

**Diplomarbeit**

**Das intestinale Mikrobiom und seine Beeinflussung  
durch Arzneimittel**

eingereicht von

**Christina Partl**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt am

**Lehrstuhl für Pharmakologie**

unter der Anleitung von

**Univ.-Prof.i.R. Mag.pharm. Dr. Eckhard Beubler**

und

**Ao.Univ.-Prof.<sup>in</sup> Dr.<sup>in</sup> phil. Dr.<sup>in</sup> h.c. Irmgard Lippe**

Graz, 24.10.2023

*Eidesstattliche Erklärung*

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, am 24.10.2023*

*Christina Partl eh.*

## Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich recht herzlich bei meinem Betreuer Herrn Univ.-Prof.i.R. Mag.pharm. Dr. Eckhard Beubler bedanken, der mir mit seiner Expertise bei der Themenfindung und Erstellung dieser Arbeit zur Seite stand.

Weiters möchte ich mich bei Frau Ao.Univ.-Prof.<sup>in</sup> Dr.<sup>in</sup>phil. Dr<sup>in</sup>.h.c. Irmgard Lippe für ihre Unterstützung als Zweitbetreuerin bedanken.

Ein besonderes Dankeschön gilt meiner wundervollen Familie, meinen Eltern Friedrich und Manuela sowie meinem Bruder Fritz, die mir während der gesamten Studienzeit eine unglaubliche Stütze waren und nie den Glauben an mich verloren haben. Ohne euch wäre ich nie so weit gekommen.

Außerdem bedanke ich mich bei meinen Freund\*innen und Verwandten, die mir in herausfordernden Situationen zur Seite standen und mich immer wieder motivierten.

Zu guter Letzt möchte ich meinen Studienkolleg\*innen, mit denen ich eine unvergessliche Zeit erleben durfte, danken.

## Zusammenfassung

**Hintergrund:** Das intestinale Mikrobiom ist Gegenstand intensiver Forschung. Die Mikroorganismen im Darm spielen eine wichtige Rolle bei der Regulation physiologischer Prozesse und sind von großer Bedeutung für den Erhalt der Gesundheit des Menschen. Obwohl das intestinale Mikrobiom permanent unter Einfluss von endogenen und exogenen Faktoren steht, gilt die Darmmikrobiota des Erwachsenen im Allgemeinen als resilient und resistent gegenüber Störfaktoren. Kommt die mikrobielle Homöostase allerdings langfristig aus dem Gleichgewicht, so kann dies verheerende gesundheitliche Folgen für den Organismus haben. Die vorliegende Arbeit wird sich zunächst mit der Zusammensetzung und der Funktion der intestinalen Mikrobiota beschäftigen. Im Anschluss werden Mechanismen und Folgen von Antibiotika-induzierten Veränderungen des Mikrobioms erläutert. Ein Teil dieser Arbeit wird sich außerdem mit häufigen im österreichischen Gesundheitswesen zur Anwendung kommenden Antibiotika und deren Auswirkungen auf das intestinale Mikrobiom des Erwachsenen beschäftigen. Abschließend werden gesundheitlichen Folgen einer Antibiotika-assoziierten Dysbiose besprochen.

**Material und Methoden:** Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde eine umfangreiche systematische Literaturrecherche durchgeführt. Für die Recherche wurden unter anderem Datenbanken, Plattformen und Fachbücher herangezogen.

**Ergebnisse:** Trotz erheblicher Heterogenität der derzeit vorliegenden Studienlage gibt es Anzeichen dafür, dass Amoxicillin/Clavulansäure, Azithromycin und Doxycyclin bedeutende Auswirkungen auf die intestinale Mikrobiota des Erwachsenen haben könnten, die möglicherweise langfristige ökologische und funktionelle Störungen mit sich bringen. Da der Antibiotikagebrauch im Erwachsenenalter mit der Entstehung chronischer Erkrankungen in Verbindung gebracht werden kann, könnten Antibiotika-induzierte Mikrobiomalterationen auch drastische Konsequenzen für die Gesundheit haben.

**Schlussfolgerung:** Es herrscht ein Defizit an Forschung und angemessenem Wissen hinsichtlich der ökologischen und gesundheitlichen Folgen häufig verwendeter Antibiotika in Bezug auf den erwachsenen Organismus. In Zukunft dürften Kohortenstudien mit großen, möglichst einheitlichen Studienpopulationen und standardisierter Methodik, sowie funktionelle Untersuchungen des Mikrobioms und seiner Stoffwechselprodukte eine entscheidende Rolle spielen.

## Abstract

**Background:** The gut microbiome is subject of intensive research. Microorganisms in the gut play a crucial role in regulating physiological processes and are of significant importance for maintaining human health. Although the gut microbiome is constantly influenced by endogenous and exogenous factors, the microbiota of adults is generally considered resilient and resistant to disturbances. However, if the microbial homeostasis is disrupted, it can have devastating health consequences for the organism. This study will initially focus on the composition and function of the gut microbiota. Subsequently, mechanisms and consequences of antibiotic-induced microbiome alterations will be explained. Part of this study will also examine commonly used antibiotics in the Austrian healthcare system and their impact on the intestinal microbiome of adults. Finally, the health consequences of antibiotic-associated dysbiosis will be discussed.

**Material and Methods:** This work is based on an extensive, systematic literature review across different databases and platforms, as well as relevant specialized literature.

**Results:** In spite of considerable heterogeneity in the current available body of studies, there are indications that Amoxicillin/Clavulanic Acid, Azithromycin and Doxycycline could have significant effects on the adult intestinal microbiota, potentially leading to long-term ecological and functional disruptions. As antibiotic use in adulthood can be associated with the development of chronic diseases, antibiotic-induced alterations in the microbiome could also have profound consequences for health in the long term.

**Conclusion:** There is a deficit in research and adequate knowledge regarding the ecological and health consequences of commonly used antibiotics in relation to the adult organism. In the future, cohort studies with extensive, preferably uniform study populations and standardized methods, as well as functional investigations of the microbiome and its metabolic products, are likely to play a crucial role.

## **Angaben von bereits erfolgten Veröffentlichungen**

Es haben zuvor keine Veröffentlichungen stattgefunden.

# Inhaltsverzeichnis

|   |             |
|---|-------------|
| <b>Danksagung</b> .....   | <b>iii</b>  |
| <b>Zusammenfassung</b> .....  | <b>iv</b>   |
| <b>Abstract</b> .....   | <b>v</b>    |
| <b>Angaben von bereits erfolgten Veröffentlichungen</b> .....   | <b>vi</b>   |
| <b>Inhaltsverzeichnis</b> .....   | <b>vii</b>  |
| <b>Abkürzungen</b> .....  | <b>viii</b> |
| <b>Tabellenverzeichnis</b> .....  | <b>x</b>    |
| <b>1 Einleitung</b> .....   | <b>1</b>    |
| 1.1 Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota.....  | 2           |
| 1.1.1 Bakterielle Mikrobiota.....   | 3           |
| 1.1.2 Viren, Eukaryoten und Archaeen des intestinalen Mikrobioms .....                                | 13          |
| 1.1.3 Regulation der Struktur der intestinalen Mikrobiota .....                                       | 14          |
| 1.2 Funktion der intestinalen Mikrobiota .....  | 22          |
| 1.2.1 Metabolische Funktion .....   | 22          |
| 1.2.2 Intestinales Mikrobiom und das Immunsystem.....   | 24          |
| 1.2.3 Intestinale Mikrobiota und ihr Einfluss auf die Darm-Gehirn-Achse.....                          | 27          |
| 1.2.4 Dysbiose und die Entstehung von Krankheiten .....   | 28          |
| <b>2 Material und Methoden</b> .....  | <b>29</b>   |
| <b>3 Antibiotika &amp; das intestinale Mikrobiom</b> .....  | <b>30</b>   |
| 3.1 Grundlagen der Antibiotika .....  | 30          |
| 3.2 Antibiotika-induzierte Mikrobiomalterationen.....   | 31          |
| 3.2.1 Antibiotika-spezifische Effekte auf die taxonomische Zusammensetzung und<br>das Metabolom ..... | 31          |
| 3.3 Ausgewählte Antibiotika und ihr Einfluss auf das intestinale Mikrobiom.....                       | 35          |
| 3.3.1 Amoxicillin/Clavulansäure .....   | 36          |
| 3.3.2 Azithromycin.....   | 44          |
| 3.3.3 Doxycyclin .....  | 50          |
| 3.4 Klinische Konsequenzen einer Antibiotika-induzierten Dysbiose .....                               | 54          |
| 3.4.1 Kurz-/mittelfristige gesundheitliche Folgen .....   | 54          |
| 3.4.2 Langfristige gesundheitliche Folgen .....   | 56          |
| <b>4 Diskussion</b> .....   | <b>64</b>   |
| <b>5 Literaturverzeichnis</b> .....   | <b>66</b>   |

## Abkürzungen

|   |   |
|---|---|
| AAD                                     | Antibiotika-assoziierte Diarrhoe                          |
| AMPs                                    | antimicrobial peptides                                    |
| ATC-Klassifikation                      | Anatomisch-Therapeutisch-Chemisches Klassifikationssystem |
| AZM                                     | Azithromycin  |
| B. acidifaciens                         | Bifidobacterium acidifaciens                              |
| B. bifidum                              | Bifidobacterium bifidum                                   |
| B. breve                                | Bifidobacterium breve                                     |
| B. fragilis                             | Bifidobacterium fragilis                                  |
| B. lactis                               | Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium lactis            |
| B. longum                               | Bifidobacterium longum                                    |
| B. thetaiotaomicron                     | Bifidobacterium thetaiotamicron                           |
| B. vulgatus                             | Bifidobacterium vulgatus                                  |
| BMI                                     | Body-Mass-Index   |
| bspw.                                   | beispielsweise  |
| bzw.                                    | beziehungsweise   |
| CDI                                     | Clostridioides difficile Infektion                        |
| Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen | 67  |
| Cl. difficile                           | Clostridioides difficile                                  |
| CPD                                     | Cefpodoxim  |
| CU                                      | Colitis ulcerosa  |
| DNA                                     | deoxyribonucleic acid                                     |
| E. faecalis                             | Enterococcus faecalis                                     |
| E.coli                                  | Escherichia coli  |
| etc                                     | et cetera   |
| FAO                                     | Food and Agriculture Organization of the United States    |
| GABA                                    | $\gamma$ -Aminobuttersäure                                |
| GALT                                    | gut-associated lymphatic tissue                           |
| GLP-1                                   | Glucagon-like Peptide 1, Glucagon-like Peptide-1          |
| GPCRs                                   | G protein-coupled receptors                               |
| HNO-Trakt                               | Hals-Nasen-Ohren-Trakt                                    |
| HPA-Achse                               | Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse           |
| IgA                                     | Immunglobulin A   |
| IL-6                                    | Interleukin-6   |
| IL-8                                    | Interleukin-8   |
| L. acidophilus                          | Lactobacillus acidophilus                                 |
| L. brevis                               | Lactobacillus brevis                                      |
| L. fermentum                            | Lactobacillus fermentum                                   |
| L. salivarius                           | Lactobacillus salivarius                                  |
| MAMPs                                   | microbe-associated molecular patterns                     |
| MC                                      | Morbus Crohn  |
| MRSA                                    | Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus             |
| p.o.                                    | per os  |
| pH                                      | Potential des Wasserstoffes                               |
| RCT                                     | randomized controlled trial                               |
| RDS                                     | Reizdarmsyndrom   |
| rRNA                                    | ribosomal ribonucleic acid                                |
| SCFAs                                   | short chain fatty acids                                   |

|                    |  |
|--------------------|--|
| sIgA .....         | <i>sekretorisches Immunglobulin A</i>                    |
| spp.....           | <i>species pluralis</i>                                  |
| tgl.....           | <i>taglich</i>  |
| TLRs.....          | <i>Toll-like receptors</i>                               |
| TNF $\alpha$ ..... | <i>Tumornekrosefaktor <math>\alpha</math></i>            |
| tRNA.....          | <i>transfer ribonucleic acid</i>                         |
| TTGE.....          | <i>Temporal temperature gradient gel electrophoresis</i> |
| USA .....          | <i>United States of America</i>                          |
| vgl. ....          | <i>verglichen</i>  |
| vs.....            | <i>versus</i>  |
| WHO.....           | <i>World Health Organization</i>                         |
| z.B.....           | <i>zum Beispiel</i>                                      |

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Studien, die sich mit den Auswirkungen von Amoxicillin/Clavulansäure auf die Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms des Erwachsenen beschäftigen..... 39

Tabelle 2: Studien, die sich mit den Auswirkungen von Azithromycin auf die Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms des Erwachsenen beschäftigen..... 46

Tabelle 3: Studien, die sich mit den Auswirkungen von Doxycyclin auf die Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms des Erwachsenen beschäftigen..... 52

# 1 Einleitung

Alle Oberflächen des menschlichen Körpers, insbesondere die Haut sowie die Schleimhäute des Gastrointestinaltraktes, des Urogenitaltraktes und des respiratorischen Systems werden von Mikroorganismen besiedelt. Unter dem Ausdruck „Mikrobiota“ versteht man die Gesamtheit aller Mikroorganismen, die den Menschen als Lebensraum nutzen und sich koevolutionär mit dem Menschen entwickelt haben. Zu ihnen zählen Vertreter der Domänen Bakterien, Archaeen, Eukaryoten und Viren. Der Terminus „Mikrobiom“ bezeichnet streng genommen eigentlich nur die Summe aller Gene, sprich das Genom der Mikroorganismen, die den Menschen kolonisieren. Die Begriffe „Mikrobiota“ und „Mikrobiom“ werden jedoch oft synonym verwendet. Mensch und Mikrobiota stehen in Wechselwirkung zueinander. Die Mikroorganismen sind an der Steuerung physiologischer Prozesse wie der Erhaltung der lokalen Barrierehomöostase, der Immunität, der Stoffwechselregulation sowie vieler weiterer Abläufe im menschlichen Körper beteiligt. (1-3)

Das menschliche Mikrobiom ist Gegenstand intensiver Forschung und sein Verständnis ist noch nicht vollständig ausgereift. Seit Dezember 2007 verfolgt das Human Microbiome Project in den USA, das vom National Institute of Health initiiert wurde, das Ziel, die Genome aller Mikroorganismen, die den menschlichen Körper besiedeln, zu sequenzieren. Diese Untersuchungen basieren auf Proben, die aus dem HNO-Trakt, dem Gastrointestinaltrakt, dem Urogenitaltrakt von Frauen und der Haut gewonnen werden. Für die Entnahme von Proben zur Untersuchung der Mikrobiota wurden und werden teilweise auch gleichzeitig unterschiedliche Methoden angewandt. Veröffentlichte Daten basieren auf Abstrichen, Aspiraten, Spülungen, Gewebeproben und ähnlichen Verfahren.(4)

Im Gastrointestinaltrakt ist die größte Anzahl an kommensalen Mikroorganismen anzutreffen. Der gesamte Verdauungstrakt beherbergt eine Vielzahl an Mikroorganismen, deren Dichte und Komposition von der anatomischen Lage und einer Vielzahl von Einflussfaktoren abhängen. Aufgrund der unterschiedlichen Bedingungen, die in den einzelnen Segmenten des Gastrointestinaltraktes vorherrschen, ergeben sich viele Nischen, die von unterschiedlichen, an das Milieu angepassten Mikroben bewohnt werden. Findet man beispielsweise im Magen auf Grund des niederen pH-Wertes eine geringe Anzahl an Mikroben vor, ist der Dickdarm, der sich durch für Mikroorganismen günstige

Bedingungen auszeichnet, dicht besiedelt. (1,3)

Während der menschliche Gastrointestinaltrakt den Lebensraum für die intestinale Mikrobiota bereitstellt, spielt diese wiederum eine wichtige Rolle für die Energiegewinnung aus der Nahrung, die Regulation des Metabolismus und die postnatale Entwicklung des Immunsystems. Außerdem schützt sie den Darm vor einer Besiedelung mit pathogenen Mikroorganismen. (1)

Interaktionen zwischen dem intestinalen Mikrobiom und dem Individuum sind von großer Relevanz für den Erhalt der Gesundheit des Menschen. Störungen dieser Symbiose können zur Entstehung bzw. Erhaltung unterschiedlichster Krankheitsbilder führen. (1)

## **1.1 Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota**

Die physiologische Darmflora setzt sich aus Bakterien, Eukaryoten (z.B. Pilze), Archaeen und Viren zusammen. Es wird davon ausgegangen, dass der menschliche Darm  $10^{13}$  bis  $10^{14}$  Mikroben beheimatet. Neuen Veröffentlichungen zur Folge stehen die Anzahl der intestinalen Mikroorganismen und die Anzahl humaner Körperzellen damit in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:3. (1, 3)

Man kann mindestens 300-1000 verschiedene Arten an intestinalen Mikroorganismen unterscheiden. Den Hauptbestandteil der intestinalen Mikrobiota bilden die Bakterien, welche auch die am besten erforschten Mikroorganismen des intestinalen Mikrobioms darstellen. Protozoen und Viren konnten bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht ausreichend charakterisiert werden. (1,3)

Unser Wissen über die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota wurde maßgeblich durch das Verwenden von kulturunabhängigen DNA-basierten Sequenzierungsmethoden verbessert. Früher wurde das intestinale Mikrobiom mit Hilfe von Stuhlkulturen untersucht. Die Mehrheit der im Darm lebenden Bakterien gehört jedoch zur Gruppe der Anaerobier, welche damals nur bedingt kultiviert und damit identifiziert werden konnten. Erst die kulturunabhängigen Methoden ermöglichten es schließlich genauere Erkenntnisse über obligat anaerobe Mikroorganismen zu gewinnen. (3-5)

Durch die Verfügbarkeit von Hochdurchsatz-Sequenzierungstechnologien basierten die Methoden zur Erforschung der intestinalen Mikrobiota zunächst auf zwei Teilschritten: zum einen auf der Sequenzierung der 16S-rRNAe-Region des bakteriellen Chromosoms und zum anderen auf der anschließenden bioinformatischen Datenanalyse. Die genetische

Information der bakteriellen 16S-rRNA ist stark konserviert, wodurch sie sich äußerst gut für eine taxonomische Klassifizierung eignet. Mit Hilfe der bioinformatischen Analyse werden schließlich die Aufarbeitung, der aus der Sequenzierung gewonnenen, Daten und die Identifikation von Bakterientaxa ermöglicht. Dennoch weist die 16S-rRNA-Sequenzierung Beschränkungen auf, insbesondere wenn es darum geht, eine Auflösung auf niedrigeren Rangstufen zu liefern. Diese ist entscheidend um die feineren Einzelheiten von mikrobiellen Gemeinschaften zu erfassen. Die neuere Shotgun-Metagenom-Sequenzierung ermöglicht das Aufschlüsseln der gesamten in einer Probe vorhandenen DNA. Ein bedeutender Vorzug dieses Ansatzes besteht darin, dass die Analyse nicht auf ein spezifisches Zielgen, wie beispielsweise das 16S-rRNA-Gen, beschränkt ist. Durch das Aufschlüsseln der vollständigen genetischen Information in einer Probe eröffnen sich neben der Identifizierung der mikrobiellen Komposition auch Möglichkeiten für eine funktionelle Untersuchung des verfügbaren Genreservoirs. Dies ermöglicht beispielsweise die Konstruktion von Stoffwechselwegen, die vermutlich mit bestimmten Krankheiten in Verbindung stehen. Ein weiteres, zunehmend an Bedeutung gewinnendes Feld der Mikrobiomforschung ist die Metabolomik. Sie beschäftigt sich mit der Analyse kleiner Moleküle (Metabolite oder Stoffwechselprodukte), welche bei der Interaktion zwischen dem humanen und bakteriellen Metabolismus eine Rolle spielen. (1, 4-6)

