht nur für uns Menschen von enormer Bedeutung, sondern übernehmen auch bei Tieren wichtige Funktionen z. B. für die Verdauung und für die Reifung (Maturierung) des Immunsystems. Im folgenden Beitrag werden Maus und Schwein im Vordergrund stehen. Mäuse sind in der biomedizinischen Forschung weit verbreitet und es gibt wichtige präklinische Mausmodelle für verschiedene bedeutende Erkrankungen. Die Forschungsergebnisse, die wir daraus gewinnen, sind teilweise wesentlich davon abhängig, wie bzw. mit welchen Bakterien diese Mäuse kolonisiert sind. Mit Mausmodellen stoßen wir jedoch an Grenzen, wenn es z. B. um Fragen der Ernährung oder um bestimmte Pathologien wie den Dickdarmkrebs geht. Hier ist stattdessen das Schwein ein wichtiges präklinisches Modell in der Mikrobiomforschung. Aber auch für die Schweinehaltung ist die Frage nach dem Darmmikrobiom wichtig: Das Wachstum der Tiere ist vom Mikrobiom abhängig und das Mikrobiom schützt die Tiere vor Infektionen. Zusammengefasst: Die Tiere wissen nicht, dass das Darmmikrobiom für ihre Gesundheit sehr wichtig ist – aber wenn sie es wissen würden, dann sollten sie sich darum Sorgen machen.

Mäuse als experimentelle Tiermodelle für die biomedizinische Forschung

Neben verschiedenen weiteren Tiermodellen für relevante Erkrankungen hat ein wichtiger Ansatz besondere Bedeutung für die Mikrobiomforschung: gnotobiotische (keimfreie) Mäuse, die in Isolatoren unter sterilen Bedingungen gezüchtet werden (vgl. Beitrag Herp & Stecher-Letsch [2019] in diesem Band). Gnotobiotische Tiermodelle sind insbesondere nützlich, um die Kausalität des Mikrobioms zu untersuchen. Man kann solche Mäuse mit bestimmten Mikroorganismen kolonisieren und deren spezifischen Effekt z. B. auf das Immunsystem oder auf metabolische Reaktionen messen.

Aber nicht alle Mäuse sind gleich, daher ist es wichtig, sich mit dem Mikrobiom der verwendeten Mäuse zu beschäftigen. Ivanov et al. (2009) haben spezifische Mäuse unterschiedlicher Herkunft, d. h. von verschiedenen kommerziellen Anbietern (Jackson Laboratory versus Taconic), verglichen und festgestellt, dass sich die Tiere z. B. in der Besiedlung durch segmentierte filamentöse Bakterien unterscheiden. Diese Bakterien spielen bei der Th17-Zell-Induzierung eine wichtige Rolle, sodass sich die beiden Mäuse in ihrer Immunantwort stark unterscheiden. Die Kolonisierung des Darms hat also einen drastischen Effekt auf den Phänotyp der Mäuse. Auch überrascht es nicht, dass sich das Mikrobiom von Wildmäusen, die einer komplexen Umgebung mit vielen verschiedenen Parasiten und Bakterien ausgesetzt sind, vom Mikrobiom von Labormäusen, die in einer sehr vereinfachten Umwelt leben, stark unterscheidet. Kolonisiert man keimfreie Mäuse in einem Influenzavirus-Modell und in einem chemisch-induzierten Modell für Dickdarmkrebs mit diesen verschiedenen Mikrobiomen, so hat in beiden Fällen das Wildmausmikrobiom eine schützende Wirkung, das Labormausmikrobiom hingegen nicht (Rosshart et al. 2017).

Kultivierte Bakterienarten im Mausmikrobiom: die Mouse Intestinal Bacterial Collection (miBC)

Dass in komplexen Ökosystemen nur ein Bruchteil der Bakterien im Mikrobiom kultiviert werden kann und es darüber hinaus noch sehr viele unbekannte Bakterienarten gibt, wurde bereits mehrfach geschildert (vgl. z. B. Beitrag Wagner [2019] in diesem Band). Wenn wir keimfreie Mäusen mit bestimmten Bakterien kolonisieren wollen, müssen wir diese erst aus dem Darmmikrobiom isolieren und sie kultivieren. Wie groß ist aber der Anteil an bekannten und bereits kultivierten Bakterien im Darm wirklich? Um einer Antwort auf diese Frage näherzukommen, haben wir mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung aus über 15 000 menschlichen und über 9000 Mäuse-Stuhlproben die 16S-rRNA-Gensequenzen ermittelt und mit einer Datenbank verglichen, die die 16S-rRNA-Gensequenzen von ca. 14 500 Isolaten enthält (Lagkouvardos et al. 2017). Durchschnittlich können wir bei der Maus etwa $^1/_3$ von den im Stuhl enthaltenen Sequenzen aus Sequenzen bereits kultivierter Bakterien abdecken, beim Menschen

jedoch etwa 2/3. Dies liegt vermutlich daran, dass sehr viele Arbeiten des letzten Jahrzehntes auf den Menschen fokussiert waren.