Veränderungen der intestinalen Mikrobiota werden oftmals durch die Begriffe  $\alpha$ - und  $\beta$ -Diversität beschrieben. Die  $\alpha$ -Diversität misst die Vielfalt der verschiedenen Mikrobenarten, die in einer Person bzw. deren untersuchten Region festgestellt werden können und wird auch „Punktdiversität“ genannt. Die  $\beta$ -Diversität charakterisiert hingegen die Variabilität der Mikroben zwischen Individuen des gleichen Lebensraumes. Sie dient dazu, den Unterschied in der Artenvielfalt zu quantifizieren. Statt sich ausschließlich auf spezifische Taxa zu konzentrieren, bieten derartige Untersuchungen die Möglichkeit, einen ganzheitlichen Überblick über das Mikrobiom zu gewinnen. (1, 4)

### ***1.1.1 Bakterielle Mikrobiota***

#### **1.1.1.1 Allgemeines zu Bakterien**

Bakterien sind einzellige Mikroben, die einen Zellaufbau aufweisen, der für Prokaryoten charakteristisch ist. Im Unterschied zu eukaryotischen Zellen besitzen Bakterien keine Kernmembran. Ebenso fehlen zahlreiche Zellorganellen wie Nucleolus, Golgi-Apparat,

endoplasmatisches Retikulum etc. Bakterien können hingegen über eine komplexe Zellhülle verfügen, die bei eukaryotischen Zellen nicht vorkommt. Ihre Größe kann von 0,15µm bis hin zu 700µm im Durchmesser betragen. Bakterien können sich in ihrer Zellgestalt stark unterscheiden. Es existieren drei morphologische Grundformen:

- Kokken: rundliche oder ovale Zellen
- Stäbchen: Zellen in Zylinderform
- Schraubenförmige Bakterien: gewundene Zellen (7, 8)

Bakterien speichern ihr gesamtes, merkmalkodierendes Erbgut auf einem einzigen, ringförmigen Bakterienchromosom, dem sogenannten „Nukleoid“. Die doppelsträngige DNA dieses Nukleoids befindet sich, anders als bei einer eukaryotischen Zelle, ungeschützt im Zytoplasma. Neben dem Bakterienchromosom verfügen die meisten Bakterien über eine unterschiedlich große Anzahl an zirkulären, extrachromosomale DNA-Strängen, den Plasmiden. Plasmide können Träger von genetischer Information sein, die z.B. für bestimmte Virulenzfaktoren oder Antibiotikaresistenzen kodieren. (7, 9)

Im Vergleich zu einer humanen Zelle sind die Ribosomen einer Bakterienzelle, die sich im Zytoplasma befinden, 70S groß und bestehen aus einer 30S und 50S Untereinheit. Die Aufgabe von bakteriellen Ribosomen ist die Enzym- und Proteinproduktion (9)

Die Mehrheit der Bakterien besitzt zum Schutz ihrer Zelle eine Zellwand, die ihrer Zytoplasmamembran von außen her aufliegt. Wesentlicher Bestandteil des Grundgerüsts dieser Zellwand ist Peptidoglykan, auch Murein genannt. Peptidoglykan ist aus Polysaccharidketten aufgebaut, welche mit kurzen Aminosäureresten quervernetzt werden. Peptidoglykanschichten umgeben als „Sacculus“ die Zelle und verleihen ihr dadurch Stabilität. Abhängig von der Anzahl an Peptidoglykanschichten lassen sich die Bakterien mittels sogenannter Gramfärbung in grampositive und gramnegative Bakterien unterteilen. Grampositive Bakterien erscheinen durch die Färbung unter dem Mikroskop dunkelviolett, während Gramnegative rosa imponieren. (8, 9)

Da Bakterien mit medizinischer Relevanz ihre Energie ausschließlich aus organischem Material beziehen können, bezeichnet man diese auch als chemoorganotroph. Beim Abbauprozess fungieren entweder anorganische, chemische Verbindungen (respiratorische

Energiegewinnung bzw. Atmung) oder organische Substanzen (fermentative Energiegewinnung bzw. Gärung) als terminaler Elektronenrezeptor. Auf Grund dieser Tatsache wird das Wachstum von Bakterien oft durch das Vorhandensein von Gasen limitiert. Einige Bakterien können ihren Metabolismus an die atmosphärischen Umweltbedingungen anpassen, sprich aerob oder anaerob leben (beispielsweise E. coli). Andererseits gibt es Bakterien, die ausgesprochen strikte Ansprüche an die Versorgung mit Atmosphärgasen haben und z.B. Sauerstoff für ihren Stoffwechsel benötigen (obligat aerob) oder unter Anwesenheit von Sauerstoff nicht überleben können. (obligat anaerob). Das Wachstum mikroaerophiler Bakterien erfolgt am besten in einer Umgebung mit niedrigem Sauerstoffgehalt. (7, 9)

Beinahe alle Bakterien mit medizinischer Bedeutung sind dazu fähig Glukose energetisch zu verwerten. Die maximale Energieausbeute wird durch die Zellatmung erreicht, dem aeroben Abbau von organischen Substanzen wie Glukose. Im letzten Schritt der Zellatmung dient  $O_2$  als Elektronenakzeptor und es entstehen schließlich  $CO_2$  und  $H_2O$  als Endprodukte. Viele Bakterien sind aber nicht fähig Zellatmung zu betreiben und beziehen ihre Energie ausschließlich aus dem anaeroben Abbau von Glukose, der sogenannten Glykolyse. Bei der Glykolyse findet Energiegewinnung in Form von Fermentation statt. Anders als beim aeroben Abbau ist nicht  $O_2$  der letzte Elektronenakzeptor, sondern eine organische Verbindung. Als Endprodukte entstehen hier, je nach Bakterienspezies, kurzkettige Fettsäuren, sogenannte „short chain fatty acids“ („SCFAs“). Dazu zählen beispielweise Buttersäure, Essigsäure, Milchsäure etc. Abhängig von der Bakterienart können neben der Glukose auch andere organische Materialien wie z.B. Aminosäuren, kurze Peptide etc. verwertet werden. (3, 7)

### **1.1.1.2 Systematik der Darmbakterien**

Bakterien machen den weitaus größten Anteil der intestinalen Mikrobiota aus. Bis zu 97% der im Darm vorkommenden Bakterien zählen dabei zur Gruppe der obligaten Anaerobier. (3)

Bakterien werden taxonomisch in Phyla (Stämme), Klassen, Ordnungen, Familien, Gattungen (Genera) und Arten (Spezies) eingeteilt. Im Darmtrakt sind nur wenige Bakterienstämme vertreten. Die im Darm vorherrschenden Stämme umfassen Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria und Verrucomicrobia. Einhergehend mit den spezifischen Lebensbedingungen, die im Darm vorherrschend sind

(pH-Wert, Peristaltik, Nährstoffe etc.), machen Bakterien der Phyla Firmicutes und Bacteroidetes zusammen 90% der Bakterien aus, die man im Darm einer erwachsenen Person vorfindet. Die Größe des jeweiligen Anteils an Firmicutes bzw. Bacteroidetes im Darm ist dabei individuell. (1, 3, 10)

Während die intestinale Mikrobiota intra- und interindividuell keine große Diversität auf Stammesebene aufweist, zeigt sich hingegen eine umso größere Variabilität bezüglich der Bakterienspezies und Bakterien-subspezies. Jeder Mensch trägt eine einzigartige Mikrobiota in sich, die von der eigenen Mutter, anderen Familienmitgliedern und aus der Umgebung erworben wurde, durch endogene (genetische) sowie exogene (Umwelt) Einflüsse geprägt wird und interindividuell unterschiedlich ist. Obwohl sich die Subspezies und Spezies der intestinalen Mikrobiota individuell stark unterscheiden können, scheint jedes Mikrobiom eine sehr ähnliche Funktion zu erfüllen. Diese Tatsache lässt sich dadurch erklären, dass die unterschiedlichen Mikrobiota über ein gemeinsames genetisches Repertoire, ein sogenanntes „core gut microbiome“ verfügen. (1)

#### **1.1.1.2.1 Bacteroidetes**

Bakterien des Phylums Bacteroidetes können viele verschiedene Substrate nutzen und sind hauptverantwortlich für die Herstellung von Propionat. Wichtiger Vertreter der Bacteroidetes ist die obligat anaerobe, gramnegative Gattung *Bacteroides*, welche zu einer der dominantesten Bakteriengruppen im Darm des Menschen zählt. Bedeutende Spezies sind unter anderem *B. fragilis*, *B. vulgatus* und *B. thetaiotaomicron*. (3, 9)

Aufgrund ihrer opportunistischen Natur sind Bacteroidetes an ihren physiologischen Standorten für den Menschen in der Regel nicht krankheitserregend. Vielmehr nehmen *Bacteroides*-Arten eine bedeutende Rolle in der intestinalen Mikrobiota ein. Als eines von vielen Beispielen ist die Produktion von Butyrat zu nennen, welches den Enterozyten als Nahrungsquelle dient. Neben dem Abbau unverdaulicher Saccharide, sind *Bacteroides* spp. auch in der Lage Proteine umzuwandeln. Außerdem stellen sie Glukuronidasen her, die an der Metabolisierung unterschiedlicher Medikamente in der Leber beteiligt sind. Bestimmte Spezies nehmen eine wesentliche Funktion bei der Entwicklung des Darmepithels und der Expression von Glykanen und antimikrobiellen Peptiden ein. *Bacteroides* konkurrieren mit anderen Bakterien um Raum und Ressourcen. Auf diese Weise tragen sie wesentlich zur Aufrechterhaltung der Kolonisationsresistenz bei. (siehe Kapitel 1.2.2.2). (1, 3, 7, 9, 11)

Einige Vertreter der Gattung *Bacteroides* sind jedoch in der Lage unter bestimmten Bedingungen endogene Infektionen im Menschen auszulösen. Als häufigster

Krankheitserreger ist hierbei *B. fragilis* zu nennen. (7, 11, 12)

Prevotella-, Alistipes- und Porphyromonasarten gehören ebenfalls zum Stamm der Bacteroidetes und weisen ähnliche Eigenschaften auf. Diese Bakterien können ebenfalls im Darm vorgefunden werden, wenn auch mit deutlich geringerer Häufigkeit. (3, 7, 11)

#### **1.1.1.2.2 Firmicutes**

Der Stamm der Firmicutes wird von grampositiven Bakterien gebildet, die sich sowohl in ihrem Aussehen als auch in ihrer Physiologie stark voneinander unterscheiden. Dazu zählen vor allem Arten, die für den Menschen unverdauliche, pflanzliche Kohlenhydrate zu SCFAs abbauen. Zahlreiche Firmicutes, wie beispielsweise Clostridiales, sind in der Lage vegetative Formen, sogenannte Endosporen zu bilden, was sie robust gegenüber Umwelteinflüssen macht. (3, 12)

Firmicutes-Klassen, die für den Menschen von Bedeutung sind, umfassen die Bacilli, die überwiegend aerob leben, sowie die Clostridia, die anaerob oder fakultativ anaerob existieren. Beispiele für Bakteriengattungen, die im Darm vorkommen, sind unter anderem Streptococcus, Enterococcus, Bacillus, Ruminococcus, Clostridium und Lactobacillus. (3, 10)

Clostridia spielen eine bedeutende Rolle beim Erhalt der physiologischen Darmfunktion. Besonders häufig sind Vertreter der sogenannten Clostridien-Cluster IV und XIVa im Darm anzutreffen, zu denen Gattungen wie Clostridium, Ruminococcus, Eubacterium, Lachnospira und Roseburia zählen. Diese Clostridien-Cluster zeichnen sich vor allem durch die Herstellung von Butyrat aus. Zudem wurde beschrieben, dass Bakterien dieser Cluster die Akkumulation von regulatorischen T-Zellen im Darm induzieren.

Regulatorische T-Zellen haben großen Einfluss auf die intestinale Immunhomöostase, indem sie durch das Unterdrücken einer systemischen oder mukosalen Immunantwort das Entstehen von intestinalen Immunreaktionen kontrollieren und zum Erhalt der Immuntoleranz gegenüber intestinalen Mikroorganismen beitragen. Bakterien der Clostridien-Cluster XIVa und IV kann somit eine zentral protektive Rolle zugeschrieben werden. (1, 13, 14)

Aus humanmedizinischer Perspektive ist aus der Klasse der Clostridia vor allem das Bakterium *Clostridium difficile*, heute als *Clostridioides difficile* bezeichnet, relevant. Dieses Bakterium ist bedeutsam, da es als Auslöser der pseudomembranösen Colitis

bekannt ist. Die meisten Clostridia haben jedoch eine symbiotische Beziehung zum Menschen.(9, 12, 14)

Wichtige Vertreter der Klasse Bacilli sind die Laktobazillen. Laktobazillen sind mikroaerophile Bakterien und haben die Form von Stäbchen. Sie zählen zu den Milchsäurebakterien, welche morphologisch sehr unterschiedliche, fermentative Mikroorganismen sind. Das wesentliche Stoffwechselprodukt von Milchsäurebakterien ist die Milchsäure, welche unter anaeroben Bedingungen aus Zucker hergestellt wird. Durch die Produktion unterschiedlicher Stoffwechselprodukte wie SCFAs, Peroxide und verschiedener Bacteriocine hemmen Laktobazillen das Wachstum von fremden Mikroorganismen. Speziell im Dünndarm nehmen Laktobazillen eine bedeutende Funktion ein, indem sie ihn vor einer Überwucherung mit fremden Bakterien, einem sogenannten „bacterial overgrowth“, schützen. Zu den Laktobazillen, die in der intestinalen Mikrobiota des Menschen vorkommen, zählen beispielsweise *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. fermentum* und *L. salivarius*.(8-12)

Eine weitere im Darm vorkommende Art der Bacilli sind die Enterokokken. *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus faecium* stellen relevante Arten im menschlichen Darm dar. Durch ihre Produktion von SCFAs und weiteren antimikrobiellen Stoffen tragen sie zur Aufrechterhaltung der Kolonisationsresistenz bei.(10, 11)

Einige Mitglieder der Gattung *Streptococcus* sind Teil der physiologischen Darmflora, jedoch sind bislang keine vorteilhaften Wirkungen dieser Mikroorganismen bekannt. Stattdessen können sie den Organismus in höherer Konzentration aufgrund ihrer metabolischen Aktivität erheblich belasten.(11)

#### ***1.1.1.2.3 Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria und Verrucomicrobia***

Zum Stamm der Proteobacteria gehört unter anderem die Familie der Enterobacteriaceae. Sie stellen eine Gruppe von gramnegativen Stäbchen dar, welche fakultativ anaerob lebt. Sie können also sowohl unter aeroben als auch unter anaeroben Verhältnissen wachsen. Proteobacteria machen insgesamt nur weniger als 10% der Darmbakterien aus. Einige Enterobakterien kommen in der physiologischen Darmflora des Menschen vor, können jedoch unter bestimmten Umständen zur Entstehung von endogenen oder nosokomialen Infektionen führen. Man bezeichnet sie daher auch als fakultativ pathogen oder Opportunisten. Insbesondere Proteobacteria der Gattung *Escherichia* besiedeln den Darm. Sie produzieren als Bestandteil der intestinalen Mikrobiota Vitamine, im Speziellen

Vitamin K. Ihr fakultativ aerober Metabolismus trägt wahrscheinlich zur Reduktion des Sauerstoffs bei, wodurch das Milieu des Dickdarms anoxisch wird. Bekannteste Spezies ist *E. coli*, von welcher apathogene und fakultativ pathogene Stämme den Darm bewohnen. Letztere verfügen über bestimmte Pathogenitätsfaktoren und können wie bereits oben erwähnt als Opportunisten zur Entstehung unterschiedlichster Krankheitsbilder führen. Apathogene Stämme hingegen schützen durch die Produktion antimikrobieller Stoffe vor einer Besiedelung mit Fremdkeimen. (3, 7, 8, 11, 12)

Unter Umständen können auch weitere Vertreter der Enterobacteriaceae wie *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Proteus* im Stuhl festgestellt werden. Diese Bakterien werden über die Nahrung aufgenommen, durchwandern den Darm jedoch in den meisten Fällen, ohne ihn zu besiedeln. Diese Gattungen sind dafür bekannt Enterotoxine zu bilden, die den Wirtsorganismus stark belasten können und unter anderem zu Durchfall führen. Sind diese Gattungen in hohem Maße nachweisbar, so kann dies auf eine gestörte Kolonisationsresistenz hinweisen. (11)

Weniger als 5% der Bakterien der Darmflora gehören zum Stamm der Actinobacteria. Sie werden hauptsächlich durch die Gattung *Bifidobacterium* vertreten. Unter anderem sind die Spezies *B. breve*, *B. longum*, und *B. bifidum* vorzufinden. Bifidobakterien sind grampositive, anaerobe Stäbchen, die in der Lage sind, Glukose zu Lactat und Acetat abzubauen. Durch die Säureproduktion wird das Milieu des Darmes angesäuert und so die Vermehrung von Begleitkeimen verhindert. Des Weiteren sind Bifidobakterien befähigt, Gallensäuren zu spalten, wodurch die Vermehrung bestimmter Bakterien gehemmt werden kann. (3, 9-12)

Die Phyla *Fusobacteria* und *Verrucomicrobia* machen den geringsten Anteil der Darmbakterien aus. (3)

### **1.1.1.3 Biogeographie der Darmbakterien**

Der menschliche Gastrointestinaltrakt präsentiert sich im Wesentlichen als ein äußerst langes, aufgefaltetes Rohr, das eine Mischung aus Nahrungsbrei und der dort besiedelten intestinalen Mikrobiota beherbergt.