Mit über 30 % kultivierbarer Bakterienfraktion im Mäusedarm liegen wir, verglichen mit anderen komplexen Ökosystemen, zwar schon in einem guten Bereich, aber auch die anderen knapp 70 % der Bakterien sollten noch kultiviert werden. Wir haben daher unsere Kultivierungsanstrengungen intensiviert und in einer internationalen Zusammenarbeit das »Mouse Intestinal Bacterial Collection« (miBC) hergestellt. In dieser Sammlung sind alle Bakterien, die aus dem Darm von Mäusen isoliert und beschrieben wurden, im Leibniz-Institut DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH hinterlegt (www.dsmz.de/miBC). Abbildung 1 zeigt den Stand der damaligen Publikation, mit insgesamt 76 Spezies, inklusive 15 neuer Arten und für einige Spezies mehrerer Stämme (strains) aus z. B. Wildmäusen und neugeborenen Mäusen (Lagkouvardos et al. 2016; die Sammlung wird laufend erweitert). Dominiert wird das Mikrobiom von den Firmicutes, aber es kommen auch Actinobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria und eine Art aus den Verrucomicrobia vor.

Unter den neu isolierten und beschriebenen Arten befindet sich z. B. ein *Flintibacter butyricus* (Firmicutes, Clostridiales), der Butyrat produziert, ein Fermentationsendprodukt im Darm, das viele biologische Prozesse wie Zellteilung und Apoptose beeinflusst. Das Bakterium bildet Butyrat nicht nur aus Kohlenhydraten – wie dies viele Bakterien können –, sondern auch bei der Fermentation von Aminosäuren, v. a. von Glutamat und Glutamin, also beim Abbau von Proteinen (Lagkouvardos et al. 2016). Als einen Vertreter einer bisher aus dem Mäusedarm noch nicht isolierten Familie (Bacteroidetes, Muribaculaceae) ist das *Muribaculum intestinale* zu nennen, das zu dem »Minimal-Mikrobiom« gehört, das Bärbel Stecher-Letsch noch vorstellen wird (Beitrag Herp & Stecher-Letsch [2019] in diesem Band).

Wie ähnlich sind Mäuse und Menschen?

Eine spannende Frage ist nun, wie viel vom Menschen in der Maus steckt. Aus der Literatur wissen wir, dass die Herkunft von einem Bakterium durchaus eine Rolle spielen kann. Werden verschiedene Typen von *Lactobacillus reuteri* aus Maus, Menschen, Schwein und Huhn in keimfreie Mäuse transferiert, so funktioniert die Kolonisierung nicht in allen Fällen gleich. Nur die Stämme aus Mäusen sind in der Lage, im Magen der keimfreien Mäuse Biofilme zu bilden, obwohl alle Stämme bei ähnlichen Populationsdichten im Darminhalt zu finden waren (Frese et al. 2013).

Wir haben daher untersucht, ob die in der Sammlung miBC kultivierten Bakterienarten bei der Maus oder beim Menschen besonders häufig sind (Clavel et al. 2016). Von den 76 Arten kommen 32 Arten, 12 davon dominant, im Darmmikrobiom von Maus und Mensch gemeinsam vor und 16 Arten, 9 davon dominant, bevorzugt bei der Maus (Abb. 2, Lagkouvardos et al. 2016). Diese Spezies sind besonders interessant im Hinblick auf die Entwicklung von Minimal-Mikrobiomen für ein Mausmodell.

Von Klein- zu Großtieren in der biomedizinischen Forschung: das Schwein als Tiermodell

Trotz vieler Vorteile, die Mäuse in der Mikrobiomforschung haben (z. B. gentechnisch veränderte Modelle für Erkrankungen), stößt man bisweilen an die Grenzen von Mausmodellen. Man kann sich z. B. ernsthaft die Frage stellen, ob wir wirklich das Richtige an unsere Labormäuse verfüttern. Sowohl die Zusammensetzung als auch die Konsistenz des Futters können Forschungsergebnisse erheblich beeinflussen, was sehr oft nicht berücksichtigt wird. Zum Beispiel konnte gezeigt werden, dass ein Standardfutter, das üblicherweise in Form von »Pellets« an die Mäuse verfüttert wird, die Tiere dick machte, wenn es als Pulver gegeben wurde (Desmarchelier et al. 2013). Auch der bisher etablierten Resistenz keimfreier Mäuse gegenüber futterinduzierter Adipositas konnte widersprochen werden, als in einer Studie die Zusammensetzung des Futters, vor allem die Fettquelle und der Gehalt an einfachen Zuckern, geändert wurde (Kübeck et al. 2016, Fleissner et al. 2010).