Die primäre Funktion des Verdauungstraktes besteht darin, aufgenommene Nahrung zu verdauen und die aufbereiteten Nahrungsbestandteile zu absorbieren. Viele wichtige Nährstoffe werden dabei von der intestinalen Mikrobiota hergestellt. Sowohl der Mensch als auch die Mikroben selbst verwerten die im Darmrohr zur Verfügung stehenden

Nährstoffe. (8)

Entlang des Darmrohres verändert sich auch stets die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota. Beginnend in der Mundhöhle erfolgt die Besiedelung des Magen-Darm-Traktes von oral nach aboral. Die Besiedelung wird dabei von den spezifischen Umgebungsbedingungen im jeweiligen Abschnitt des Gastrointestinaltrakts beeinflusst. Diese Umgebungsbedingungen schließen unter anderem das Nährstoffangebot, den vorherrschenden pH-Wert, die Menge und Art an antimikrobiellen Peptiden, die Sauerstoffkonzentration vor Ort und die Einwirkung von Gallensäuren mit ein. (1, 8)

#### ***1.1.1.3.1 Mikrobielle Flora des Dünndarms***

Der Dünndarm besteht aus dem Duodenum, dem Jejunum und dem Ileum. Die mikrobielle Flora des Dünndarms zeichnet sich durch Mikroorganismen aus, die mit dem Menschen um die Resorption von Kohlenhydraten konkurrieren und an ein sich schnell veränderndes Nährstoffangebot angepasst sind. Der Dünndarm weist einen niedrigeren pH-Wert und höheren Gehalt an Sauerstoff und antimikrobiellen Substanzen als das Colon auf. Gallensäuren, die im proximalen Abschnitt des Darmes sezerniert werden, sind dafür bekannt die Zusammensetzung des Mikrobioms zu formen, da sie auf bestimmte Spezies bakterizid wirken und wiederum das Wachstum anderer fördern. Auf Grund der besonderen Bedingungen und der deutlich kürzeren Passagezeit ist das Bakterienwachstum im Dünndarm limitiert. Die Bakteriendichte ist deutlich geringer als im Kolon und es dominieren Bakterienfamilien wie Lactobacillaceae und Enterobacteriaceae, die sich unter Sauerstoff rasch vermehren können. (3, 8, 15)

In Richtung des Ileums steigt der pH-Wert allmählich an und die Sauerstoffkonzentration sinkt. Im terminalen Ileum zeigt sich bereits eine ähnliche Bakteriendichte wie im Dickdarm. Außerdem weist die Mikrobiota des terminalen Ileums eine starke Ähnlichkeit zu der mikrobiellen Flora im Kolon auf. (1, 3, 15)

#### ***1.1.1.3.2 Mikrobielle Flora des Dickdarms und des terminalen Ileums***

Das Kolon stellt das am dichtesten besiedelte und artenreichste Biotop des Menschen dar. Die dort vorherrschenden Bedingungen schaffen ideale Voraussetzungen für das Wachstum von Bakterien. Durch das Konkurrieren um ökologische Nischen, limitiert die intestinale Mikrobiota selbst die bakterielle Proliferation und beugt so einem ungehemmten Wachstum vor. Im Dickdarm sind die Mikroorganismen vor allem für den Abbau

komplexer Kohlenhydrate, die während der Dünndarmpassage nicht metabolisiert wurden, verantwortlich. (8, 15)

Die dominanten Bakterienstämme im letzten Dünndarmabschnitt und Kolon sind Firmicutes und Bacteroidetes. Der Anteil an Proteobacteria und Verrucomicrobia ist deutlich geringer.(1)

Insbesondere das Phylum Firmicutes ist sehr vielfältig vertreten und verantwortet etwa 75% der gesamten Phylotypen des Dickdarmes. Besonders häufig sind dabei Mitglieder der Clostridien-Cluster XIVa, IV und XVI anzutreffen. Ein bedeutsamer Bestandteil der mikrobiellen Flora des Kolons ist *Faecalibacterium prausnitzii*, ein Bakterium der Klasse Clostridia, welches antiinflammatorisch und immunmodulierend wirkt. (1)

Das Phylum Bacteroidetes ist mit einer deutlich geringeren phylogenetischen Vielfalt vertreten. Der Stamm wird vor allem durch *B. vulgatus*, *B. thetaiotaomicron* und Prevotellaceae repräsentiert, wobei die Zusammensetzung innerhalb der Bacteroidetes interindividuell stark variiert. (1)

Vertreter des Phylum Proteobacteria wie *Escherichia* kommen in der physiologischen Mikrobiota des Kolons nur in geringen Mengen vor. Der Anteil dieses Phylums vergrößert sich allerdings in Anwesenheit von Entzündungsreaktionen im Darm und kann wiederum auch bei der Entstehung dieser mitwirken.(1)

Zu selteneren Stämmen, die man im Kolon vorfindet, zählen Actinobacteria (bspw. *Bifidobacterium* spp.), Verrucomicrobia und Fusobacteria. (1)

Die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota in den einzelnen Segmenten des Kolons variiert nur minimal, jedoch kann man im Dickdarm zwischen einer wandständigen, Mukosa-assoziierten Mikrobiota und einer luminalen Flora unterscheiden. (1, 7)

Innerhalb der Mukosa-assoziierten Mikrobiota sind vermehrt Vertreter der Bacteroidetes, Actinobacteria und Proteobacteria anzutreffen. Bakterien des Phylums Firmicutes findet man hingegen vermehrt im Lumen des Darmes vor.(1)

Die diverse Zusammensetzung der wandständigen und luminalen Flora kommt durch ein unterschiedliches Sauerstoffangebot und die unterschiedliche Toleranz der Bakterien gegenüber reaktiven Sauerstoffspezies und Nährstoffkonzentrationen zu Stande.

Sauerstoff diffundiert aus der Mukosa in das Darmlumen. Da die Sauerstoffkonzentration in der Mukosa hoch ist wird sie insbesondere von aeroben, fakultativ anaeroben und aerotoleranten Bakteriengattungen besiedelt, die den Sauerstoff verwerten können oder über Enzyme verfügen, die bei der Entgiftung von Sauerstoffradikalen behilflich sind.

Diese Erkenntnisse verdeutlichen ebenfalls, weshalb der Anteil der Proteobacteria bei Entzündungsreaktionen und der damit einhergehenden oxidativen Umgebung zunimmt. (1) Da die Bakterien der wandständigen Mikrobiota Sauerstoff nutzen, kommt es im Darmlumen zu einem schnellen Abfall der Sauerstoffkonzentration von etwa 40mmHg auf unter 1mmHg. Dieser Umstand begünstigt die Kolonisierung des Darmlumens mit obligat anaeroben Bakterien wie beispielsweise Clostridiaceae.(1)

Neben der Sauerstoffkonzentration spielt auch das Nährstoffangebot eine wichtige Rolle bei der Stratifizierung der Mikroorganismen. Beispielsweise findet man in der Mukusschicht vermehrt asaccharolytische Bakterien, die den Mukus wahrscheinlich auf Grund seines proteinhaltigen Milieus besiedeln. In der Mukusschicht des Dickdarmes findet man außerdem Mucin-degradierende Bakterien wie *B. acidifaciens* und *Akkermansia muciniphila* vor. Die genannten Bakterien befinden sich ausschließlich in der äußeren Schicht des Mukus. Die innere Mukusschicht ist hingegen steril, sprich frei von Bakterien und dient vor allem der Vermeidung eines unmittelbaren Kontaktes zwischen Darmepithel und kommensalen Bakterien. (1)

#### **1.1.1.4 Darm-Enterotypen**

Zuvor wurde bereits darauf eingegangen, dass die Komposition des intestinalen Mikrobioms vor allem auf Speziesebene je nach Individuum variiert. Vor einiger Zeit wurde jedoch die Hypothese aufgestellt, dass sich die intestinale Mikrobiota eines Individuums trotz der großen interindividuellen Unterschiede einem sogenannten Enterotypen zuteilen lässt. (1, 8, 16)

Enterotypen stellen Zusammenschlüsse von Mikroorganismen im Darm dar, welche hauptsächlich durch die Dominanz einer namensgebenden Bakterienspezies charakterisiert werden. Enterotyp 1 weist beispielsweise eine Fülle an *Bacteroides* spp. auf während im Enterotyp 2 *Prevotella* spp. überwiegen. Enterotyp 3 zeichnet sich wiederum durch die Häufigkeit von *Ruminococcus* spp. aus. (1, 8, 16)

Jeder Enterotyp hebt sich durch seine unterschiedliche Funktionalität hervor. Die einzelnen Enterotypen unterscheiden sich z.B. im Ausmaß der Vitaminproduktion. Außerdem dürften Enterotypen die Reaktion eines Individuums auf seine Ernährung und Arzneimittel beeinflussen und sich somit auf den gesundheitlichen Zustand des Menschen auswirken. (8)

Allerdings zeigte sich, dass die Klassifizierung in Enterotypen wohl komplexer ist, als

bisher angenommen wurde. Die Existenz und Relevanz dieser Enterotypen, insbesondere in Bezug auf Enterotyp 3, wird bisweilen sogar angezweifelt. (1, 3, 8)

### ***1.1.2 Viren, Eukaryoten und Archaeen des intestinalen Mikrobioms***

Neben den Bakterien machen auch Viren einen bedeutenden Anteil am intestinalen Mikrobiom aus. Die Gesamtheit der im Darm vorkommenden Viren wird auch als „Virom“ bezeichnet, wobei mit diesem Begriff nur die Gesamtheit der intestinalen Virusgene gemeint ist. Mittels DNA-Sequenzierung konnte die Erkenntnis gewonnen werden, dass das Virom innerhalb eines Individuums keine große Diversität aufweist, interindividuell aber stark variieren kann. Beispielsweise unterscheidet sich das Darmvirom von eineiigen Zwillingen oder von Verwandten, die im gleichen Haushalt wohnen.(1,3)

Die Charakterisierung des Viroms stellt bisweilen eine Herausforderung dar und ist technisch sehr aufwendig. Der überwiegende Teil des intestinalen Viroms setzt sich aus bisher nicht identifizierten Viren zusammen. Unter den Viren, die bisher charakterisiert werden konnten, finden sich hauptsächlich Bakteriophagen. Bakteriophagen sind Vertreter der Viren, die prokaryotische Zellen, sprich Bakterien und Archaeen, befallen. Im Magendarmtrakt herrscht eine kommensale Beziehung zwischen Bakteriophagen und Bakterien. Sie steuern einen wichtigen Beitrag zum Erhalt der bakteriellen Fitness bei und unterstützen die bakterielle Besiedlung des Menschen sowie die Adaption der Bakterien an wechselnde Nährstoffangebote. Durch das Übertragen von Virulenzfaktoren oder Antibiotika-Resistenzgenen können die enterischen Bakteriophagen auf die Funktion der bakteriellen Mikrobiota und dadurch auch auf die Gesundheit des Menschen einwirken. Es gibt die Annahme, dass das Virom das menschliche Immunsystem direkt beeinflussen kann, allerdings fehlen noch ausreichend Daten, um diese Annahme bestätigen zu können. (1,3)

Eukaryoten stellen eine Minderheit im Verdauungstrakt des Menschen dar. Durch Untersuchungen des Stuhls konnte festgestellt werden, dass weniger als 0,5% der Gensequenzen des Mikrobioms eukaryotischen Zellen zugeordnet werden können. Die meisten dieser sind tierischer oder pflanzlicher Natur, Bestandteil der Nahrung und deswegen nur passager im Darm vorzufinden. (1)

Die physiologische, eukaryotische intestinale Flora ist gekennzeichnet durch eine geringe Diversität und wird von einigen wenigen Taxa repräsentiert. Pilze machen insgesamt nur ungefähr 0.1% der intestinalen Mikrobiota aus. Bis zu 40 verschiedene Pilzspezies konnten bisher im Darm detektiert werden. Sie gehören den Phyla der Ascomycota und Basidiomycota bzw. den Gattungen *Candida*, *Penicillium*, *Saccharomyces*, *Paecilomyces* und *Glastomyces* an. Bis dato wurden für intestinale Pilze hauptsächlich negative Einflüsse auf die menschliche Gesundheit beschrieben. Unter anderem werden sie mit lokalen und systemischen Infektionen sowie Karzinomen in Verbindung gebracht. Hinsichtlich einer protektiven Wirkung der enterischen Pilze wurde noch nicht ausreichend geforscht.(1) Stramenopiles, Amoebozoa, begeißelte Einzeller und einzellige Alveolata machen einen noch kleineren Anteil der intestinalen Mikrobiota aus.(1)

Neben Bakterien und Eukaryoten stellen Archaeen die dritte Domäne des Lebens dar. Archaeen sind einzellige Mikroorganismen, die dafür bekannt sind unter extremen Umweltbedingungen überleben zu können.(1)

Die im Darm dominierende Archaeenspezies ist *Methanobrevibacter smithii*. Dieses Archaeum verwertet Wasserstoff und Kohlenstoffdioxid, um Energie zu gewinnen. Das Verwerten dieser Moleküle ist von bedeutender Relevanz für die adäquate bakterielle Fermentation von Polysacchariden. (1)

### ***1.1.3 Regulation der Struktur der intestinalen Mikrobiota***

Verschiedene Faktoren tragen zur individuellen Zusammensetzung der Darmmikrobiota bei. Unter der Einwirkung von Umwelteinflüssen und in Abhängigkeit vom individuellen Genpool entwickelt sich im Verlauf der frühen Lebensphase eine, für jedes Lebewesen charakteristische, intestinale Mikrobiota. Die Zusammensetzung der Mikrobiota ist in den ersten Lebensjahren äußerst instabil und verändert sich laufend. Im Gegensatz dazu gilt die Zusammensetzung des adulten Mikrobioms als stabil und resilient. Jedoch steht auch die intestinale Flora des Erwachsenen weiterhin unter dem Einfluss diverser Umweltfaktoren, welche die intestinale Mikrobiota modulieren können. Ebenso können sich genetische Faktoren auf die Struktur der Darmmikrobiota auswirken. (1, 3)

In diesem Kapitel soll zunächst genauer auf die Dynamik der intestinalen Mikrobiota im Lebenszyklus eines Menschen eingegangen werden. Anschließend wird in selektiver Weise eine Übersicht über exogene und endogene Einflussfaktoren der intestinalen Mikrobiota gegeben.

### **1.1.3.1 Dynamik des intestinalen Mikrobioms im Lebenszyklus**

#### ***1.1.3.1.1 Entwicklung des Mikrobioms beim Neugeborenen und Kleinkind***

Die intestinale Mikrobiota ist in der frühen Lebensphase noch instabil und wird vor allem in den ersten Lebensmonaten stark durch Umweltfaktoren beeinflusst. Die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota des frühen Kindesalters kann bzw. wird vor allem durch die Art der Entbindung, durch das Stillen, die Essensbeigabe nach dem vierten bis sechsten Lebensmonat und eventuell frühkindliche Antibiotikatherapien beeinflusst. (1)

Der kindliche Organismus ist intrauterin noch weitgehend steril. Die Besiedelung des Säuglings mit Mikroorganismen beginnt während der Geburt bzw. während des Durchtritts durch den Geburtskanal. Die intestinale Mikrobiota vaginal entbundener Neugeborener wird in den ersten Lebenstagen, analog der mikrobiellen Flora des Geburtskanals, von *Lactobacillus*, *Prevotella* und *Sneathia* dominiert. Die Darmflora von Neugeborenen, die per sectio zur Welt kommen, ist hingegen zu Beginn vor allem mit *Staphylococcus* spp., *Corynebacterineae* und *Propionibacteriaceae* angereichert. Ihre intestinale Mikrobiota ähnelt der Hautmikrobiota der Mutter. Studien konnten nachweisen, dass bei Sectio-Kindern eine verzögerte Kolonisierung mit *Lactobacillus*, *Bifidobakterium* und *Bacteroides* stattfindet. Der Einfluss der Geburtsmethode auf die initiale Besiedelung des Darmes hat wahrscheinlich auch funktionale Konsequenzen. Beispielsweise kommt es nach einem Kaiserschnitt häufiger zu Neugeboreneninfektionen mit methicillinresistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen als dies bei natürlichen Geburten der Fall ist. (1, 3)

Die Art der Ernährung spielt eine entscheidende Rolle in Bezug auf die weitere Entwicklung der Darmmikrobiota. Stillen wird als förderlich angesehen, da die Mikrobiota durch die Muttermilch mit Bakterien (vor allem *Bifidobakterien*) angereichert wird, denen eine protektive Wirkung nachgesagt wird. Große Mengen an *B. longum* sind zum Beispiel für die Entwicklung des Immunsystems von Bedeutung. Oligosaccharide in der Muttermilch beugen außerdem Infektionen durch pathogene Mikroorganismen vor. (1, 8)

Das Abstillen des Kindes führt zu einer Veränderung der Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota. Sie besteht nun vor allem aus Bakterien, welche Pflanzenfasern und komplexe Saccharide verwerten können, was mit dem Übergang von der Milchfütterung zur Ernährung mit fester Nahrung einhergeht. Auch die Art der Zufütterung

spielt eine Rolle in der Entwicklung der intestinalen Mikrobiota. Eine typische mitteleuropäische Zufütterung führt zur Entwicklung einer mikrobiellen Flora, welche zur Hälfte aus Firmicutes besteht. Hingegen verfügen Kinder in Afrika, die hauptsächlich mit Nahrung auf Hirsebasis gefüttert werden, über eine Mikrobiota, die zu mehr als zwei Dritteln aus Bacteroidetes besteht. (1, 8)

Die sich in der Entwicklung befindliche intestinale Mikrobiota kann außerdem durch die Verabreichung von Antibiotika beeinflusst werden. Prä- und peripartaler Antibiotikakonsum der Mutter sowie eine postnatale Antibiotikatherapie des neugeborenen Kindes können negative Auswirkungen auf die Entwicklung der intestinalen Mikrobiota haben. Antibiotika können dabei zu langfristigen Veränderungen der enteralen Flora führen und in weiterer Folge über die Beeinflussung des mukosalen und systemischen Immunsystems die Suszeptibilität gegenüber immunvermittelten Krankheitsbildern erhöhen und das Risiko für die Entstehung von Adipositas steigern. (1)

Obwohl die kindliche Mikrobiota ständig durch Umweltfaktoren modifiziert wird, entwickelt sie sich in den ersten Lebensjahren kontinuierlich in Richtung der stabilen Mikrobiota eines Erwachsenen. Die mikrobielle Vielfalt nimmt zu und die interindividuellen Unterschiede in der Zusammensetzung nehmen ab. Ungefähr nach 2,5 Jahren ähneln Komposition, Vielfalt und metabolische Funktion schließlich der erwachsenen Mikrobenflora, welche wie in Kapitel 1.1.1.2 erwähnt zu 90% aus Firmicutes und Bacteroidetes besteht. (1,3)

#### ***1.1.3.1.2 Beständigkeit der Mikrobiota im Erwachsenenalter und Modifikation im Alter***

Die intestinale Mikrobiota des Erwachsenen präsentiert sich größtenteils als stabil und widerstandsfähig. Sie zeichnet sich durch eine individuelle und im Laufe der Zeit relativ konstante Bakterienselektion aus. Umwelteinflüsse wirken sich hauptsächlich auf relative Proportionen der Mikroben aus und bedrohen nur selten ihre Existenz.

In Übereinstimmung damit sind Veränderungen in der Mikrobiota-Zusammensetzung im Laufe der Zeit innerhalb eines Individuums deutlich geringer ausgeprägt als zwischen unterschiedlichen Individuen.(1)

Aus Langzeitstudien weiß man, dass ungefähr 60% der Bakterienstämme über eine Zeitspanne von fünf Jahren im Gastrointestinaltrakt verweilen und nur minimale

Veränderungen über nachfolgende Jahrzehnte aufweisen. Im Gegensatz zu nichtverwandten Individuen lassen sich in der intestinalen Mikrobiota von Familienmitgliedern ersten Grades gleiche Bakterienstämme feststellen. Daher lässt sich annehmen, dass die Mehrheit der intestinalen Flora aus Mikroben besteht, welche im Kindesalter von Verwandten erworben werden und den Darm über den gesamten Lebenszyklus kolonisieren. (1)

Während die intestinale Mikrobiota erwachsener Personen über einen beträchtlichen Zeitraum hinweg recht stabil zu sein scheint, wurden bei Menschen über 65 Jahren Veränderungen in der Zusammensetzung der Mikrobiota festgestellt. Im Vergleich zur jüngeren Bevölkerung zeigen ältere Personen einen erhöhten Anteil an Bacteroidetes und dem Clostridium-Cluster IV. Untersuchungen von Stuhlproben hundertjähriger Individuen zeigten eine erhöhte Präsenz von fakultativen Anaerobiern wie beispielsweise E. coli sowie eine Reduktion von Faecalibacterium prausnitzii. Im fortgeschrittenen Alter ist zudem eine markante Zunahme der  $\beta$ -Diversität zu beobachten. (1, 3)

Die veränderte Zusammensetzung im höheren Alter könnte durch eine modifizierte Verdauung bzw. Nährstoffaufnahme oder durch ein geschwächtes Immunsystem erklärbar sein. Die mikrobielle Vielfalt könnte ebenfalls durch monotone Nahrung beeinflusst werden. Darüber hinaus wird angenommen, dass das Umfeld einen Einfluss auf die Diversität ausübt, beispielsweise macht es einen Unterschied, ob man mit der Familie zusammenwohnt oder für längere Zeit in einer Pflegeeinrichtung lebt. (3, 10)

Im Senium zeigt sich eine eingeschränkte metabolische Funktion der Mikroben, was dazu führt, dass Metabolite wie SCFA nicht in ausreichendem Maße produziert werden. Diese Umstände könnten möglicherweise dazu beitragen, dass intestinale Entzündungen wie Divertikulitiden im Alter vermehrt auftreten. (3,9)

Ob die Unterschiede in der Komposition und zeitlichen Stabilität der intestinalen Mikrobiota bei älteren Menschen schlussendlich direkt durch physiologische Veränderungen oder durch den Einfluss verschiedenster Faktoren während des gesamten Lebens zu Stande kommen, ist nicht ausreichend geklärt. (3)

### **1.1.3.2 Einfluss der Ernährung auf die Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms**

Darabakterien nützen aus der Nahrung oder dem menschlichen Körper stammende Polysaccharide als Hauptenergiequelle. Die Fermentation dieser Polysaccharide ist dabei auch für den Menschen von Nutzen, da sie zur Energieerzeugung aus der Nahrungsquelle beiträgt. In vielen Publikationen wurde nachgewiesen, dass eine veränderte Ernährungsweise Einfluss auf die Zusammensetzung der enteralen Flora haben kann. Eine Veränderung der Essgewohnheiten kann die Komposition der enteralen Flora sogar innerhalb eines Tages modifizieren. Eine Ernährung, die reich an pflanzlichen Kohlenhydraten ist, wird mit einer Mikrobiota in Verbindung gebracht, die vorwiegend aus Prevotella und Xylanibacter besteht. Da diese Bakteriengattungen als effiziente Cellulose- und Xylanverwerter bekannt sind, ist anzunehmen, dass eine Anpassung der intestinalen Flora an die Ernährungsweise stattgefunden hat. Außerdem führt eine pflanzenbasierte oder mediterrane Ernährungsweise möglicherweise zu einer gesteigerten Fettsäureproduktion, was wiederum den Anteil an Prevotella und saccharolytischen Firmicutes-Bakterien erhöht. Der Verzehr von Vollkornprodukten bewirkt eine Zunahme an Bifidobakterien, Enterokokken und Laktobazillen. Andererseits wird eine Ernährung auf Basis von Eiweißen und animalischen Fetten mit einem Mikrobiom in Zusammenhang gebracht, das reich an Bacteroides spp. ist.(1,3)

Insgesamt existieren zahlreiche Wechselbeziehungen zwischen den Bestandteilen der Nahrung und der Zusammensetzung und Funktion der intestinalen Mikrobiota, deren Aufarbeitung den Rahmen dieser Arbeit sprengen würde.

### **1.1.3.3 Einfluss des Lebensraumes auf die Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms**

Einhergehend mit der Einwirkung von Umwelteinflüssen auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota, scheint auch eine von der geographischen Lage geprägte Variabilität in der Komposition der enteralen Mikrobiota zu bestehen. (1)

Beispielsweise konnten Unterschiede in der Mikrobiom-Zusammensetzung von erwachsenen Personen und Kindern aus den USA, Malawi, Venezuela und eines indigenen Volkes aus Südamerika festgestellt werden.

Deutliche Abweichungen in der mikrobiellen Zusammensetzung konnten vor allem zwischen der Darmmikrobiota der Nordamerikaner\*innen und jener der Afrikaner\*innen bzw. der südamerikanischen Ureinwohner\*innen beobachtet werden. Die Unterschiede schienen vor allem auf die verschiedenen Ernährungsweisen der Bewohner dieser Regionen rückführbar zu sein. Diese These konnte durch Untersuchungen der enzymatischen Bandbreite der Mikrobiota bekräftigt werden. Außerdem fiel auf, dass die Mikrobiota der Südafrikaner\*innen und der südamerikanischen Ureinwohner\*innen verglichen mit den Personen, die in den USA leben, eine größere Vielfalt aufwiesen.(17)

Eine weitere Studie untersuchte die intestinalen Mikrobiota von über 7.000 Personen, die aus der gesamten Provinz Guangdong in China stammten. Im Vergleich zu vorherigen Publikationen ermöglichte die von den Forschern angewandte Methode eine detaillierte Bewertung der geografischen Variation in Bezug auf das Mikrobiom. Die Ergebnisse deuteten darauf hin, dass die beobachteten Unterschiede in der Zusammensetzung des Darmmikrobioms zwischen Einzelpersonen hauptsächlich durch ihren geografischen Standort erklärt werden können. Aufgrund dieser Erkenntnisse lässt sich also eine Anpassung der intestinalen Mikrobiota an die vorherrschenden Lebensbedingungen einer geographischen Region annehmen. (18)

#### **1.1.3.4 Einfluss der Genetik auf die Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms**

Obwohl die intestinale Mikrobiota von Angehörigen verglichen mit nicht verwandten Individuen größere Ähnlichkeiten aufweisen, konnten ältere Studien keinen Unterschied in der Ähnlichkeit der Mikrobiota von mono- und dizygoten Zwillingen feststellen. Aufgrund dessen ist davon auszugehen, dass gemeinsame Umweltfaktoren dominante Auswirkungen auf die Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms haben, während die Genetik eher eine nebensächliche Rolle zu spielen scheint. (1)

Jedoch weiß man, dass Polymorphismen im humanen Genom und Veränderungen im Erbgut der Maus mit Alterationen der Darmmikrobiota assoziiert sind. In diesem Zusammenhang haben aktuellere Publikationen gezeigt, dass eine selektive Regulation der Darmmikrobiota in Abhängigkeit von der genetischen Ausstattung des Menschen stattfindet. (1)

Die stärkste genetische Beeinflussung durch den Wirt zeigt sich bei Lachnospiraceae und Ruminococcaceae, während die Regulation der Bacteroidetes hauptsächlich durch die Umwelt erfolgt. Auch die Menge an Archaeen unterliegt dem Einfluss der Genetik. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass neben den vermutlich vorherrschenden Einflüssen von Umweltfaktoren auch die genetische Veranlagung des Menschen eine Rolle bei der Steuerung der Darmmikrobiota spielen kann. (1)

Darüber hinaus scheint auch das Geschlecht einen modulierenden Einfluss auf die intestinale Mikrobiota zu haben, da sich soziale Praktiken und Alltagsaktivitäten von Mann und Frau unterscheiden und diese wiederum einen Effekt auf die Zusammensetzung des Mikrobioms haben können (13)

Auch die Ethnizität scheint eine Rolle bei der Regulation der Mikrobiota zu spielen. Deschasaux et. al zeigten, dass die Zusammensetzung der Mikrobiota von Personen, die in der gleichen Stadt leben, Gemeinsamkeiten mit der Mikrobiota von Individuen derselben ethnischen Herkunft aufweist. Die Ethnizität trug dazu bei die interindividuellen Unterschiede in der Zusammensetzung der Darmmikrobiota zu erklären.(19)

### **1.1.3.5 Beeinflussung durch Medikamente**

Mittlerweile wird für verschiedenste Medikamente ein Einfluss auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota beschrieben.

So zeigen Analysen des enteralen Mikrobioms, dass eine Therapie mit Protonenpumpenhemmern mit einer deutlichen Reduktion der Diversität der intestinalen Mikrobiota einhergeht. (20)

In klinischen Studien konnten Veränderungen in der Zusammensetzung und der Funktionen des Darmmikrobioms, die durch Metformin-Behandlungen hervorgerufen wurden, nachgewiesen werden. (21, 22)

Auch Cholesterinsenker wird ein Effekt auf die intestinale Mikrobiota nachgesagt. (23)

Antibiotika stellen wohl einen der bedeutendsten und offensichtlichsten Einflussfaktoren der intestinalen Mikrobiota dar. Da die Wirkung dieser Arzneimittel darauf basiert, Mikroorganismen wie Bakterien und Pilze abzutöten können sie auch zu Störungen des mikrobiellen Gleichgewichtes im Körper führen. Deutlich weniger klar scheint hingegen die Frage nach Ausmaß und insbesondere auch Dauer dieser verursachten Alterationen. (3, 24)

Diese Diplomarbeit zielt unter anderem darauf ab, den Einfluss von Antibiotika auf das intestinale Mikrobiom im Detail zu erörtern, deswegen wird im zweiten Teil dieser Arbeit genauer auf diese Thematik eingegangen.

### **1.1.3.6 Beeinflussung durch Probiotika**

Gemäß der Definition der Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen (FAO) sowie der Weltgesundheitsorganisation (WHO) werden Probiotika als „lebende Mikroorganismen, die in ausreichenden Mengen eine positive Wirkung auf die Gesundheit des Wirtes ausüben“ definiert. (25)

Man kann Probiotika in Form von Rohkost, fermentierten Lebensmitteln oder Milchprodukten zu sich nehmen. Weitere Quellen stellen Arzneimittel und sogenannte „funktionelle Lebensmittel“ dar. Probiotische Zubereitungen können eine oder mehrere ausgewählte Mikrobenstämme enthalten. Probiotika für den humanen Gebrauch enthalten hauptsächlich Mikroorganismen der Bakteriengattungen Bifidobacterium, Lactococcus, Lactobacillus, Streptococcus, Enterococcus, Bacillus und Hefestämme aus der Gattung Saccharomyces. (26)

Probiotika weisen im menschlichen Organismus viele positive Eigenschaften auf. Ihr Hauptnutzen besteht darin, die Entwicklung der im Körper ansässigen Mikrobiota zu beeinflussen, um ein angemessenes Gleichgewicht zwischen pathologischen Mikroorganismen und der physiologischen Standortflora zu erreichen.

Mit Hilfe von molekularbiologischen und genetischen Studien gelang es die Grundlagen der positiven Wirkung von Probiotika und deren Interaktionen mit der Mikrobiota zu identifizieren. Diese umfassen folgende 4 Mechanismen:

- 1.) Antagonismus durch die Produktion von antimikrobiellen Substanzen
- 2.) Konkurrenz mit pathologischen Mikroorganismen um die Adhäsion am Darmepithel und um Nährstoffe
- 3.) Immunmodulation des Wirtes
- 4.) Hemmung der Produktion bakterieller Toxine(26)

Die positive Wirkung der Probiotika wird vor allem zur Wiederherstellung der physiologischen Darmflora nach einer Antibiotikatherapie genutzt.

Darüber hinaus unterstützen sie Verdauungsprozesse und spielen eine Rolle in der Behandlung von Nahrungsmittelallergien. Außerdem können sie die Effizienz des Immunsystems erhöhen und kommen bei der Behandlung gastrointestinaler Krankheiten zum Einsatz. (26)

## **1.2 Funktion der intestinalen Mikrobiota**

Obwohl die Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms innerhalb gesunder Individuen variiert, ist die Funktion, die die Mikroben erfüllen, gut konserviert. (27)

Das intestinale Mikrobiom liefert eine Reihe von vorteilhaften Eigenschaften für den menschlichen Körper. Neben ihrer metabolischen Funktion spielt die intestinale Mikrobiota eine wichtige Rolle beim Erhalt der Darmbarriere und bei der Reifung und Entwicklung des Immunsystems. Eine weitere wichtige Funktion ist das Verhindern der Kolonisation durch pathogene Mikroorganismen unter anderem durch das Konkurrieren um lebensnotwendige Nährstoffe und Adhäsionsstellen am Darmepithel, das Ansäuern des enteralen Milieus und durch eine direkte antimikrobielle Aktivität. (2, 24)

Bakterielle Stoffwechselprodukte beeinflussen zudem das endokrine System und fungieren als Botenstoffe des Nervensystems, wodurch sie sich sowohl auf das enterale Nervensystem als auch auf mentale und psychische Funktionen auswirken können. (3)

### ***1.2.1 Metabolische Funktion***

Der Darm übernimmt die Aufgabe den menschlichen Körper mit essenziellen Nährstoffen und Wasser auszustatten. Die im Darm lebenden Mikroben leisten dabei einen bedeutenden Beitrag zur Versorgung mit Vitaminen und helfen, die Extraktion von Nährstoffen, Mineralstoffen und Spurenelementen aus der Nahrung zu optimieren. Außerdem stellen sie auch selbst wichtige Stoffwechselprodukte her. Die Gesamtheit dieser Stoffwechselprodukte wird als Metabolom bezeichnet. (1, 2)

Darmmikroben ernähren sich hauptsächlich von Kohlenhydraten, die aus der Nahrung stammen. Dickdarmbakterien wie Bacteroides, Bifidobakterium, Roseburia, Faecalibacterium etc. fermentieren Kohlenhydrate, die dem ersten Verdauungsschritt entkommen oder für den Menschen unverdaulich sind, um daraus SCFAs wie Butyrat, Propionat und Acetat herzustellen. Während Acetat von den meisten intestinalen Anaerobiern hergestellt wird, wird Propionat hauptsächlich von Bacteroidetes produziert. Die Butyratproduktion wird von den Firmicutes dominiert. (24)

SCFAs stellen eine wichtige Energiequelle für die Epithelzellen des Dickdarms dar. Außerdem spielen sie eine Rolle bei der Aufrechterhaltung der Glukose- und Energiehomöostase, bei der Regulation von Immunantworten und Entzündungen, bei der Regulation anorektischer Hormone, die Einfluss auf die Appetitkontrolle haben, bei der Unterdrückung der Tumorentstehung und bei der Regulation des zentralen und peripheren Nervensystems. Dabei wirken sie über spezifische Rezeptoren auf unterschiedlichste Zellen des Körpers wie Epithel-, Immun- und Nervenzellen ein. (2, 3, 20)

Butyrat kann zum Beispiel die Differenzierung von regulatorischen T-Zellen bewirken und hat dadurch einen antiinflammatorischen Effekt. Propionat wird in der Leber aufgenommen und für die Gluconeogenese herangezogen, fungiert also als wichtige Energiequelle. Acetat kann wiederum die Blut-Hirn-Schranke überwinden und über zentrale Mechanismen den Appetit zügeln. Butyrat und Acetat haben zudem Einfluss auf den Erhalt der Darmintegrität und damit auf die Barrierefunktion der Mukosa des Darmes. (3)

Über mikrobielle Proteinasen und Peptidasen ist es den intestinalen Mikroorganismen möglich Proteine zu metabolisieren. Die anschließend in die Bakterienzelle aufgenommenen Aminosäuren werden in kleine Signalmoleküle und antimikrobielle Peptide, sogenannte „Bacteriocine“ umgewandelt. Wichtige Beispiele sind dabei die Umwandlung von L-Histidin zu Histamin und die Konvertierung von  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) zu Glutamat. (2, 5)

Darmbakterien sind ebenfalls in der Lage Lipide zu verstoffwechseln. Es konnte außerdem gezeigt werden, dass die intestinale Mikrobiota einen positiven Effekt auf den Fettstoffwechsel hat, indem sie die Hemmung der Lipoprotein-Lipase-Aktivität im Körper unterdrückt. (5, 11)

Intestinale Mikroorganismen sind unabdingbar für die Synthese von essenziellen Vitaminen, die der Körper selbst nicht herstellen kann. Milchsäurebakterien stellen beispielsweise die Schlüsselorganismen bei der Vitamin B12 Produktion dar. Bifidobakterien sind Hauptproduzenten von Folat, einem Vitamin, das unter anderem für die Synthese und Reparatur der DNA benötigt wird. Weitere Vitamine, die von der intestinalen Mikrobiota hergestellt werden, sind Vitamin K, Biotin, Riboflavin, Pantothersäure, Nikotinsäure, Thiamin und Pyridoxin. (24)

Darmmikroben, im speziellen *Bacteroides intestinalis* und bis zu einem gewissen Grad auch *Bacteroides fragilis*, *E.coli* und einige weitere sind außerdem dazu in der Lage primäre Gallensäuren durch Dekonjugation und Dehydratation in sekundäre Gallensäuren umzuwandeln. (5)

Neben der Metabolisierung von Nährstoffen ist das intestinale Mikrobiom auch dazu fähig Medikamente und Xenobiotika zu verstoffwechseln. (5)

## ***1.2.2 Intestinales Mikrobiom und das Immunsystem***

### **1.2.2.1 Entwicklung und Funktion des Immunsystems**

Die Notwendigkeit der Existenz einer gesunden intestinalen Mikrobiota für die Aufrechterhaltung der Homöostase, bringt das Immunsystem in eine herausfordernde Situation, da es Immunreaktionen gegenüber der kommensalen Mikrobiota verhindern muss, gleichzeitig aber auch das Eindringen von pathogenen Mikroorganismen unterbinden soll. (5)

Das mukosale Immunsystem im Darm ist hochspezialisiert; seine Funktionen sind größtenteils unabhängig von dem systemischen Immunsystem und es unterzieht sich großen Veränderungen, nachdem die initiale Kolonisation des Darmes stattgefunden hat. (28)

Das intestinale Mikrobiom stellt zusammen mit Muzinen, Verdauungsenzymen, der Darmperistaltik und der Epithelbarriere den nicht immunologischen Bestandteil der mukosalen Immunität dar. Die enterale Flora ist für die Entwicklung und Reifung des mukosalen Immunsystems unabdingbar. Sterile Mäuse zeigten in Studien beispielsweise eine gestörte Entwicklung des darmassoziierten lymphatischen Gewebes, dem sogenannten GALT und des erworbenen Immunsystems. Während seiner Reifung lernt das Immunsystem unter anderem auch zwischen den kommensalen Bakterien der intestinalen Mikrobiota und pathogenen Bakterien zu unterscheiden. (2, 28)

Über verschiedenste Mikrobiota-assoziierte Stoffwechselprodukte und bestimmte Zellstrukturen, sogenannte Mikroben assoziierte molekulare Muster (MAMPs), kann die intestinale Mikrobiota mit dem angeborenen und adaptiven Immunsystem interagieren.(3) MAMPs können sogenannte Toll-like Rezeptoren (TLRs), welche sich an den Membranen von Epithelzellen und Lymphozyten des Dünndarms befinden, aktivieren. Dadurch kommt es zur gesteigerten, T-Zell vermittelten Produktion von Immunglobulinen durch B-Zellen des Immunsystems. Zudem kommt es zu einer verstärkten Rekrutierung von neutrophilen

Granulozyten, einer erhöhten, gegen Viren gerichteten Immunaktivität, einer verbesserten Phagozytoseleistung und zur Bildung von Zytokinen. TLRs können zwischen Antigenen der intestinalen Mikrobiota und pathogenen Mikroben unterscheiden, wodurch eine immunologische Toleranz gegenüber der kommensalen Mikrobiota aufrechterhalten werden kann.(3, 28)

Zuvor wurde bereits darauf eingegangen, dass die von der intestinalen Mikrobiota produzierten SCFAs immunmodulatorisch wirken. Durch das Binden an G-Protein gekoppelte Rezeptoren (GPCRs) auf Zellen des Epithels und des Immunsystems kommt es zur Aktivierung unterschiedlicher Signalwege, welche die Bildung von Transkriptionsfaktoren, die Zellproliferation, den Erhalt der Darmbarriere und die Herstellung von antimikrobiellen Peptiden und entzündungshemmenden Immundefaktoren steuern. Auf molekularbiologischer Ebene stimulieren sie beispielsweise die Sekretion von Prostaglandin E<sub>2</sub> und die Bildung von IL-10, einem antiinflammatorischen Zytokin, bzw. fördern die Reifung von T-Effektorzellen. Außerdem hemmen die short chain fatty acids TLR-vermittelte Signalkaskaden in dendritischen Zellen und die durch TNF $\alpha$  mediierte Expression von den proinflammatorischen Interleukinen IL-6 und IL-8. Zudem wird die Differenzierung von regulatorischen T-Zellen, die einen dämpfenden Einfluss auf die Immunantwort ausüben, induziert. Eine abnorme Entwicklung der intestinalen Mikrobiota während der Reifung des angeborenen Immunsystems führt zu einer defekten Immuntoleranz, was wiederum die Entstehung von Autoimmunkrankheiten und inflammatorischen Krankheitsbildern begünstigt. Stoffwechselprodukte der Mikroorganismen könnten die chronische Stimulation von Immunantworten fördern, die vor allem nach Mukosaverletzungen zu chronischen, nicht abheilenden Entzündungen und Gewebsschäden führen. (2, 5, 28)