Mäuse haben auch eine besondere Darmphysiologie, bedingt v. a. durch ihr relativ großes Caecum (Blinddarm). Für bestimmte Fragestellungen ist es daher angebracht, Großtiere zu nutzen. Das Schwein ist sowohl hinsichtlich der Ernährung als auch der Darmphysiologie dem Menschen relativ ähnlich. Ein gutes Beispiel hierfür ist die bisher beschränkte Aussagekraft von Mausstudien im Bereich des Dickdarmkrebses,

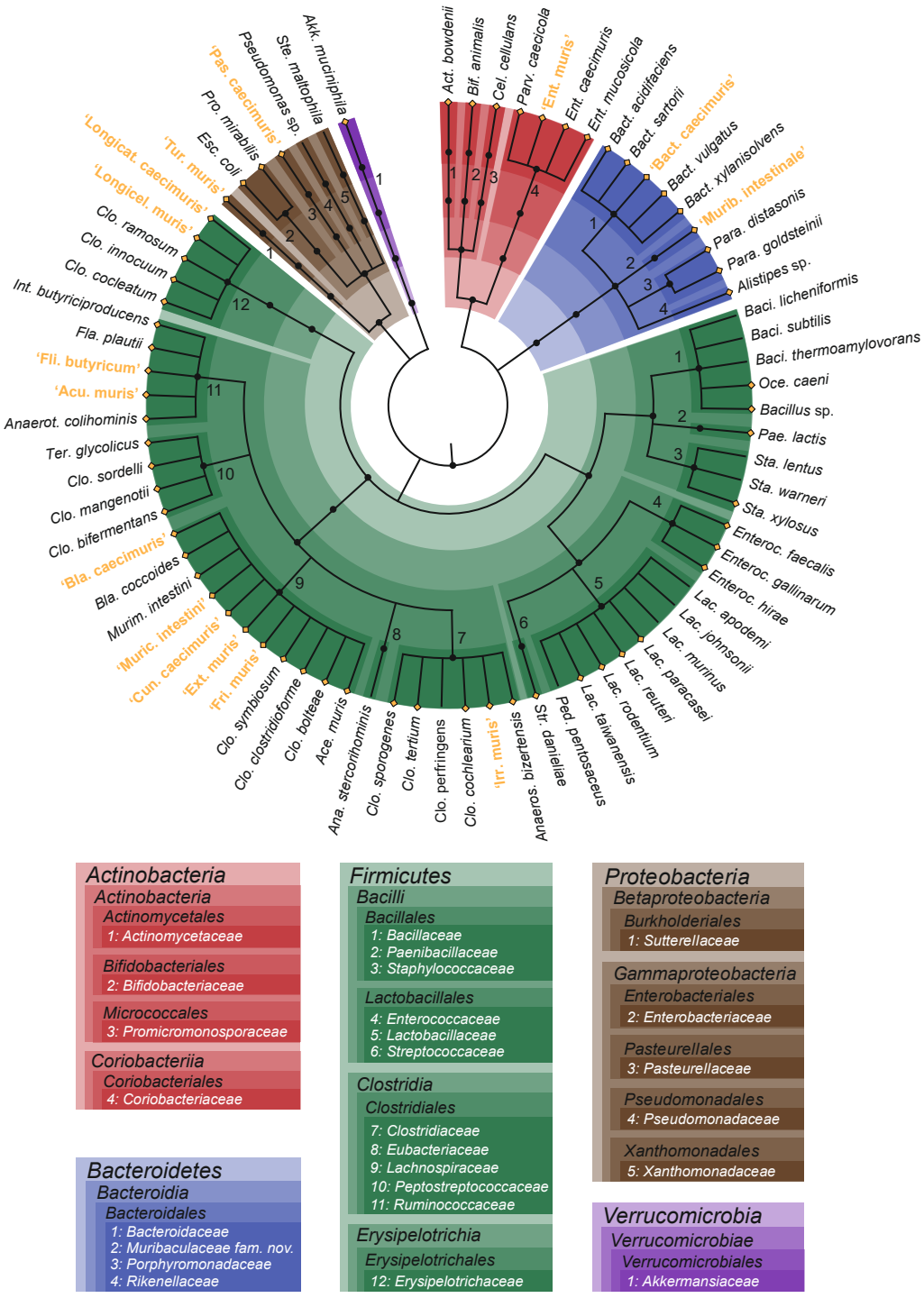


Abb. 1. Taxonomische Klassifizierung von 76 kultivierbaren Bakterienarten aus dem Darmmikrobiom von Mäusen bis zur Ebene der Familien. Gelb: in der Studie beschriebene neue Arten; Symbole vor den Artnamen: in der Studie generierte Genomentwürfe. – Lagkouvardos et al. (2016), CC BY 4.0.