### **1.2.2.2 Antimikrobieller Schutz**

Die enterale Flora spielt eine bedeutende Rolle bei der Abwehr von pathogenen Mikroorganismen. Unter der sogenannten Kolonisationsresistenz versteht man die Resistenz der intestinalen Mikrobiota gegenüber der Besiedelung mit potenziell schädlichen Mikroben. Die intestinale Mikrobiota verfügt über unterschiedliche Verteidigungsstrategien, um den Organismus vor einer Invasion schädlicher Mikroorganismen zu bewahren. Zu den bislang bekannten Mechanismen der Kolonisationsresistenz zählen: die direkte Stimulation des humanen Immunsystems durch

die intestinale Mikrobiota, Mechanismen der enteralen Flora die direkt der Abwehr von Pathogenen dienen, wie die Sekretion bakterizider Substanzen oder das Konkurrieren um Schlüsselsubstrate, sowie die Bekämpfung durch indirekte Mechanismen, wie die Produktion von SCFAs. (1, 3, 9)

Ein Beispiel dafür wie das Immunsystem durch intestinale Mikroben angeregt wird, um vor einer Überwucherung durch pathogene Bakterien zu schützen, ist die Induktion der lokalen Produktion von sekretorischen Immunglobulinen. Als Komponente der ersten Verteidigungslinie gegen pathogene Erreger und toxischen Stoffwechselprodukten spielt sekretorisches IgA (sIgA) eine bedeutende Rolle in der lokalen Immunabwehr. Vor allem gramnegative Bakterien wie *Bacteroides* spp. können durch ihre Antigene (MAMPs) intestinale dendritische Zellen aktivieren, welche wiederum Plasmazellen in der intestinalen Schleimhaut zur Produktion von sIgA anregen. SIgAs tragen zur Aufrechterhaltung der intestinalen Barriere bei. (1,4,16)

Das intestinale Mikrobiom kann auch durch direkte Mechanismen vor der Besiedelung mit Pathogenen schützen. So sind *Lactobacillus* spp. und *E.coli* in der Lage antimikrobielle Stoffe, wie beispielweise Acidolin, Acidophilin oder Colicin zu bilden, die das Wachstum pathogener Mikroben direkt hemmen. (1, 11)

Außerdem wird eine Besiedlung durch Pathogene verhindert, indem Mikroorganismen um das vorhandene Nährstoffangebot und Adhäsionsstellen im Darm konkurrieren. Die Lebensgemeinschaft der Darmbakterien basiert darauf, dass bestimmte Stoffwechselprodukte einer Bakterienspezies wiederum Substrate für eine andere Spezies darstellen. Die Konkurrenz um diese Substrate spielt eine wichtige Rolle bei dem Schutz vor Pathogenen. Zum Beispiel konnte in einer Publikation nachgewiesen werden, dass pathogene *E. coli* Stämme mit *E. coli*-Bakterien der intestinalen Mikrobiota um Substrate konkurrieren. Tierversuche mit Mäusen zeigten überdies, dass durch diese Konkurrenz die Proliferation der pathogenen *E. coli*-Stämme verhindert wurde. (1, 13)

Im Dickdarm sorgt die zweischichtige Schleimschicht für den Schutz gegen Mikroorganismen. Im Dünndarm hingegen spielen antimikrobielle Proteine eine bedeutende Rolle, da die Mukusschicht hier diskontinuierlich ist. Die intestinale Mikrobiota ist dazu in der Lage über SCFAs die Synthese antimikrobieller Proteine (AMPs) wie Defensine, Cathelicidine und C-type Lektine in Panethzellen des Darmes zu induzieren. Die AMPs entfalten ihre Wirkung, indem sie die oberflächliche Struktur

sowohl der kommensalen als auch pathogener Mikroorganismen zerstören und so zum Erhalt der intestinalen Barriere beitragen. (1, 5)

Des Weiteren regulieren SCFAs das Wachstum schädlicher Mikroorganismen, indem sie den Sauerstoff- und Nitratgehalt im Darmlumen begrenzen, das Darmmilieu ansäuern und den pH-Wert innerhalb der Zellen senken.(3)

Ein weiterer entscheidender Mechanismus für den Erhalt der Kolonisationsresistenz ist die Fähigkeit mancher Bakteriengenera und Spezies primäre Gallensäuren in sekundäre umzuwandeln. Dies trägt beispielsweise zur Verhinderung von Infektionen mit *Cl. difficile* bei. (1,3)

### ***1.2.3 Intestinale Mikrobiota und ihr Einfluss auf die Darm-Gehirn-Achse***

Unter dem Begriff Darm-Gehirn-Achse versteht man die bidirektionale Kommunikation zwischen dem Darm und dem Gehirn. Dabei spielt auch die intestinale Mikrobiota eine bedeutende Rolle. Darm, intestinale Mikrobiota und Gehirn interagieren dabei über neuronale Wege, die sowohl das enterische und zentrale Nervensystem als auch das Herz-Kreislaufsystem umfassen. Zu den involvierten Komponenten des Kreislaufsystems zählen unter anderem die Hypothalamus-Hypophysen-Achse, Regulatoren des Immunsystems, Hormone, bakterielle Stoffwechselprodukte wie kurzkettige Fettsäuren und neuronale Botenstoffe. (13, 20)

Unser Wissen über die Vorgänge, durch die die Darmmikrobiota das Gehirn beeinflusst, entwickelt sich stetig weiter. Die intestinale Mikrobiota ist in der Lage sowohl das enterische als auch das zentrale Nervensystem auf mehrere Arten zu steuern:

- Über die Herstellung, die Expression und den Umsatz von neuronalen Botenstoffen und neurotrophischen Faktoren
- Über den Erhalt der Darmbarriere
- Über die Modulation afferenter, sensorischer Bahnen
- Über die Herstellung von bakteriellen Stoffwechselprodukten
- Über die Regulation des mukosalen Immunsystems (13, 20)

Beispielsweise wird die Integrität der Blut-Hirn-Schranke von zirkulierenden kurzkettigen Fettsäuren beeinflusst, indem diese die Synthese bestimmter Tight Junction Proteine verstärken. Die Blut-Hirnschranke wird dadurch undurchlässiger für unerwünschte Stoffwechselprodukte. SCFAs regen unter anderem auch enterochromaffine Zellen zur

Sekretion von Serotonin an. Serotonin kann das sympathische Nervensystem aktivieren und somit Lern- und Gedächtnisvorgänge im Gehirn beeinflussen. (13, 20)

MAMPs der Mikroben können die Produktion von Zytokinen stimulieren. Diese Zytokine können die Blut-Hirnschranke überwinden und dort eine veränderte neurologische Funktion auslösen, die zu einer veränderten Stimmung und einem veränderten Verhalten führen kann.(20)

Studien an Tieren konnten zudem verdeutlichen, dass das Darmmikrobiom Auswirkungen auf nozizeptive Reflexe, Emotionen, soziales Verhalten, Nahrungsaufnahme, Umgang mit Stress und auf die Neurochemie des Gehirns hat.(20)

#### ***1.2.4 Dysbiose und die Entstehung von Krankheiten***

Während das Wechselspiel zwischen dem Menschen und dem intestinalen Mikrobiom von großer Relevanz für das metabolische und immunologische Gleichgewicht des menschlichen Körpers ist, können primäre und sekundäre Störungen dieser Symbiose die Entstehung bzw. das Fortbestehen von verschiedenen Krankheitsbildern fördern. (1)

Durch verschiedenste Einflussfaktoren wird die Komposition des intestinalen Mikrobioms während des gesamten Lebens modifiziert. Das gesunde Mikrobiom des Erwachsenen ist jedoch durch seine Resilienz und seine Resistenz gegenüber Störfaktoren gekennzeichnet und bleibt in der Regel relativ stabil. Führen nun endogene Faktoren oder Umwelteinflüsse zu Veränderungen sowohl der Zusammensetzung als auch der Funktion des intestinalen Mikrobioms, die die Widerstands- und Resilienzfähigkeiten des mikrobiellen Ökosystems übersteigen, so spricht man von einer „Dysbiose“. Allgemeinen kann eine Dysbiose auf drei verschiedene Arten zu Stande kommen.: 1) Verlust nützlicher Organismen, 2) Übermäßiges Wachstum potenziell schädlicher Organismen und 3) Verlust der Gesamtmikrobenvielfalt. Diese Phänomene können auch gleichzeitig auftreten, was sehr häufig beobachtet wird. (3, 27, 29, 30)

Eine Dysbiose ist mit einer Vielzahl von intestinalen (CED oder RDS) und extraintestinalen Krankheitsbildern (Adipositas, Allergien und Asthma) assoziiert. Die ursächlichen Veränderungen, die zur Entstehung dieser Krankheitsbilder führen, werden mittlerweile immer besser verstanden; ausreichende Erklärungen liegen jedoch meist nicht vor. Bislang konnte lediglich für eine begrenzte Anzahl von Krankheiten eine nachgewiesene kausale Rolle der Darmmikrobiota festgestellt werden. (2, 20, 27)

## 2 Material und Methoden

Im Rahmen dieser Diplomarbeit, die auf einer systematischen Literaturrecherche basiert, wurden zur Informationsbeschaffung Fachliteratur im Sinne von Lehrbüchern, wissenschaftliche Artikel und Publikationen in Journals sowie Studien und Reviews verwendet. Unter anderem wurden Datenbanken und Plattformen wie „PubMed“ oder „Google Scholar“ genutzt, um einen systematischen Überblick über das intestinale Mikrobiom und seine Beeinflussung durch Antibiotika zu verschaffen.

Für den Teil der Arbeit, der sich mit häufig zur Anwendung kommenden Antibiotika in Österreich und deren Einfluss auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota des Erwachsenen beschäftigt, wurden folgende Ein- und Ausschlusskriterien gewählt:

**Einschlusskriterien:** Es wurden Studien gewählt, die sich mit der Auswirkung der Wirkstoffe/Wirkstoffkombinationen Amoxicillin/Clavulansäure, Azithromycin und Doxycyclin auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota auseinandersetzen. Da der Einfluss auf das als stabil und resilient geltende Mikrobiom des Erwachsenen analysiert wird, wurden nur Studien miteinbezogen, bei welchen das Alter der Studienteilnehmer\*innen zwischen 18 und 65 Jahren lag und bei denen das Alter aus dem Methodenteil der Arbeiten eindeutig zu eruieren war.

**Ausschlusskriterien:** Es wurden keine Studien miteinbezogen, die sich nur mit der Resistenzentwicklung der besagten Antibiotika beschäftigten. Außerdem wurden Studien exkludiert, welche die Auswirkungen der Antibiotika ausschließlich in Kombination mit einem anderen Antibiotikum, einem Probiotikum oder einem anderen Medikament untersuchten, um verfälschte Ergebnisse so gut wie möglich zu verhindern. Darüber hinaus wurden keine Arbeiten miteinbezogen, in denen die Antibiotika zur Behandlung von gastrointestinalen Infektionen verabreicht wurden.

### **3 Antibiotika & das intestinale Mikrobiom**

Definitionsgemäß sind Antibiotika Wirkstoffe, die den Stoffwechsel von Mikroben hemmen und so die Vermehrung oder das Überleben dieser Mikroorganismen verhindern. Hauptsächlich finden sie in der lokalen oder systemischen Behandlung bakteriell bedingter Infektionen Verwendung. Ursprünglich wurde ein Antibiotikum als Naturstoff beschrieben, der von Mikroorganismen wie Pilzen oder Bakterien hergestellt wird und eine antibakterielle Wirkung aufweist. Heutzutage werden unter diesem Terminus alle antibakteriell wirksamen Arzneimittel, unabhängig von ihrer Herstellungsart, zusammengefasst. (31-33)

Die Entwicklung von Antibiotika wird als eine der größten Errungenschaften der Medizin des 20. Jahrhunderts angesehen. Antibiotika zählen zu den Arzneimittelgruppen, die gegenwärtig am häufigsten verschrieben werden. Sie werden gezielt verabreicht, um bestimmte pathogene Bakterienpopulationen anzugreifen. Obwohl die Wirkung der Antibiotika gegen schädliche Erreger gerichtet sein soll, können sie auch verwandte Mitglieder der Darmflora, die empfindlich auf diese Wirkstoffe reagieren, beeinflussen. Trotz der Tatsache, dass die meisten Antibiotikatherapien mit keinen offensichtlichen Nebenwirkungen einhergehen, können diese Arzneimittel also Störungen der intestinalen Mikrobiota verursachen, die wiederum kurz- und langfristige Folgen für die Gesundheit haben können. (30, 31, 34)

#### **3.1 Grundlagen der Antibiotika**

Antibiotika lassen sich anhand ihrer chemischen Struktur in verschiedene Gruppen einteilen. Zu diesen zählen  $\beta$ -Lactame, Tetracycline, Makrolide, Fluorchinolone, Gyrasehemmer und zahlreiche weitere Substanzklassen. (31)

Hinsichtlich der antibakteriellen Wirkung der einzelnen Antibiotika kann man zwei Wirkmechanismen voneinander unterscheiden: die Bakteriostase und die Bakterizidie. Unter bakteriostatisch wirksamen Antibiotika versteht man Substanzen, die die Vermehrung bzw. das Wachstum der Erreger unterbinden, diese aber nicht abtöten. Dieser Effekt ist umkehrbar. Im Gegensatz dazu führen bakterizide Substanzen zur irreversiblen Zerstörung des Erregers. Der Wirkmechanismus eines Antibiotikums ist zudem von der Konzentration des eingesetzten Wirkstoffes sowie vom Erreger selbst abhängig. (31, 32)

Antibiotika weisen spezielle Zielstrukturen in der Bakterienzelle auf, an denen sie mit dem Mikroorganismus interagieren. Die wichtigsten antibiotischen Effekte betreffen dabei folgende bakterielle Strukturen bzw. Vorgänge in der Bakterienzelle:

- Synthese der Zellwand
- Zytoplasmamembran der Zelle
- Proteinsynthese an den Ribosomen
  - hemmend
  - fehlsteuernd
- Vervielfältigung der DNA
- Herstellung der Folsäure
- Synthese der RNA (32)

Gegen welche Bakterien das Antibiotikum wirksam ist, wird durch das Wirkspektrum definiert. Zeigt ein Wirkstoff gegen viele verschiedenen Bakterienarten, insbesondere gegen grampositive Kokken und gramnegative Stäbchen eine Wirkung, so bezeichnet man diesen als Breitspektrum-Antibiotikum. (31)

## **3.2 Antibiotika-induzierte Mikrobiomalterationen**

### ***3.2.1 Antibiotika-spezifische Effekte auf die taxonomische Zusammensetzung und das Metabolom***

Der Einsatz von Antibiotika kann die gesamte Vielfalt der Darmmikroben reduzieren und dazu führen, dass einige wichtige Taxa verloren gehen. (30)

Antibiotika modifizieren die Zusammensetzung des Mikrobioms in Abhängigkeit von ihrem Wirkspektrum. Die Schwere der Auswirkungen hängt nicht nur von der Antibiotikaklasse ab, sondern wird auch von Faktoren wie Dosierung, Dauer der Exposition und Verabreichungsart (zum Beispiel oral oder intravenös) beeinflusst. Auch gewisse Faktoren, die vom Wirt abhängen wie das Alter, die Beschaffenheit des intestinalen Mikrobioms zum Zeitpunkt der Antibiotikatherapie oder die Lebensweise spielen eine bedeutende Rolle. (3, 34, 35)

Es wurde angenommen, dass das reife intestinale Mikrobiom in Bezug auf die Auswirkungen einer Antibiotikatherapie relativ widerstandsfähig ist und nach vorübergehenden Veränderungen wieder seine ursprüngliche Zusammensetzung annimmt.

Mittlerweile ist jedoch klar geworden, dass Antibiotika auch bei erwachsenen Personen bedeutende Veränderungen im intestinalen Mikrobiom hervorrufen können. Die Wiederherstellung des ursprünglichen Zustandes der intestinalen Mikrobiota ist individuell unterschiedlich und hängt vom Organismus, der Stärke der betroffenen Störung und den veränderten Bakterienpopulationen ab. Dieser Prozess kann bis zu einem Jahr dauern. Es werden aber auch langanhaltendere, antibiotische Effekte auf das intestinale Mikrobiom von Erwachsenen beschrieben. So konnte eine Studie aus Schweden zeigen, dass eine 7-tägige Therapie mit Clindamycin langfristige Auswirkungen auf die menschliche Darmmikrobiota hatte, die bis zu 2 Jahre nach der Behandlung fortbestand. (3, 36, 37). Obwohl die Forschungslage zu dieser Thematik insgesamt noch unvollständig erscheint, ist man sich jedoch darüber einig, dass sowohl eine einmalige als auch wiederholte Einnahmen von Antibiotika in kurz- und oft auch langfristigen Modifikationen der Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota resultieren können.(3)

Letztendlich führt eine antibiotikainduzierte Dysbiose zu bedeutenden Veränderungen auf funktionaler Ebene. Diese Veränderungen betreffen unter anderem die Symbiose zwischen Wirt und Mikrobiota und die Interaktionen zwischen verschiedenen Bakterienarten. Eine veränderte Zusammensetzung des Darmmikrobioms geht mit einer Modifikation des Mikroorganismen-Stoffwechsels einher, was wiederum zu einer veränderten Verfügbarkeit von bakteriellen Stoffwechselprodukten führt.(1, 38)

### **3.2.1.1 Verlust der Kolonisationsresistenz**

Eine der vielen Aufgaben der gesunden intestinalen Mikrobiota ist es den Darm vor einer Besiedelung mit pathogenen Mikroben zu schützen. Wird die intestinale Mikrobiota durch Antibiotika geschädigt, kann die Kolonisationsresistenz abgeschwächt werden, was eine Überwucherung mit pathogenen Mikroorganismen begünstigt. (3, 38)

In Kapitel 1.2.2.2 wurde erläutert, wie wichtig die Produktion von SCFAs für den Erhalt der Kolonisationsresistenz ist. Kommt es beispielsweise durch einen Verlust an obligat anaeroben Fettsäureproduzenten wie Firmicutes und Bacteroidetes zu einer verminderten Fettsäureproduktion, kann dies in einer Erhöhung des Sauerstoffgehaltes resultieren, wodurch eine Kolonisation mit  $O_2$ -toleranten Pathobionten gefördert wird. (3)

Es gibt jedoch auch weitere Beispiele dafür, wie ein verändertes Metabolom die Kolonisationsresistenz beeinflussen kann. Unter anderem setzt das postantibiotische

Mikrobiom Kohlenhydrate der Schleimhaut wie Fukose und Sialinsäure frei. Ein erhöhtes Level dieser Polysaccharide begünstigt das Wachstum von opportunistischen Pathogenen wie *Cl. difficile* und enterohämorrhagischer *E.coli*-Stämme. (39)

Durch eine Antibiotikatherapie können auch bestimmte Bakterienarten eliminiert werden, die normalerweise sekundäre Gallensäuren herstellen. Diese sorgen bspw. dafür, dass das Bakterium *Cl. difficile* keine Sporen ausbilden kann und die Produktion von Toxinen reduziert wird. Dadurch wird die Vermehrung des Bakteriums eingebremst. (3)

Insgesamt lässt sich festhalten, dass ein verändertes Metabolom also zur Ausbildung neuer ökologischer Nischen beiträgt. Allerdings kann die Kolonisationsresistenz auch auf indirekte Weise beeinträchtigt werden, indem eine Dysregulation des Immunsystems durch die Darmmikroben erfolgt.(3)

### **3.2.1.2 Modulation des Immunsystems, des Metabolismus und des Nervensystems**

Antibiotika beeinflussen die Wechselwirkung zwischen dem Darmmikrobiom und dem Organismus sowie die Regulation wichtiger physiologischer Abläufe. Eine Behandlung mit Antibiotika kann bspw. indirekt über die Modulation der Mikrobiota auf das angeborene und erworbene Immunsystem einwirken. Aufgrund der veränderten Zusammensetzung der Darmmikrobiota gehen nicht nur Mikroorganismen verloren, die die pathogenen Keime verdrängen, sondern es ergibt sich auch eine veränderte Vielfalt an MAMPs, die den Immun- und Epithelzellen präsentiert werden. Dies führt zu einer veränderten Aktivierung von Rezeptoren wie den TLRs und somit zu veränderten Abläufen verschiedener Immunvorgänge wie der Reifung des lymphatischen Gewebes, der Beeinflussung neutrophiler Granulozyten, der Differenzierung von T-Zellen, der Produktion antimikrobieller Proteine und der Freisetzung von Zytokinen. (3, 40)

Durch die Alterierung dieser Prozesse kann die Fähigkeit des Immunsystems, schädliche Erreger zu bekämpfen, beeinträchtigt sein. Zudem kann dadurch womöglich die Entwicklung atopischer, autoimmunologischer und inflammatorischer Krankheitsbilder gefördert werden. (3, 40)

Die Darmmikrobiota hat eine bedeutsame Funktion bei der Steuerung des Wirtsmetabolismus, insbesondere in Bezug auf die Aufrechterhaltung der Energiehomöostase. Störungen im Mikrobiom, die Entzündungen begünstigen und durch

Einflüsse wie Antibiotika verursacht werden können, spielen höchstwahrscheinlich eine Rolle bei der Entstehung von metabolischen Krankheiten wie Fettleibigkeit und Typ-2-Diabetes. (40)

Kurzkettige Fettsäuren spielen eine entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung der physiologischen Stoffwechselfunktion, da sie die Fettspeicherung regulieren und die Insulinsynthese fördern. Veränderungen in der Produktion von SCFAs können zu Störungen dieser Prozesse beitragen. Sekundäre Gallensäuren tragen unter anderem zur Kontrolle des Glukosestoffwechsels bei. In diesem Zusammenhang wurde beobachtet, dass eine durch Antibiotika-verursachte Dysbiose den Stoffwechsel der Gallensäuren und die Empfindlichkeit gegenüber Insulin im menschlichen Körper verändert.(40)

Darüber hinaus kann eine unangemessene Antibiotikatherapie womöglich das Risiko für die Entwicklung neurologischer und psychiatrischer Erkrankungen beeinflussen. Es gibt eine zunehmende Anzahl an Hinweisen darauf, dass die Darmmikrobiota eine Rolle bei der Regulation der HPA-Achse spielt, die mit verschiedenen psychiatrischen Störungen in Verbindung gebracht wird. Angesichts der wechselseitigen Kommunikation zwischen dem Darmmikrobiom und der HPA-Achse ist es wenig überraschend, dass Antibiotika die Aktivität der HPA-Achse beeinflussen und möglicherweise stressbedingte Störungen auslösen können. Veränderungen in der Produktion von Neurotransmittern, neurotrophen Faktoren und kurzkettigen Fettsäuren (SCFAs), die durch eine Antibiotika-verursachte Dysbiose zu Stande kommen, könnten möglicherweise einen Beitrag zur Entstehung psychischer Störungen leisten.(41, 42)

### **3.2.1.3 Resistenzentwicklung**

Unter dem Begriff Antibiotikaresistenz versteht man die Fähigkeit einer Bakterienspezies Antibiotikakonzentrationen stand zu halten, die normalerweise das Wachstum oder die Lebensfähigkeit anderer Bakterien derselben Art beeinträchtigen oder zerstören würden. (30)

Bakterien haben eine Reihe von Mechanismen entwickelt, um sich vor der Wirkung der Antibiotika zu schützen. Dazu zählen das Verhindern der Aufnahme der Antibiotika durch die Zellmembranen, die Entwicklung enzymatischer Prozesse, die das Antibiotikum verändern oder abbauen, das Modifizieren der Angriffspunkte der Antibiotika und das aktive Ausschleusen des Antibiotikums aus der Zelle mit Hilfe von speziellen

Membranproteinen. Resistenz kann auf Grund der Veränderlichkeit des Bakteriengenoms spontan auftreten oder durch den Austausch von genetischem Material innerhalb der Bakterienpopulationen entstehen. Dieser Austausch findet über horizontale Übertragungswege wie Konjugation, Phagentransduktion oder natürlicher Transformation statt. (30, 43)

Das menschliche intestinale Mikrobiom verfügt über ein bedeutendes Reservoir an Antibiotikaresistenzen. Daraus lässt sich schließen, dass im Darm ein reger horizontaler Gentransfer und eine rege Verbreitung von Antibiotikaresistenzgenen stattfinden, was in Anbetracht der enormen Dichte und Vielfalt an Spezies nicht verwunderlich erscheint.(40) Durch den Gebrauch von Antibiotika kommt es zu einem noch intensiveren Transfer und einer Zunahme von Antibiotikaresistenzgenen, wodurch die Selektion und Vermehrung von antibiotikaresistenten Mikroorganismen gefördert und angesichts einer beeinträchtigten Kolonisationsresistenz auch das Wachstum antibiotikaresistenter pathogener Bakterien intensiviert wird. (43)

### **3.3 Ausgewählte Antibiotika und ihr Einfluss auf das intestinale Mikrobiom**

Das Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz veröffentlicht jährlich den österreichischen Resistenzbericht AURES. Dieser beschäftigt sich mit der aktuellen Resistenzlage und gibt unter anderem auch Auskunft über den Antibiotikaverbrauch in der Humanmedizin in Österreich. Für die Erfassung des jährlichen Verbrauches an Antibiotika im niedergelassenen und stationären Bereich werden dabei Daten der Firma IQVIA™ herangezogen. (44)

Im AURES wird die WHO ATC-Klassifikation verwendet, um die Antibiotika zu kategorisieren. Jedes Arzneimittel, das weltweit verfügbar ist, wird einer ATC-Klasse zugeordnet, die durch eine klare Kombination von Buchstaben und Zahlen charakterisiert ist. Die ATC-Klassifikation gliedert sich in fünf Stufen: ATC1 bis ATC5. Die Kombination J01 bezeichnet alle systemisch angewandten Antibiotika und ist mit der ATC-2 Klasse gleichzusetzen. Die ATC3-Klasse beinhaltet sämtliche chemische Subgruppen der ATC2-Gruppe. Die ATC4-Klasse wiederum bezieht sich auf die pharmakologischen Subgruppen der Antibiotika, die innerhalb der entsprechenden ATC3-Klasse aufgelistet werden. Die ATC5-Ebene kennzeichnet den Wirkstoff.(44)

Laut dem AURES-Bericht und den zur Verfügung gestellten Daten von IQVIA™ konnte für das Jahr 2021 der höchste Gesamtverbrauch (niedergelassener und stationärer Bereich) bei den  $\beta$ -Lactam-Antibiotika, Penicilline (J01C) verzeichnet werden. An zweiter Stelle folgte die Gruppe der Makrolide, Lincosamide und Streptogramine (J01F). Den drittgrößten Verbrauch wiesen die Tetracycline (J01A) auf.(44)

Auf ATC-4 Ebene, stellten die Penicilline inklusive  $\beta$ -Lactamase-Inhibitoren (J01CR) den größten Anteil der verbrauchten  $\beta$ -Lactam-Antibiotika, Penicilline (J01C) dar. Der Hauptanteil des Verbrauches der Makrolide, Lincosamide und Streptogramine (J01F) entfiel auf die Makrolide (J01FA). Bei den Tetracyclinen(J01A) existiert keine weitere Einteilung in Subgruppen auf der ATC-4 Ebene, die Klassifikation bezeichnet sie auf dieser Ebene demnach als Tetracycline (J01AA). (44)

Im folgenden Abschnitt der Arbeit wird nun jeweils ein wichtiger und häufig eingesetzter Vertreter (Wirkstoff; ATC-5 Ebene) der Penicilline inklusive  $\beta$ -Lactamase-Inhibitoren, der Makrolide und der Tetracycline vorgestellt. Es wird auf pharmakologische Aspekte dieser Wirkstoffe/Wirkstoffkombinationen eingegangen und im Speziellen deren spezifische Auswirkungen auf die Zusammensetzung des adulten intestinalen Mikrobioms erörtert.

### ***3.3.1 Amoxicillin/Clavulansäure***

Amoxicillin ist ein Penicillin und gehört damit zur Wirkstoffgruppe der  $\beta$ -Lactam-Antibiotika. Charakteristisch für diese Antibiotikagruppe ist der  $\beta$ -Lactam-Ring, der für ihre antibakterielle Wirkung verantwortlich ist. Die Vertreter der Penicilline werden entweder durch biologische Prozesse aus Pilzen gewonnen oder mithilfe von halbsynthetischen Verfahren hergestellt. Aufgrund ihrer variierenden Eigenschaften lassen sich die Penicilline in verschiedene Gruppen einteilen. Dazu gehören Penicillin G (Benzylpenicillin) und seine direkten Derivate (Oral- und Depotpenicilline), Isoxazolylpenicilline, Aminopenicilline und Acylaminopenicilline. Der Wirkstoff Amoxicillin gehört dabei zu den Aminopenicillinen, welche zu den Breitspektrumpenicillinen zählen. (31, 32)

Amoxicillin kann in fixer Kombination mit Clavulansäure verabreicht werden.

Clavulansäure agiert als sogenannter  $\beta$ -Lactamase-Inhibitor. Das Kombinieren von  $\beta$ -

Lactamase-labilen Penicillinen wie Amoxicillin mit  $\beta$ -Lactamase-Inhibitoren ermöglicht eine Erweiterung des Wirkungsspektrums dieser Antibiotikagruppe. (31, 32)

### **3.3.1.1 Wirkmechanismus**

$\beta$ -Laktam-Antibiotika intervenieren im Syntheseprozess der Zellwand von Bakterien. Ihre Wirkungsweise basiert auf der dauerhaften Blockade bakterieller Peptidoglykansynthetasen. Diese Enzyme fungieren als Transpeptidasen, die Glykanstränge durch kurze Proteinverbindungen miteinander verknüpfen, wodurch das Gerüst des Peptidoglykans in der Zellwand aufgebaut und stabilisiert wird.  $\beta$ -Laktam-Antibiotika wirken bakterizid. Da die Zellwandsynthese ausschließlich bei sich teilenden Bakterien stattfindet, kommt es allerdings nur bei diesen zur Bakteriolyse. (31, 32)

$\beta$ -Lactamase-Inhibitoren hingegen entfalten nur eine begrenzt antibiotische Wirkung und agieren hauptsächlich durch die unumkehrbare Blockade spezifischer  $\beta$ -Lactamasen.  $\beta$ -Lactamasen sind dazu in der Lage, den antibakteriellen Effekt der  $\beta$ -Laktam-Antibiotika durch Öffnung des charakteristischen Ringes zu neutralisieren. (31, 32)

### **3.3.1.2 Wirkspektrum**

Aminopenicilline wie Amoxicillin zeigen eine ähnliche Wirkung wie das klassische Benzylpenicillin, das gegen grampositive Stäbchen (aerobe wie *Cl. tetani* und anaerobe wie Diphtheriebakterien), grampositive Kokken (bspw. Streptokokken), gramnegative Kokken (wie Meningokokken) und Spirochäten (z.B. *Borrelia burgdorferi* und *Treponema pallidum*) wirkt. Aufgrund ihres erweiterten Wirkspektrums haben Aminopenicilline zusätzlich Einfluss auf gramnegative Stäbchen wie *E. coli*, *Haemophilus influenzae* und *Proteus mirabilis*, sowie weitere grampositive Erreger (bspw. Enterokokken und Listerien). Bakterien, die  $\beta$ -Lactamasen produzieren, sind resistent gegenüber Aminopenicillinen. Durch die Kombination mit einem  $\beta$ -Lactamase-Inhibitor wie Clavulansäure kann jedoch das Wirkungsspektrum der Aminopenicilline zusätzlich erweitert werden. Dadurch wird es möglich, Amoxicillin beispielsweise gegen Amoxicillin-resistente Staphylococcus- und Haemophilus-Stämme einzusetzen. (31, 32, 45)

### **3.3.1.3 Pharmakokinetik**

Amoxicillin gilt als säurebeständiges Antibiotikum, was bedeutet, dass es oral eingenommen werden kann. Zusätzlich ist eine intravenöse Verabreichung möglich. Penicilline, die oral eingenommen werden können, sind im Darm gut resorbierbar. Für Amoxicillin beträgt die Resorptionsrate ungefähr 70-80%. Die Verteilung der Penicilline im Gewebe ist effizient. Mit Ausnahme von Knochen, Muskeln und der Cerebrospinalflüssigkeit können wirksame Konzentrationen in den meisten Organen und Körperflüssigkeiten erreicht werden. Die Halbwertszeit von Amoxicillin beträgt etwa eine Stunde. Die Ausscheidung erfolgt hauptsächlich über die Nieren in unmetabolisierter Form. Zu einem kleinen Teil erfolgt die Ausscheidung auch über die Galle und die Fäces. (31, 32)

Die Pharmakokinetik der Clavulansäure ähnelt der von Amoxicillin. Nach oraler Einnahme wird sie gut absorbiert. Ihre Halbwertszeit im Blutplasma beträgt eine Stunde. Clavulansäure wird sowohl in unveränderter Form als auch in veränderter Form über die Nieren ausgeschieden. Die Ausscheidung über die Galle ist geringfügig. (32)

### **3.3.1.4 Indikationen und Dosierungen**

Amoxicillin/Clavulansäure kommt bspw. bei Infektionen des Respirationstraktes oder Weichteilinfektionen zum Einsatz. Bei oraler Applikation werden zweimal täglich 875/125mg Amoxicillin/Clavulansäure verabreicht. Bei intravenöser Gabe erfolgt die Verabreichung dreimal täglich mit 1000/200mg Amoxicillin/Clavulansäure. (32)

### **3.3.1.5 Auswirkungen auf die Zusammensetzung des Mikrobioms**

Sechs Studien haben die Auswirkungen von Amoxicillin in Kombination mit Clavulansäure auf die Zusammensetzung des Darmmikrobioms untersucht. Diese sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

**Tabelle 1:** Studien, die sich mit den Auswirkungen von Amoxicillin/Clavulansäure auf die Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms des Erwachsenen beschäftigen

| Autor*innen          | Land, Studiendesign          | Stichprobe  | Untersuchtes Antibiotikum, Darreichungsform, Dosis, Dauer   | Verfahren, Stuhlprobe, Nachbeobachtung                     | Einbeziehen der Ernährung/Medikation  |
|----------------------|------------------------------|---|---|--|---|
| Kabbani et al. (46)  | USA, RCT                     | N=49, gesunde Frauen und Männer, Alter: 18-51, Ethnizität berücksichtigt  | Amoxicillin/Clavulansäure, p.o., 875/125mg, 2x tgl., 7 Tage | 16-rRNA-Sequenzierung, 7 Proben, 14 Tage                   | Ernährung, Medikation inkl. Probiotika, Antibiotika-administration während Studie bzw. vor Studienbeginn berücksichtigt |
| Forssten et al. (47) | Finnland, RCT                | N= 80, gesunde Frauen und Männer, Alter: 18-50, Ethnizität berücksichtigt | Amoxicillin/Clavulansäure, p.o., 875/125mg, 1x tgl., 7 Tage | qPCR, für spezielle mikrobielle Gruppen, 4 Proben, 14 Tage | Ernährung, Medikation inkl. Probiotika, Antibiotika-administration während Studie und vor Studienbeginn berücksichtigt  |
| Mangin et al. (48)   | Frankreich, Klinische Studie | N=18, gesunde Männer, Alter: 19-36  | Amoxicillin/Clavulansäure, p.o., 875/125mg, 2x tgl., 5 Tage | PCR TTGE, 10 Proben, 8 Wochen                              | Medikation, Antibiotika-administration während Studie bzw. vor Studienbeginn berücksichtigt                             |
| Young et al. (49)    | USA, Fallbericht             | N=1 39-jähriger Patient mit akuter Sinusitis                              | Amoxicillin/Clavulansäure p.o, 875/125mg, 2x tgl. 10 Tage   | 16-rRNA-Sequenzierung, 3 Proben, 2 Wochen                  | Medikation, Antibiotika-administration während Studie bzw. vor Studienbeginn berücksichtigt                             |

|                               |                  |  |   |  |   |
|-------------------------------|------------------|--|---|--|---|
| <b>Macpherson et al. (50)</b> | Kanada, RCT      | N=70, gesunde Frauen und Männer, Alter: 18-50, Ethnizität berücksichtigt | Amoxicillin/Clavulansäure, p.o., 875/125mg, 1x tgl., 7 Tage | Shotgun-Metagenom-Sequenzierung, 4 Proben, 2 Wochen                                | Ernährung, Medikation inkl. Probiotika, Antibiotika-administration während Studie bzw. vor Studienbeginn berücksichtigt |
| <b>Lode et al. (51)</b>       | Deutschland, RCT | N=12, gesunde Frauen und Männer, Alter: 18-40                            | Amoxicillin/Clavulansäure, p.o., 875/125mg, 1x tgl., 7 Tage | Kultur auf selektivem Agar mit Identifikation auf Gattungsebene, 7 Proben, 14 Tage | Antibiotika-administration während Studie bzw. vor Studienbeginn berücksichtigt   |

Kabbani et al. untersuchten die Auswirkungen des Probiotikums *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 (SB), des Antibiotikums Amoxicillin/Clavulansäure bzw. eine Kombination aus beiden auf das intestinale Mikrobiom gesunder Proband\*innen. Ein Arm der Studie nahm dabei ausschließlich das Antibiotikum ein. Dieser bekam sieben Tage lang zweimal täglich 875/125mg Amoxicillin/Clavulansäure verabreicht.

Die mit Antibiotika behandelten Gruppen zeigten eine signifikant reduzierte bakterielle Diversität im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen, wobei die deutlichste Veränderung in der Antibiotikagruppe (ohne SB) detektiert wurde. Während und nach der Antibiotikaadministration waren in der Antibiotikagruppe die Genera *Escherichia*, *Parabacteroides* und *Enterobacter* statistisch deutlich erhöht. Im Gegensatz dazu, verringerte sich die Prävalenz von *Roseburia* spp. durch die Antibiotikatherapie. Die Antibiotika-induzierten Alterationen der intestinalen Mikrobiota zeigten sich auch zwei Wochen nach Therapieende (am Ende des Beobachtungszeitraumes) noch nicht vollständig rückgebildet. (46)

In einer randomisierten, doppelblinden Studie analysierten Forssten et al. die Auswirkungen eines Probiotika-Konsums auf Antibiotika-induzierte Störungen der Darmmikrobiota. 80 gesunde Proband\*innen nahmen täglich von Tag 1 bis Tag 7 Amoxicillin/Clavulansäure(875/125mg) ein. Zusätzlich wurde ihnen von Tag 1 bis Tag 14

entweder ein Placebo oder ein Probiotikum verabreicht.

In der Gruppe, die ausschließlich Amoxicillin/Clavulansäure erhalten hatte (Placebogruppe), konnte nach einer Woche eine Reduktion der Gesamtbakterienzahl und eine Verringerung der Bakterien des Clostridium-Clusters XIV im Vergleich zum Ausgangswert festgestellt werden. Außerdem waren Lactobacillus spp. und Bifidobacterium lactis im Vergleich zum Ausgangswert erniedrigt. Die Anzahl an Enterobacteriaceae war hingegen signifikant erhöht.