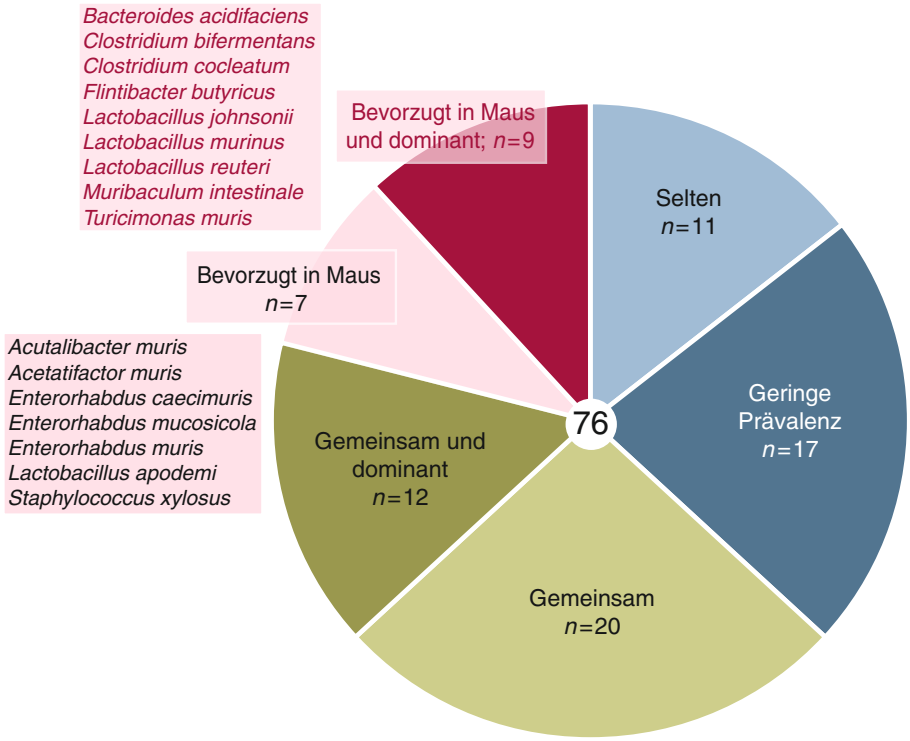


Abb. 2. Vorkommen und Häufigkeit der 76 kultivierten Bakterienarten aus dem Darmmikrobiom von Mäusen (vgl. Abb. 1) bei der Maus und beim Menschen. – Lagkouvardos et al. (2016).

da fast alle bisher beschriebenen Mausmodelle für Darmkrebs die Pathologie hauptsächlich im Dünndarm zeigen. Ein neues, in Deutschland entwickeltes Schweinemodell für das kolorektale Adenom sollte uns bald ermöglichen, die Rolle des Mikrobioms in Zusammenspiel mit der Ernährung bei der Entstehung der Pathologie besser zu verstehen. Das Modell beruht auf einem transgenen Schwein mit der beim Menschen am meisten vorkommenden Mutation in dem APC-Gen ($APC^{1311/+}$), die für das Krankheitsbild der familiären adenomatösen Polyposis (FAP)[1] verantwortlich ist. Die heterozygoten Schweine bilden im Dickdarm in großer Menge Polypen, den ersten Schritt zu einem Dickdarmkrebs (Flisikowska et al. 2012).

Die Assoziation zwischen der bakteriellen Produktion sekundärer Gallensäuren und der Entstehung von Dickdarmkrebs ist in der Literatur seit langem beschrieben (Hill et al. 1975, Cummings et al. 1978, Bayerdörffer et al. 1994, Ridlon et al. 2006, Tong et al. 2008, Louis et al. 2014). Gallensäuren werden in der Leber aus Cholesterin produziert und in das Jejunum, einem Teil des Dünndarms, sezerniert, wo sie bei der Verdauung von Lipiden mitwirken. Bakterien können diese primären Gallensäuren zu sekundären Gallensäuren verstoffwechseln, die andere biologische Eigenschaften und andere Toxizitäten besitzen. Vergleicht man Dickdarmkrebspatienten mit gesunden Patienten, stellt man bei Ersteren erhöhte Konzentrationen sekundärer Gallensäuren fest. Auch der Verzehr von rotem Fleisch bzw. eine fettangereicherte Diät wird mit einer erhöhten Sekretion von Gallensäuren und Dickdarmkrebs assoziiert (Alexander et al. 2015, O'Keefe et al. 2015). Alle bisherigen Studien sind aber eher beschreibend, ein experimenteller Beweis für einen kausalen Zusammenhang fehlt noch.

1 Familiäre adenomatöse Polyposis (FAP): autosomal-dominant vererbte Erkrankung, bei der es zu einem massenhaften Befall des Dickdarms mit Polypen kommt. Unbehandelt liegt die Wahrscheinlichkeit der Entartung eines oder mehrerer dieser Polypen zu Darmkrebs bei nahezu 100 %.