Eine Woche nach Beenden der Antibiotikatherapie konnten in der Placebogruppe sowohl für das Clostridium-Cluster XIV als auch für Lactobacillus spp. und B. lactis weiterhin Werte unter der Baseline festgestellt werden. Am Ende des Beobachtungszeitraumes zeigten sich das Clostridium-Cluster XIV und der B. lactis Spiegel noch immer reduziert. Zusätzlich zu den Veränderungen in der Zusammensetzung der Darmmikrobiota, konnten Beobachtungen bezüglich erworbener Antibiotikaresistenzen gemacht werden. Während vor der Therapie ausschließlich bei einem Probanden eine  $\beta$ -Lactam-Resistenz feststellbar war, wiesen nach der Antibiotikatherapie 14 Proband\*innen in der Placebogruppe eine  $\beta$ -Lactam-Resistenz auf. (47)

Mangin et al. überprüften den Einfluss von Amoxicillin/Clavulansäure auf die Gesamtbakterienzahl und im Speziellen auf die Anzahl der Bifidobakterien des Darmmikrobioms. Gesunden Männern wurde fünf Tage lang Amoxicillin/Clavulansäure (875/125mg zweimal täglich) verabreicht. Am Ende der Antibiotikaexposition (Tag 5) zeigte sich die Gesamtbakterien- und die Bifidobakterienkonzentration im Vergleich zur Baseline signifikant reduziert.

Mit Hilfe der TTGE konnte nachgewiesen werden, dass das Mikrobiom signifikante Unterschiede zum Ausgangszustand aufwies. Im Speziellen konnte ein Anstieg an E. coli sowie eine Abnahme an Enterococcus faecium und bestimmten Bifidobakterien detektiert werden. Obwohl sich die Gesamtbakterienanzahl und die Anzahl an Bifidobakterien an Tag 8 wieder erholt hatte, konnte beobachtet werden, dass Amoxicillin/Clavulansäure einen Einfluss auf die Spezieszusammensetzung der Darmmikrobiota hat und eine geringere Diversität der Bifidobakterienpopulation verursacht. Zwei Monate nach der Antibiotikaexposition wies die Gesamtheit der Darmmikrobiota noch immer deutliche Unterschiede zur Baseline auf. Bei den meisten Studienteilnehmer\*innen konnte die ursprüngliche Diversität der Bifidobakterienpopulation nicht wiedererlangt werden. (48)

Young et al. beschäftigten sich mit den kurzfristigen Auswirkungen von Amoxicillin/Clavulansäure auf die Darmflora eines männlichen Patienten. Der Proband bekam das Antibiotikum auf Grund einer akuten Sinusitis verschrieben und nahm zehn Tage lang zweimal täglich 875/125mg ein.

Vier Tage nach Beginn der Antibiotikatherapie konnte eine deutliche Veränderung in der Repräsentation der vorherrschenden Bakteriengruppen der Darmmikrobiota festgestellt werden. *Bacteroides* spp. machten weiterhin einen Großteil der Darmflora aus. Während jedoch am Tag 0 die *B. fragilis*-Spezies überwog, dominierte am Tag 4 *Bacteroides distasonis*. Auffällig war, dass am Tag 4 keine korrespondierenden Sequenzen für das Clostridium-Cluster XIVa oder für *Bifidobacterium* spp. nachgewiesen werden konnten, obwohl diese beiden Gruppen ein Drittel der Sequenzen aus der Tag-0-Probe darstellten. Im Gegensatz dazu konnten 34% der am Tag 4 nachgewiesenen Sequenzen der Familie der Enterobacteriaceae zugeordnet werden, die am Tag 0 nur 2% der Gesamtsequenzen darstellten. Zwei Wochen nach Therapieende konnte man eine partielle Erholung des Mikrobioms erkennen. *B. fragilis* stellte erneut die prädominante *Bacteroides*-Spezies dar und es konnten wieder Bakterien des Clostridium Clusters XIVa nachgewiesen werden. Am Tag 24 konnten keine Enterobacteriaceae Stämme mehr detektiert werden. Interessanterweise kehrten *Bifidobacterium* spp. bis zum letzten Beobachtungstag nicht zurück. (49)

Eine Forschungsarbeit konnte demonstrieren, dass sich die Darmmikrobiota gesunder Erwachsener nach kurzzeitiger Behandlung mit Amoxicillin/Clavulansäure schnell wieder erholt.

Stuhlproben von 70 gesunden Teilnehmer\*innen wurden analysiert. Während eines Zeitraums von sieben aufeinanderfolgenden Tagen erhielten alle Teilnehmer\*innen täglich eine Dosis Amoxicillin/Clavulansäure (875/125mg). Gleichzeitig nahm eine Hälfte der Proband\*innen ein Probiotikum ein, während der anderen Hälfte ein Placebo verabreicht wurde. In beiden Gruppen zeigten sich signifikante Veränderungen in der Zusammensetzung der Darmmikrobiota, welche auf die Antibiotikagabe zurückzuführen waren. Die Zahl an Lachnospiraceae, Coriobacteriaceae und Clostridiales nahm ab, wohingegen es zu einer deutlichen Zunahme von Enterobacteriaceae, Bacteroidaceae und Porphyromonadaceae kam. Im Vergleich zu den Ausgangswerten konnte man im Resistom der Proband\*innen eine entsprechende Anreicherung von Antibiotikaresistenzgenen beobachten. In Bezug auf die Auswirkungen des Probiotikums auf die antimikrobielle

Behandlung ergaben die Analysen keine wesentlichen Veränderungen in der Zusammensetzung der Mikrobiota verglichen mit der Placebogruppe. Obwohl die kurzzeitige Antibiotikabehandlung zu Perturbationen des intestinalen Milieus führte, kehrten sowohl Darmmikrobiota als auch Resistom innerhalb einer Woche in den ursprünglichen Zustand zurück. Die Autor\*innen verdeutlichten, dass diese rasche Erholung womöglich durch die Hypothese der Gemeinschaftsresilienz erklärt werden könnte. (50)

Eine Arbeit von Lode et. verglich den Einfluss von Linezolid und Amoxicillin/Clavulansäure auf das gesunde intestinale Mikrobiom. Jeder Proband nahm zuerst sieben Tage lang Linezolid (600mg zweimal täglich) oder Amoxicillin/Clavulansäure (1000mg 1-mal täglich) ein. Es folgte eine vierwöchige „wash-out“-Periode, nach der sich die Mikrobiota laut Autor\*innen wieder normalisiert hätte. Im Anschluss nahm jede/r Teilnehmer\*in sieben Tage lang das jeweilige andere Antibiotikum in derselben Dosierung wie die Gruppe zuvor ein. Amoxicillin/Clavulansäure war während der Behandlungszeit mit einer erhöhten Anzahl an Enterokokken und *E. coli* assoziiert. In der anaeroben Mikrobenflora kam es zu einer signifikanten Reduktion der Bifidobakterien, Laktobazillen, und Clostridien. Bei drei Proband\*innen konnten Toxin-produzierende *Cl. difficile* Stämme isoliert werden. Bei diesen Betroffenen konnten außerdem Amoxicillin/Clavulansäure resistente Enterobakterien wie *E. coli*, Klebsiellen und Enterobacter-Spezies vor, während oder nach dem Behandlungszeitraum nachgewiesen werden. 28 Tage nach Therapieende hatte sich die intestinale Mikrobiota der Proband\*innen wieder regeneriert. (51)

Zusammengefasst führt eine Therapie mit Amoxicillin/Clavulansäure zu deutlichen Veränderungen in der Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota und zu einer verringerten Diversität der Darmbakterien. Mehrere Forschungsarbeiten berichteten von einer Abnahme an *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. und Vertreter der Clostridiales. Im Gegensatz dazu wurde in allen Studien ein Anstieg der Enterobacteriaceae beobachtet. In einer Arbeit konnte eine Besiedelung mit toxinbildendem *Cl. difficile* nachgewiesen werden. Zwei Publikationen informierten über eine Resistenzbildung. Obwohl zwei Autor\*innen über eine vollständige Normalisierung der Darmmikrobiota berichteten, fiel in den meisten Studien auf, dass sich die intestinale Mikrobiota bis zum Ende des

Beobachtungszeitraumes nicht vollständig erholen konnte. Der längste beobachtete Zeitraum betrug dabei zwei Monate. (48)

### **3.3.2 Azithromycin**

Azithromycin gehört zur Gruppe der neuen, synthetisch erzeugten Makrolide, welche chemisch veränderte, stabilere Strukturderivate des Erythromcyins A darstellen. Im Vergleich zu anderen neuen Makroliden, bei denen Modifikationen an den Kohlenstoffatomen des charakteristischen Lacton-Ringsystems vorgenommen werden, verfügt Azithromycin über eine zusätzliche N-Methylaminomethylen-Gruppe, die die Bildung eines Ketals bei niedrigem pH-Wert inhibiert. (31, 32)

#### **3.3.2.1 Wirkmechanismus**

Makrolidantibiotika greifen in die Proteinsynthese der Bakterienzelle ein. Sie beeinflussen die reversible Bindung an die 50S-Untereinheit der bakteriellen Ribosomen, wodurch die Proteinherstellung in der Phase der Elongation gestoppt wird. Durch das Blockieren eines Kanals, der bei der Translokation der Peptidkette eine Rolle spielt, kann das an die tRNA gebundene Peptid nicht mehr von der Akzeptor- zur Donorstelle transportiert werden. Zudem kann es durch das Blockieren des Kanals zum vorzeitigen Peptidkettenabbruch kommen. (31)

#### **3.3.2.2 Wirkspektrum**

Makrolide entfalten vorrangig eine bakteriostatische Wirkung gegenüber Bakterien. Diese Substanzen beeinflussen verschiedene Erreger, darunter aerobe (beispielsweise Streptokokken) und anaerobe grampositive Erreger (Propionibakterien oder Bacillus anthracis) aber auch manche gramnegative Bakterien (wie Legionellen, Chlamydien, Mykoplasmen) und intrazelluläre Keime. Dies ist möglich, da Makrolide die Fähigkeit besitzen in Makrophagen einzudringen. Des Weiteren haben sie auch einen mäßigen Effekt auf das Protozoon Toxoplasma gondii. Verglichen mit anderen Makroliden ist Azithromycin wesentlich wirksamer gegen den Erreger Hämophilus influenzae. Es ist jedoch anzumerken, dass die Wirkung bei Pneumokokkeninfektionen vergleichsweise schwächer ausfällt. Unter erhöhten Wirkstoffkonzentrationen kann Azithromycin teilweise auch eine bakterizide Wirkung entfalten.(31, 32)

### **3.3.2.3 Pharmakokinetik**

Azithromycin kann sowohl oral als auch intravenös verabreicht werden. Die Bioverfügbarkeit von Makroliden im Körper kann variieren, da ihre Aufnahme langsam und gelegentlich unvollständig ist, wobei auch die Nahrungsaufnahme den Verlauf der Absorption beeinflussen kann. Die gemessenen Plasmakonzentrationen von Azithromycin sind niedrig. Durch das alkalische Stickstoffatom in seiner Struktur kann Azithromycin in hohen Mengen im Gewebe angereichert werden und eine noch effektivere Penetration in Makrophagen aufweisen als andere Makrolide. Dank dieser guten Gewebegängigkeit ermöglicht eine dreitägige Azithromycintherapie eine Wirkung, die normalerweise eine zweiwöchige Therapie erfordern würde. Eine auffallende Eigenschaft von Azithromycin ist seine außergewöhnlich lange Halbwertszeit im Plasma, die etwa 40 Stunden beträgt. Im Vergleich zum verwandten Erythromycin zeigt Azithromycin verbesserte Stabilität gegenüber Säure und eine bessere Verfügbarkeit im Körper. Es dringt nur begrenzt in die Gehirn-Rückenmarks-Flüssigkeit ein, ist jedoch in der Lage, die Plazentaschranke zu überwinden und kann in hohen Konzentrationen in der Muttermilch nachgewiesen werden. Nach seiner Verstoffwechslung in der Leber wird Azithromycin, wie auch andere Makrolidantibiotika, hauptsächlich über die Gallenflüssigkeit ausgeschieden. (32, 45)

### **3.3.2.4 Indikationen und Dosierungen**

Makrolide werden oft an Stelle von Penicillinen und Tetracyclinen eingesetzt. Makrolide haben eine umfassende Palette an therapeutischen Anwendungsmöglichkeiten. Unter anderem findet Azithromycin bei Infektionen des Respirationstraktes Verwendung. Darüber hinaus wird dieses Medikament bei Infektionen mit Chlamydien und der Legionärskrankheit verwendet. Beim Erwachsenen wird Azithromycin für die meisten Krankheitsbilder mit 500 mg 1-mal täglich dosiert. Der Wirkstoff muss auf Grund seiner langen Halbwertszeit und guten Gewebegängigkeit in den meisten Fällen nur drei Tage lang verabreicht werden.(32)

### 3.3.2.5 Auswirkungen auf die Zusammensetzung des Mikrobioms

Die Einflüsse von Azithromycin auf die Zusammensetzung des Darmmikrobioms wurden in vier Studien analysiert. Eine Zusammenfassung dieser Studien findet sich in Tabelle 2.

**Tabelle 2:** Studien, die sich mit den Auswirkungen von Azithromycin auf die Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms des Erwachsenen beschäftigen

| Autor*innen         | Land, Studiendesign | Stichprobe   | Untersuchtes Antibiotikum, Darreichungs-Form, Dosis, Dauer | Verfahren, Stuhlprobe, Nachbeobachtung  | Einbeziehen der Ernährung/ Medikation  |
|---------------------|---------------------|--|--|---|--|
| Matute et al. (52)  | Niederlande, RCT    | N=18, gesunde Frauen und Männer, Alter:18-65                     | Azithromycin, p.o., 500mg, 1x tgl., 3 Tage                 | Kultur auf selektivem Agar unter aeroben und anaeroben Bedingungen, 9 Proben, 46 Tage | Medikation und Antibiotika-administration während Studie bzw. vor Studienbeginn berücksichtigt         |
| Kang et al. (53)    | Dänemark, RCT       | N=10, gesunde Frauen und Männer, Alter:18-65                     | Azithromycin, p.o., Tag 1: 500mg, Tag 2-5: 250mg, 1x tgl.  | Shotgun-Metagenom-Sequenzierung, 6 Proben, 85 Tage                                    | Ernährung und Antibiotika-administration während Studie bzw. vor Studienbeginn berücksichtigt          |
| Anthony et al. (54) | USA, RCT            | N=20, gesunde Frauen und Männer, Alter:24-59, Ethnizität erhoben | Azithromycin, p.o., Tag 1: 500mg, Tag 2-5: 250mg, 1x tgl.  | Shotgun-Metagenom-Sequenzierung, 15 Proben, 180 Tage                                  | Ernährung, Medikation, Antibiotika-administration während Studie bzw. vor Studienbeginn berücksichtigt |
| Choo et al. (55)    | Australien, RCT     | N=20, gesunde Frauen und Männer, Alter:25-55                     | Azithromycin, p.o., 125mg, 2x tgl., 4 Wochen               | Shotgun-Metagenom-Sequenzierung, 2 Proben, keine Nachbeobachtung                      | Ernährung, Medikation, Antibiotika-administration während Studie bzw. vor                              |

Matute et al. konnten zeigen, dass eine 3-tägige Azithromycinexposition nur einen geringen ökologischen Effekt auf die intestinale Darmmikrobiota ausübt. Gruppenweise erhielten jeweils sechs Studienteilnehmer\*innen entweder für drei Tage Azithromycin (500 mg einmal täglich), für fünf Tage Clarithromycin (500 mg zweimal täglich) oder für sieben Tage ein Placebo. Um die Doppelblindheit der Studie zu gewährleisten, nahmen alle Proband\*innen über einen Zeitraum von sieben Tagen täglich zwei Tabletten (Antibiotikum und Placebo oder Placebo und Placebo) ein. Unter Azithromycin wurde in der fäkalen aeroben Mikroflora eine leichte, nichtsignifikante Abnahme der Anzahl von Mikroorganismen aus der Familie der Enterobacteriaceae, wie E.coli, beobachtet. Dieser Effekt war jedoch vorübergehend, und die Werte normalisierten sich bis zum 21. Tag nach Behandlungsende wieder. Azithromycin hat die Gesamtzahl der anaeroben Bakterien nicht beeinflusst. (52)

Kang et. al untersuchten die Auswirkungen von Antibiotika auf die Zusammensetzung und Widerstandsfähigkeit der intestinalen Mikrobiota einer kleinen Gruppe gesunder Erwachsener. Jeweils zwei Proband\*innen nahmen für einen Zeitraum von fünf Tagen Ciprofloxacin (500mg zweimal täglich), Cefuroxim (500mg zweimal täglich), Azithromycin (Tag 1 500 mg / Tag 2-5 250mg) oder Doxycyclin (100mg zweimal täglich) ein. Zwei Proband\*innen waren in der Kontrollgruppe und wurden nicht mit einem Antibiotikum behandelt. Im Allgemeinen konnte unter Antibiotikaadministration eine signifikante Reduktion der  $\alpha$ -Diversität im Vergleich zur ursprünglichen Darmmikrobiota festgestellt werden. Die  $\beta$ -Diversität nahm hingegen zu. In der Azithromycingruppe konnte nach drei Monaten (Ende des Beobachtungszeitraumes) weiterhin eine deutlich reduzierte Artenvielfalt beobachtet werden. Eine weitere allgemeine Beobachtung stellte die Zunahme an gramnegativen Bakterienarten während der Antibiotikagabe dar. Azithromycin führte beispielsweise zu einer Zunahme an Bacteroides-Spezies. Aber auch die Häufigkeit an Ruminococcus spp. nahm zu. Bei diesen proliferierenden Arten wurde auch eine vermehrte Resistenzentwicklung gegen das Antibiotikum beobachtet. Die langfristigen Auswirkungen der Antibiotikabehandlung wurden drei Monate nach der Behandlung auch auf Speziesebene erfasst. So konnte man in der Azithromycingruppe

bestimmte Bifidobacterium-, Bacteroides-, Parabacteroides-, Eubacterium-, Alistipes- und Ruminococcus-Arten nicht mehr nachweisen. (53)

Anthony et. al untersuchten sowohl akute als auch langfristige Auswirkungen von häufig zum Einsatz kommenden Antibiotika auf die Darmmikrobiota gesunder Erwachsener. 20 Freiwillige wurden in vier Gruppen aufgeteilt, die entweder für jeweils fünf Tage Levofloxacin (750mg einmal täglich), Cefpodoxim (250mg zweimal täglich), Azithromycin (1.Tag:500mg, ab 2.Tag 250mg) oder Azithromycin (1.Tag:500mg, ab 2.Tag 250mg) in Kombination mit Cefpodoxim (250mg zweimal täglich) erhielten. Die Studienleiter\*innen konnten allgemein eine Abnahme der Artenvielfalt nach Antibiotikaadministration beobachten. Bei den meisten Proband\*innen kehrte die Artenvielfalt nach zwei Monaten auf das vorbehandelte Niveau zurück. Verglichen mit der restlichen Studienpopulation zeigten sich in der Azithromycingruppe im Speziellen jedoch eine verzögerte Wiederherstellung der Artenvielfalt und der Stoffwechsellistung sowie eine deutlichere Abweichung der Komposition der Darmmikrobiota und eine Zunahme an Antibiotikaresistenzen. Zu den Mikroorganismen, die durch Azithromycin in ihrer Anzahl reduziert wurden und deren Rückanreicherung sich verzögerte, zählen unter anderem Eubacterium eligens, Alistipes putridensis und Bifidobacterium longum. Ebenso zeigten sich während des Beobachtungszeitraumes zwei kurze Anstiege in der durchschnittlichen Häufigkeit von Methanobrevibacter smithii. Bacteroides massiliensis war die einzige Art, bei der nach der Antibiotikabehandlung mit AZM und CPD + AZM eine Zunahme festgestellt werden konnte. Ein Teil der Studienpopulation wies nach Antibiotikaadministration eine anhaltende Verringerung der Artenvielfalt auf. Bei diesen Proband\*innen konnten außerdem kompositorische Ähnlichkeiten zur Mikrobiota von Intensivpatient\*innen nachgewiesen werden. (54)