Wir interessieren uns daher besonders für die Rolle der gallensäureabbauenden Bakterien in dem o. g. neuen präklinischen Schweinemodell für Dickdarmkrebs. Um kausal zu zeigen, ob bzw. welche der Bakterien, die Gallensäuren abbauen können, bei der Entstehung von Dickdarmkrebs eine Rolle spielen, müssen wir zurück zu den Bakteriensammlungen gehen. Ähnlich zu dem Darmmikrobiom von Mäusen arbeiten wir gerade bei Schweinen daran, eine Sammlung von Darmbakterien herzustellen. Als nächsten Schritt haben wir vor, diejenigen Bakterienpopulationen zu identifizieren, die primäre Gallensäuren (konjugierte Glyko- bzw. Taurocholsäuren) umsetzen können. Dabei interessieren uns besonders die beiden Reaktionen, die zu den sekundären Gallensäuren (Desoxycholsäuren) führen: (1) Abspaltung der Konjugate (Glycin, Taurin) und (2) Dehydroxylierung am C7 des Cholatmoleküls. Damit werden wir sehr bald in unserer Toolbox alle Elemente haben, um Minimal-Mikrobiome mit definierter Zusammensetzung herzustellen, die selektiv Gallensäuren metabolisieren können, und sie in einem Erkrankungsmodell einzusetzen (Clavel et al. 2017). Diesen Schritt von komplexen mikrobiellen Populationen zu vereinfachten Modellen wird Frau Stecher-Letsch noch näher vorstellen (Beitrag Herp & Stecher-Letsch [2019] in diesem Band).

Ausblick: Anwendungsbereiche bei Mensch und Tier

Die Erforschung der Darmmikrobiome bei Tieren und beim Menschen mittels Kultivierungsmethoden hat eine große Bedeutung sowohl für klinische Anwendungen als auch für die Agrarwirtschaft bzw. das Wohl unserer Nutztiere. Über die Entdeckung neuer mikrobieller Diversität hinaus ermöglicht die Kultivierung eine weitere Nutzung der isolierten Stämme bei präklinischen und vermutlich auch bald klinischen Studien. Bei der Fäkalmikrobiota-Transplantation wird, vereinfacht dargestellt, das Darmmikrobiom eines gesunden Probanden so präpariert, dass man einem erkrankten Probanden damit helfen kann. Dieses Verfahren war bereits sehr erfolgreich im Kontext von Infektionen mit dem Pathogen *Clostridium difficile* (van Nood et al. 2013) und mäßig erfolgreich bei anderen Erkrankungen, z. B. chronisch-entzündlichen Erkrankungen des Verdauungstraktes wie Colitis ulcerosa (Paramsothy et al. 2017; vgl. Beitrag Haller [2019] in diesem Band). Allerdings ist die Fäkaltransplantation auch mit ethischen und praktischen Makeln behaftet. Welcher Donor soll am besten genutzt werden? Wie hoch ist das Übertragungsrisiko eines Infektionserregers gegenüber dem potenziellen Nutzen der Therapie? Wie soll die Fäkalprobe für eine optimale Wirkung vorbereitet und gelagert werden? Diese Frage hängen damit zusammen, dass wir es mit sehr komplexen mikrobiellem Populationen zu tun haben und dass Fäkalien eine sehr komplexe und heterogene Matrix darstellen. Aus diesem Grund bietet es sich an, umfangreiche Sammlungen von gut charakterisierten Mikroorganismen herzustellen und vor allem definierte Mischungen aus Stämmen für gezielte Anwendungen vorzubereiten und ihre Wirkung zu untersuchen. Bei zwei Patienten mit einer chronischen Infektion mit *Clostridium difficile* zeigte zum Beispiel eine Mischung aus 33 Bakterien nach der Transplantation bereits erste Erfolge (Petrof et al. 2013).

Auch bei Tieren werden uns die Isolierung und Kultivierung von Darmbakterien und die Nutzung von Minimal-Mikrobiomen helfen, einen Schritt weiterzukommen. Die Tierhaltung beispielsweise ist ein weiter Bereich, in dem man Mikrobiomansätze wirkungsvoll nutzen könnte. Die »post-weaning diarrhoea« (PWD), die meist mit enterotoxischen *E. coli* (ETEC) assoziiert ist, ist ein sehr großes Problem in der Schweineproduktion. Nach dem Trennen von der Muttersau entwickeln bis 40 % der Ferkel eine schwere Diarrhö. Bei etwa 150 Millionen Schweinen in Europa sprechen wir von Millionen erkrankter Tiere (Lyutskanov 2011, Robinson et al. 2014, Marquer et al. 2014). Neben der Tiergesundheit ist dabei auch ein großes Problem, dass die PWD mit einem sehr hohen Einsatz von Antibiotika bekämpft wird, da nicht nur die erkrankten Tiere, sondern der gesamte Bestand behandelt wird. Häufig wird dafür Colistin, ein Notfallantibiotikum in der Humanmedizin (!), eigesetzt (Aarestrup 2012, Rhouma et al. 2016, 2017). Eine mögliche Herangehensweise, um eine Alternative zur Behandlung mit Antibiotika zu entwickeln, wäre, das Mikrobiom von gesunden Schweinen im Detail zu untersuchen und daraus

einen definierten Bakterien-Cocktail herzustellen, den man schon vor dem Auftreten der Krankheit einsetzen könnte, um die Gesundheit der Tiere zu fördern.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern für ihr großes Engagement bei den vorgestellten Forschungsarbeiten und der DFG für die finanzielle Unterstützung (Antrag CL481/2-1).

Literatur

Aarestrup, F. 2012. Sustainable farming: Get pigs off antibiotics. – Nature, 486 (7404): 465–466.

Alexander, D. D., D. L. Weed, P. E. Miller & M. A. Mohamed. 2015. Red meat and colorectal cancer: a quantitative update on the state of the epidemiologic science. – Journal of the American College of Nutrition, 34 (6): 521–543.

Bayerdörffer, E., G. A. Mannes, T. Ochsenkühn, P. Dirschedl & G. Paumgartner. 1994. Variation of serum bile acids in patients with colorectal adenomas during a one-year follow-up. – Digestion, 55 (2): 121–129.

Clavel, T., I. Lagkouvardos, M. Blaut & B. Stecher. 2016. The mouse gut microbiome revisited: From complex diversity to model ecosystems. – International Journal of Medical Microbiology, 306 (5): 316–327.

Clavel, T., I. Lagkouvardos & B. Stecher. 2017. From complex gut communities to minimal microbiomes via cultivation. – Current Opinion in Microbiology, 38: 148–155.

Cummings, J. H., H. S. Wiggins, D. J. Jenkins, H. Houston, T. Jivraj, B. S. Drasar & M. J. Hill. 1978. Influence of diets high and low in animal fat on bowel habit, gastrointestinal transit time, fecal microflora, bile acid, and fat excretion. – Journal of Clinical Investigation, 61 (4): 953–963.

Desmarchelier, C., T. Ludwig, R. Scheundel, N. Rink, B. L. Bader, M. Klingenspor & H. Daniel. 2013. Diet-induced obesity in ad libitum-fed mice: food texture overrides the effect of macronutrient composition. – British Journal of Nutrition, 109 (8): 1518–1527.

Fleissner, C. K., N. Huebel, M. M. Abd El-Bary, G. Loh, S. Klaus & M. Blaut. 2010. Absence of intestinal microbiota does not protect mice from diet-induced obesity. – British Journal of Nutrition, 104 (6): 919–929.

Flisikowska, T., C. Merkl, M. Landmann, S. Eser, N. Rezaei, X. Cui, M. Kurome, V. Zakhartchenko, B. Kessler, H. Wieland, O. Rottmann, R. M. Schmid, G. Schneider, A. Kind, E. Wolf, D. Saur & A. Schnieke. 2012. A porcine model of familial adenomatous polyposis. – Gastroenterology, 143 (5): 1173–1175e7, doi: 10.1053/j.gastro.2012.07.110.

Frese, S. A., D. A. MacKenzie, D. A. Peterson, R. Schmaltz, T. Fangman, Y. Zhou, C. Zhang, A. K. Benson, L. A. Cody, F. Mulholland, N. Juge & J. Walter. 2013. Molecular characterization of host-specific biofilm formation in a vertebrate gut symbiont. – PLoS Genetics, 9 (12): e1004057, doi: 10.1371/journal.pgen.1004057.

Haller, D. 2019. Mikrobiom-Signaturen und ihre funktionale Bedeutung in der Medizin. – In: Bayer. Akademie der Wissenschaften (Hrsg.): Die unbekannte Welt der Mikrobiome. Pfeil, München: 101–108.

Herp, S. & B. Stecher-Letsch. 2019. Minimalismus: Wie uns einfache Modellsysteme helfen, Funktionen des Darmmikrobioms zu verstehen. – In: Bayer. Akademie der Wissenschaften (Hrsg.): Die unbekannte Welt der Mikrobiome. Pfeil, München: 111–118.

Hill, M. J., B. S. Drasar, R. E. O. Williams, T. W. Meade, A. G. Cox, J. E. P. Simpson & B. C. Morson. 1975. Fæcal bile-acids and Clostridia in patients with cancer of the large bowel. – The Lancet, 305 (7906): 535–539.

Ivanov, I. I., K. Atarashi, N. Manel, E. L. Brodie, T. Shima, U. Karaoz, D. Wei, K. C. Goldfarb, C. A. Santee, S. V. Lynch, T. Tanoue, A. Imaoka, K. Itoh, K. Takeda, Y. Umesaki, K. Honda & D. R. Littman. 2009. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. – Cell, 139 (3): 485–498.

Kübeck, R., C. Bonet-Ripoll, C. Hoffmann, A. Walker, V. M. Müller, V. L. Schüppel, I. Lagkouvardos, B. Scholz, K.-H. Engel, H. Daniel, P. Schmitt-Kopplin, D. Haller, T. Clavel & M. Klingenspor. 2016. Dietary fat and gut microbiota interactions determine diet-induced obesity in mice. – Molecular Metabolism, 5 (12): 1162–1174.

Lagkouvardos, I., R. Pukall, B. Abt, B. U. Foesel, J. P. Meier-Kolthoff, N. Kumar, A. Bresciani, I. Martínez, S. Just, C. Ziegler, S. Brugiroux, D. Garzetti, M. Wenning, T. P. N. Bui, J. Wang, F. Hugenholtz, C. M. Plugge, D. A. Peterson, M. W. Hornef, J. F. Baines, H. Smidt, J. Walter, K. Kristiansen, H. B. Nielsen, D. Haller, J. Overmann, B. Stecher & T. Clavel. 2016. The Mouse Intestinal Bacterial Collection (miBC) provides host-specific insight into cultured diversity and functional potential of the gut microbiota. – Nature Microbiology, 1: 16131, doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.131.

Lagkouvardos, I., J. Overmann & T. Clavel. 2017. Cultured microbes represent a substantial fraction of the human and mouse gut microbiota. – Gut Microbes, 8 (5): 493–503.

Louis, P., G. L. Hold & H. J. Flint. 2014. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. – Nature Reviews Microbiology, 12 (10): 661–672.

Lyutskanov, M. 2011. Epidemiological characteristics of post-weaning diarrhoea associated with toxin-producing *Escherichia coli* in large intensive pig farms. – Trakia Journal of Sciences, 9 (3): 68–73.

Marquer, P., T. Rabade & R. Forti. 2014. Pig farming in the European Union: considerable variations from one Member State to another. – Eurostat. Statistics in focus, 15/2014; https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Archive:Pig_farming_sector_-_statistical_portrait_2014 [zuletzt abgerufen am 12.06.18]

O'Keefe, S. J. D., J. V. Li, L. Lahti, J. Ou, F. Carbonero, K. Mohammed, J. M. Posma, J. Kinross, E. Wahl, E. Ruder, K. Vipperla, V. Naidoo, L. Mtshali, S. Tims, P. G. B. Puylaert, J. DeLany, A. Krasinskas, A. C. Benefiel, H. O. Kaseb, K. Newton, J. K. Nicholson, W. M. de Vos, H. R. Gaskins & E. G. Zoetendal. 2015. Fat, fibre and cancer risk in African Americans and rural Africans. – Nature Communications, 6: 6342, doi: 10.1038/ncomms7342.

Paramsothy, S., M. A. Kamm, N. O. Kaakoush, A. J. Walsh, J. van den Bogaerde, D. Samuel, R. W. L. Leong, S. Connor, W. Ng, R. Paramsothy, W. Xuan, E. Lin, H. M. Mitchell & T. J. Borody. 2017. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial. – The Lancet, 389 (10075): 1218–1228.

Petrof, E. O., G. B. Gloor, S. J. Vanner, S. J. Weese, D. Carter, M. C. Daigneault, E. M. Brown, K. Schroeter & E. Allen-Vercoe. 2013. Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: 'RePOOPulating' the gut. – Microbiome, 1 (1): 3, doi: 10.1186/2049-2618-1-3.

Rhouma, M., F. Beaudry, W. Thériault & A. Letellier. 2016. Colistin in pig production: chemistry, mechanism of antibacterial action, microbial resistance emergence, and One Health perspectives. – Frontiers in Microbiology, 7: 1789, doi: 10.3389/fmicb.2016.01789.

Rhouma, M., J. M. Fairbrother, F. Beaudry & A. Letellier. 2017. Post weaning diarrhea in pigs: risk factors and non-colistin-based control strategies. – Acta Veterinaria Scandinavica, 59: 31, doi: 10.1186/s13028-017-0299-7.

Ridlon, J. M., D.-J. Kang & P. B. Hylemon. 2006. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. – Journal of Lipid Research, 47 (2): 241–259.

Robinson, T. P., G. R. W. Wint, G. Conchedda, T. P. Van Boeckel, V. Ercoli, E. Palamara, G. Cinardi, L. D'Aietti, S. I. Hay & M. Gilbert. 2014. Mapping the global distribution of livestock. – PLoS ONE, 9 (5): e96084, doi: 10.1371/journal.pone.0096084.

Rosshart, S. P., B. G. Vassallo, D. Angeletti, D. S. Hutchinson, A. P. Morgan, K. Takeda, H. D. Hickman, J. A. McCulloch, J. H. Badger, N. J. Ajami, G. Trinchieri, F. Pardo-Manuel de Villena, J. W. Yewdell & B. Rehermann. 2017. Wild mouse gut microbiota promotes host fitness and improves disease resistance. – Cell, 171 (5): 1015–1028.e13, doi: 10.1016/j.cell.2017.09.016.

Tong, J. L., Z. H. Ran, J. Shen, G. Q. Fan & S. D. Xiao. 2008. Association between fecal bile acids and colorectal cancer: a meta-analysis of observational studies. – Yonsei Medical Journal, 49 (5): 792–803.

Van Nood, E., A. Vrieze, M. Nieuwdorp, S. Fuentes, E. G. Zoetendal, W. M. de Vos, C. E. Visser, E. J. Kuijper, J. F. W. M. Bartelsman, J. G. P. Tijssen, P. Speelman, M. G. W. Dijkgraaf & J. J. Keller. 2013. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. – The New England Journal of Medicine, 368 (5): 407–415.

Wagner, M. 2019. Mikrobiome – Wissensstand und Perspektiven. – In: Bayer. Akademie der Wissenschaften (Hrsg.): Die unbekannte Welt der Mikrobiome. Pfeil, München: 17–27.

Diskussion

J. Bauer: Wenn ich Sie richtig verstanden habe, plädieren Sie für Spezies-spezifische Probiotika: Der Keim, der aus dem Huhn kommt, soll beim Huhn eingesetzt werden und der Keim, der aus dem Menschen kommt, soll beim Menschen eingesetzt werden. Vielleicht liegt die große Streuung der Ergebnisse zwischen manchen Arbeiten ganz einfach daran, dass artübergreifend gearbeitet worden ist?

T. Clavel: Die wichtigste Botschaft ist, dass man immer sehr gut aufpassen muss. Es ist durchaus sinnvoll, ein Mikrobiom aus dem Menschen in eine keimfreie Maus zu transferieren, wenn man für eine bestimmte Fragestellung eine Kausalität nachweisen möchte. In diesem Fall ist der Sprung von einer Art zur anderen in Ordnung. Aber für andere Fragestellungen, zum Beispiel, wenn man ein mausspezifisches Modell herstellen möchte, ist es sicher sinnvoll, Bakterienstämme (strains) zu nutzen, die aus dem Ökosystem Maus kommen. Es gibt erhebliche Unterschiede auf der Ebene der strains, also der Ebene unterhalb einer Art. Das können wir momentan mit unserer miBC-Sammlung nicht adressieren, weil es noch genug andere Löcher auf der Artebene zu füllen gibt. Für die Anwendung beim Schwein würde ich aber tatsächlich Bakterien aus dem Schweinemikrobiom bevorzugen.

D. Haller: Die Gallensäuren unterliegen dem enterohepatischen Kreislauf, der im Grunde genommen am terminalen Ileum zirkuliert, wo die Gallensäuren resorbiert werden. Clostridien sind strikt anaerob, ich würde sie daher eher im Colon vermuten. Gibt es eine saubere räumliche Auflösung, nach der Clostridien-Isolate, die die konjugierten Gallensäuren abbauen, auch im Ileum zu finden sind?

T. Clavel: Die Biogeografie des Darms und dessen Mikrobioms ist tatsächlich ein sehr wichtiges Element. Die Gallensäuren werden hauptsächlich in den Dünndarmwänden reabsorbiert, nur ein Bruchteil von ihnen, schätzungsweise 5 %, landen im Dickdarm. Allerdings ist schon der Dünndarm mit komplexen bakteriellen Populationen besiedelt, die sich zwar von denen im Dickdarm stark unterscheiden, jedoch auch schon eine hohe Zelldichte (ca. 10^8 Zellen pro Gramm) bzw. Diversität aufweisen. Da relativ viel unterschiedliche Bakterien in der Lage sind, konjugierte Gallensäure zu spalten, ist es höchst wahrscheinlich, dass diese erste Reaktion der Metabolisierung von Gallensäuren durch Bakterien schon im Dünndarm erfolgt. Bei weiteren Reaktionen wie z. B. der Oxidierung bzw. Dehydroxylierung von dekonjugierten primären Gallensäuren ist die Lage komplizierter. Prinzipiell sind diejenigen Arten, die solche Reaktionen katalysieren, strikt anaerob und dadurch eher im Dickdarm zu erwarten, wo daher auch die Produktion von sekundären Gallensäuren zum größten Teil erfolgt. Allerdings sind auch einige Spezies aus der Familie der Coriobacteriaceae (Phylum Actinobacteria), die die Oxidierung von Gallensäuren übernehmen, sauerstofftolerant und können durchaus zu darmwandassoziierten mikrobiellen Populationen gehören, auch schon in Dünndarm. Darüber hinaus ist sehr wenig darüber bekannt, wie viele andere bisher unbekannte Spezies ebenfalls in der Lage sind, Gallensäuren zu metabolisieren, vielleicht auch schon in Dünndarm. Trotz allem ist aber der Dickdarm, auch bedingt durch die langsamere Darmpassage und das Vorkommen von Clostridien und verwandten Spezies, die für die Dehydroxylierung von Gallensäuren verantwortlich sind, vermutlich der primäre Ort für die Bildung der sekundären Gallensäuren Deoxycholsäure und Lithocholsäure. Auch dort im Dickdarm sind solche Spezies wie *Clostridium scindens* nicht sehr dominant im Sinn ihrer Zellzahlen; sie sind funktionell jedoch sehr wichtig.

R. Amann: Jeder Kultivierer hat normalerweise Organismen, die er gerne kultivieren würde, aber nicht bekommt. Was hätten Sie gerne, das Ihnen noch fehlt?

T. Clavel: Sehr viel. Eine ganze Karriere reicht nicht dafür. Um zurückzukehren zu dem Isolat aus der Familie, die wir neu im Darmmikrobiom von Mäusen zum ersten Mal nachgewiesen haben: Wir haben durch Sequenzanalysen festgestellt, dass es in dieser Familie, den Muribaculaceae,

etwa 600 Spezies gibt. Wir haben drei und ich würde gerne mehr Vertreter davon haben, damit wir verstehen können, warum sie so spezifisch bei Mäusen vorkommen.