In einer Forschungsarbeit mit 20 gesunden Erwachsenen wurde die Auswirkung einer langfristigen Makrolidexposition auf die Darmmikrobiota und deren Relevanz für die Regulation des Stoffwechsels analysiert. Die Proband\*innen erhielten eine vierwöchige Behandlung mit 400 mg Erythromycinethylsuccinat (zweimal täglich) oder 125 mg Azithromycin (zweimal täglich). Die Dosen entsprachen denjenigen, die Patient\*innen mit niedrig dosierter, langfristiger Makrolidtherapie verordnet wird. Die Autor\*innen konnten konstante Veränderungen in der Zusammensetzung des Darmmikrobioms erkennen. Während die Gesamtzahl der Bakterien unverändert blieb, führte Azithromycin zu einer

signifikanten Reduktion der Vielfalt und Diversität der bakteriellen Population. Es ließ sich eine Abnahme einiger wichtiger Kommensalen, einschließlich einiger Bifidobacterium-Arten und einer Eubacterium-Spezies beobachten. Im Gegensatz dazu stieg die Anzahl an Bakterien, die mit der Entstehung von Entzündungen assoziiert werden, wie Ruminococcus gnavus. Neben Veränderungen in der taxonomischen Zusammensetzung wurden auch signifikante Veränderungen in der funktionellen Kapazität der Darmmikrobiota beobachtet. In Bezug auf diese konnte gezeigt werden, dass mikrobielle Wege, die einen Einfluss auf essenzielle Prozesse des Energiestoffwechsel wie der Glykolyse, der Kohlenhydratbiosynthese und -degradierung, dem Zitratzyklus und der Fermentation haben, nach Makrolidadministration signifikant reduziert waren. Diese Auswirkungen präsentierten sich in der Azithromycin-Gruppe stärker ausgeprägt. Darüber hinaus konnte eine Assoziation zwischen der Exposition gegenüber Makroliden und der Alteration von systemischen Stoffwechselmarkern beobachtet werden, die mit Veränderungen der Zusammensetzung und Funktion der Darmmikrobiota korrelierten. Im Speziellen konnte eine Veränderung der Stoffwechselmarker, die an der immunologischen und metabolischen Homöostase beteiligt sind, festgestellt werden. Die Autor\*innen schließen auf Grund der Ergebnisse darauf, dass eine langfristige, niedrig dosierte Makrolidtherapie möglicherweise einen Einfluss auf die systemische, metabolische Regulation ausübt und dadurch potenziell das Risiko für kardiometabolische Erkrankungen erhöhen könnte. (55)

Bis auf eine Studie berichteten alle Untersuchungen von signifikanten Veränderungen im Darmmikrobiom unter Azithromycin-Therapie. Die Anwendung von Azithromycin führte zu einer Abnahme von E. coli, Bifidobacterium- und Eubacterium-Spezies sowie bestimmter Bacteroidetes-Arten. Für Bacteroides spp. und Ruminococcus spp. wurden Veränderungen in beide Richtungen beobachtet. Ferner wurde in den Studien eine Entwicklung von Antibiotikaresistenzen festgestellt. Insgesamt führte Azithromycin zu einer deutlichen Reduktion der Vielfalt der Darmmikrobiota, die sich nur verzögert zurückbildete oder sogar nach Ende des Beobachtungszeitraums in ausgeprägter Weise bestehen blieb (der längste beobachtete Zeitraum betrug drei Monate). Zwei Studien konnten außerdem Dysbiose-assoziierte Veränderungen des Stoffwechsels feststellen.

### **3.3.3 Doxycyclin**

Das Antibiotikum Doxycyclin gehört zur Gruppe der Tetracycline, welche aus Streptomyces-Arten gewonnen bzw. partialsynthetisch hergestellt werden. Den Tetracyclinen gemein ist ihr chemischer Aufbau, welcher sich aus vier kondensierten Sechseringen zusammensetzt. Die einzelnen Tetracycline unterscheiden sich lediglich durch die Substituenten dieser Ringkonstruktion. (31, 32)

#### **3.3.3.1 Wirkmechanismus**

Der antibiotische Effekt der Tetracycline beruht auf dem Eingreifen in die Proteinsynthese der Bakterienzelle. Tetracycline greifen in die initiale Phase der Elongation ein, wo sie die Anlagerung der Aminoacyl-tRNA an die 30S-Untereinheit der bakteriellen Ribosomen inhibieren, was zum Abbrechen der Peptidkette führt. Das Erzielen einer antibiotischen Wirkung innerhalb der Bakterienzelle erfordert allerdings ausreichend hohe Wirkstoffkonzentrationen. (31)

#### **3.3.3.2 Wirkspektrum**

Durch den oben beschriebenen Mechanismus üben Tetracycline einen bakteriostatischen Effekt auf Bakterien aus. Sie wirken sowohl auf grampositive Bakterien (wie Streptokokken, Staphylokokken inkl. MRSA, Pneumokokken) als auch auf viele gramnegative Bakterienarten (Neisserien, Hämophilus, Campylobacter jejuni etc.) und Spirochäten wie bspw. Treponemen und Borrellien. Von klinischer Bedeutung ist insbesondere ihre Wirkung gegen intrazelluläre Erreger (Chlamydien, Legionellen, Mykoplasmen). Im Gegensatz dazu sind Pseudomonas aeruginosa, Serratia und Proteus-Arten von Natur aus weitgehend resistent gegenüber Tetracyclinen. Außerdem weisen einige Bakterienarten bei einem beträchtlichen Anteil ihrer Stämme eine erworbene Resistenz gegenüber Tetracyclinen auf. Neben dem beschriebenen Wirkspektrum wirkt Doxycyclin zusätzlich gegen den Einzeller Plasmodium falciparum. (31, 32)

#### **3.3.3.3 Pharmakokinetik**

Doxycyclin kann in oraler oder intravenöser Form verabreicht werden. Aufgrund seiner ausgeprägten Fettlöslichkeit kann der Darm mehr als 90% des Wirkstoffs nach oraler Einnahme aufnehmen. Die Absorption kann jedoch durch gleichzeitigen Konsum von

Milchprodukten, Antazida oder Eisen gestört werden, da eine Komplexbildung mit zwei- bzw. dreiwertigen Kationen auftreten kann. Tetracycline sind sehr gut gewebsgängig und können über die Plazentaschranke auch in die Muttermilch gelangen. Allerdings sind die erreichten Konzentrationen im Liquor zur Behandlung einer Meningitis nicht ausreichend. Doxycyclin wird, wie die meisten Tetracycline, überwiegend in unmetabolisierter Form ausgeschieden. Die Hauptausscheidungswege sind die Gallenflüssigkeit und in geringerem Maße die Nieren. Im Zuge einer biliären Elimination werden Tetracycline im Lumen des Darmes teilweise durch Chelatbildung oder durch Darmmikroben inaktiviert. Ein Teil davon kann auch in den enterohepatischen Kreislauf gelangen, was die vergleichsweise langen und individuell variablen Halbwertszeiten der Tetracycline erklärt. Für Doxycyclin wird eine Plasmahalbwertszeit von ungefähr 12-18 Stunden beschrieben. (31, 32)

#### **3.3.3.4 Indikationen und Dosierungen**

Tetracycline wie Doxycyclin werden bei Erkrankungen des Respirationstraktes, des Urogenitaltraktes sowie bei Infektionen der Haut und des Darmes eingesetzt. Doxycyclin kommt bspw. auch als Malariaprophylaxe zur Anwendung. Bei Erwachsenen mit einem Körpergewicht von über 50 kg und unter 70 kg wird eine anfängliche Dosis von 200 mg Doxycyclin am ersten Tag verabreicht, gefolgt von 100 mg an den nachfolgenden Tagen. Bei schwerwiegender Erkrankung oder Patient\*innen mit einem Körpergewicht von mehr als 70 kg wird über die gesamte Behandlungszeit eine tägliche Dosis von 200 mg Doxycyclin verabreicht. Die Dosierungsempfehlungen für die intravenöse Anwendung sind identisch mit denen für die perorale Applikation. (32)

#### **3.3.3.5 Auswirkungen auf die Zusammensetzung des Mikrobioms**

Die Auswirkung von Doxycyclin auf die Darmmikrobiom-Zusammensetzung wurde in drei verschiedenen Studien untersucht. Eine Übersicht zu diesen Studien ist in Tabelle 3 dargestellt.

**Tabelle 3:** Studien, die sich mit den Auswirkungen von Doxycyclin auf die Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms des Erwachsenen beschäftigen

| Autor*innen          | Land, Studiendesign        | Stichprobe                                   | Untersuchtes Antibiotikum, Darreichungs-Form, Dosis, Dauer | Verfahren, Stuhlprobe, Nachbeobachtung   | Einbeziehen der Ernährung/ Medikation   |
|----------------------|----------------------------|--|--|--|---|
| Rashid et al. (56)   | Schweden, RCT              | N=34, gesunde Frauen und Männer, Alter:19-37 | Doxycyclin, p.o., 40mg, 1x tgl., 16 Wochen                 | Kultur auf selektivem Agar unter aeroben und anaeroben Bedingungen, 5 Proben, 4 Wochen | Keine Angaben   |
| Heimdahl et al. (57) | Schweden, Klinische Studie | N=10, gesunde Frauen und Männer, Alter:33-45 | Doxycyclin, p.o., 100mg, 1x tgl., 5 Tage                   | Kultur auf selektivem Agar, 7 Proben, 9 Tage für Zusammensetzung Des Mikrobioms        | Medikation und Antibiotika-administration während Studie bzw. vor Studienbeginn berücksichtigt            |
| Kang et al. (53)     | Dänemark, RCT              | N=10, gesunde Frauen und Männer, Alter:18-65 | Doxycyclin, p.o., 200mg, 1x tgl., 5 Tage                   | Shotgun-Metagenom-Sequenzierung, 6 Proben, 85 Tage                                     | Ernährung, Medikation und Antibiotika-administration während Studie bzw. vor Studienbeginn berücksichtigt |

Rashid et al. beschäftigten sich mit den Auswirkungen einer niedrig dosierten Doxycyclin Therapie auf die gesunde Mund- und Darmmikrobiota. Über einen Zeitraum von 16 Wochen wurde gesunden Proband\*innen entweder täglich 40 mg Doxycyclin oder ein Placebo verabreicht. Niedrig dosiertes Doxycyclin übte nur einen geringen ökologischen Effekt auf die intestinale Mikrobiota aus. Im Laufe der Therapie nahm die Anzahl an Enterkokken und E. coli ab. Allerdings zeigten sich in der Placebogruppe ähnliche Alterationen. Die anaerobe Bakterienflora wurden durch Doxycyclin nicht signifikant beeinflusst. Am Ende der Beobachtungszeit, vier Wochen nach Therapieende, glich die

intestinale Mikrobiota wieder ihrem ursprünglichen Zustand. Im Vergleich zur Placebogruppe konnten in der Antibiotikagruppe signifikant mehr Doxycyclin-resistente Bakterien wie *E. faecalis*, *Enterococcus faecium*, grampositive Stäbchen, anaerobe Kokken, Bifidobakterien und grampositive Stäbchen isoliert werden. (56)

In einer Forschungsarbeit von Heimdahl et al. wurde der Effekt von Doxycyclin auf die gesunde orale und intestinale Mikrobiota analysiert. Gesunde Proband\*innen erhielten für einen Zeitraum von zehn Tagen einmal täglich 100mg Doxycyclin.

Bei acht Proband\*innen verringerte sich die Anzahl der Enterokokken und Streptokokken unter der Doxycyclintherapie. Bei fünf Studienteilnehmer\*innen kam es außerdem zu einer Abnahme der Enterobacteriaceae *E.coli*. In den Stuhlproben von drei Freiwilligen stellte man eine Besiedelung mit neuen Bakterienstämmen wie *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* und *Enterobacter cloacae* fest. Diese Bakterien zeigten sich Doxycyclin gegenüber resistent. Bei den meisten Teilnehmer\*innen hatte sich die aerobe Mikrobenflora neun Tage nach Behandlungsende wieder erholt.

Im Mikrobiom von drei Proband\*innen konnte man vor der Therapie Fusobakterien nachweisen. Im Verlauf der Behandlung waren diese jedoch nicht mehr nachweisbar, was darauf schließen lässt, dass sie durch das Antibiotikum abgetötet wurden.

Nach der siebentägigen Doxycyclinbehandlung wiesen neun Proband\*innen Doxycyclin-resistente Enterobakterien und Enterokokken auf. Ebenso wurde in der aeroben Mikrobenflora eine deutliche Zunahme der Resistenz gegenüber Doxycyclin beobachtet: neun Teilnehmer\*innen waren nach Therapieende mit resistenten *Bacteroides*-Stämmen und acht mit resistenten *Lactobacillen* besiedelt. Drei Monate nach Therapieende ließen sich die meisten Doxycyclin-resistenten Bakterien nicht mehr nachweisen. Allerdings konnten in den Stuhlproben von je zwei Freiwilligen immer noch resistente *E. coli*-Stämme bzw. *Lactobacillus*- und *Bacteroides*-Stämme beobachtet werden. (57)

Kang et. al (siehe Kapitel 3.3.2.5) zeigten, dass eine fünftägige Doxycyclintherapie (zweimal täglich 100mg) zu einer Reduktion der Artenvielfalt und  $\alpha$ -Diversität der intestinalen Mikrobiota führte, während die  $\beta$ -Diversität zunahm. Drei Monate nach der Doxycyclinbehandlung wies die intestinale Mikrobiota weiterhin eine verringerte Diversität auf. Während der Behandlung kam es unter anderem zum Wachstum spezieller Clostridien- und *Bacteroides*-Spezies. Bei den proliferierenden Arten beobachteten die Autoren auch eine vermehrte Resistenzentwicklung gegen das Antibiotikum. Außerdem

kam es zum Verschwinden von *E. coli* und einiger Bifidobakterien und *Streptococcus spp.*, die auch nach 3 Monate nicht mehr nachweisbar waren. (53)

Doxycyclin scheint insbesondere zu einer Reduktion von *E. coli*, Enterokokken und Streptokokken zu führen. Im Gegensatz dazu wurde in den Studien unabhängig voneinander von einer Proliferation von bestimmten *Bacteroides*- und *Clostridien*stämmen bzw. einer Besiedlung mit resistenten *Enterobacteriaceae* berichtet. Alle drei Studien gaben Resistenzentwicklungen an. Submikrobielle Dosen an Doxycyclin scheinen nur einen geringen Einfluss auf die intestinale Mikrobiota zu haben. Eine Forschungsarbeit gab an, dass sich die Mikrobiota der meisten Personen nach Ende der Beobachtungszeit wieder normalisierte, was aber darauf schließen lässt, dass dies nicht bei allen Proband\*innen der Fall war. Kang et. al (53) berichteten auch nach Ende des Beobachtungszeitraumes (nach drei Monaten) von einer reduzierten Diversität und veränderten Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota unter Doxycyclin.

### **3.4 Klinische Konsequenzen einer Antibiotika-induzierten Dysbiose**

#### **3.4.1 Kurz-/mittelfristige gesundheitliche Folgen**

##### **3.4.1.1 Erhöhte Suszeptibilität für Infektionen**

Wie bereits zuvor erwähnt ist die post-antibiotische Dysbiose unter anderem durch eine reduzierte Kolonisationsresistenz gekennzeichnet. In diesem Kontext stellt eine der unmittelbaren Bedrohungen von Antibiotika-induzierten Mikrobiomalterationen die erhöhte Anfälligkeit gegenüber gastrointestinalen Infektionen dar. Der Infektion geht zunächst entweder die Besiedelung mit pathogenen Erregern oder eine Expansion und ein pathogenes Verhalten von opportunistischen Mikroben der intestinalen Mikrobiota voraus. Kommt es durch die genannten Mikroorganismen zur Schädigung der Integrität und Barrierefunktion des Darmes, werden eine Translokation dieser und anschließend die Entstehung einer Infektion gefördert. (3, 38, 40)

Im Rahmen solcher Infektionen kommt es besonders häufig zum Auftreten sogenannter Antibiotika-assoziiertes Diarrhöen (AAD). Die AAD ist als Diarrhö definiert, die in Zusammenhang mit der Einnahme von Antibiotika auftritt und sich nicht durch andere Ursachen erklären lässt. Es kann während der Antibiotikatherapie und bis zu acht Wochen

nach Therapieende zum Auftreten von Durchfällen kommen. (30, 40)

AAD werden unter anderem mit Erregern wie *Klebsiella pneumoniae* in Verbindung gebracht. Am häufigsten werden sie jedoch mit einer *Cl. difficile* Infektionen assoziiert. (30, 40, 58)

#### ***3.4.1.1.1 Infektionen mit *Cl. difficile****

*Clostridoides difficile* ist ein grampositives, anaerobes Bakterium, das für seine Toxin- und Sporenbildung bekannt ist. Es ist Mitglied des Bakterienphylums Firmicutes und kann unter Umständen in der physiologischen Darmflora vorkommen. Die von ihm produzierten Toxine A und B können das Zytoskelett und die Integrität der Darmbarriere zerstören, wodurch eine inflammatorische Immunantwort ausgelöst wird. Zu den CDI-assozierten Krankheitsbildern zählen Durchfälle, die pseudomembranöse Kolitis und das Entstehen einer Sepsis. Im schlimmsten Fall kann die Infektion sogar zum Tod führen. (3, 40, 59) Die Therapie mit einem Antibiotikum gilt als größter Risikofaktor für eine Infektion mit *Cl. difficile*. Cephalosporine, Amoxicillin, Ampicillin, Clindamycin und Fluorchinolone werden am häufigsten mit einer CDI assoziiert. Je länger das Antibiotikum eingenommen wird, desto höher ist das Risiko an einer CDI zu erkranken.(30)

Normalerweise kontrolliert die intestinale Mikrobiota die Aktivität von *Cl. difficile*, sodass es weder zur Sekretion von Toxinen noch zur Entstehung einer inflammatorischen Immunantwort kommen kann. Eine bedeutende Rolle spielen dabei Bakterien der Clostridien-Cluster XIVa und XI, beispielsweise *Clostridium scindens*. Diese Bakterien wandeln primäre Gallensäuren in sekundäre Gallensäuren um. Eine große Menge an sekundären Gallensäuren kann die Sporenbildung des Bakteriums verhindern und zudem die Produktion von Toxinen reduzieren. Kommt es nun in Folge einer Antibiotikatherapie zu einer Reduktion dieser regulierenden Kommensalen, nimmt auch der Anteil an sekundären Säuren im Darm ab. Durch das Ausbleiben der hemmenden Effekte wird die Expansion und Toxinsekretion von *Cl. difficile* begünstigt und es kann zum Auftretenden der entsprechenden Klinik kommen. (3)

#### ***3.4.1.1.2 Infektion mit resistenten Erregern***

In diesem Zusammenhang muss auch die Möglichkeit einer Infektion mit resistenten Erregern erwähnt werden. Wie in Kapitel 3.2.1.3 beschrieben, führen Antibiotika zu einer

erhöhten Resistenzentwicklung. Die Zunahme an Antibiotikaresistenzen stellt weltweit eine der bedeutendsten Herausforderung des Gesundheitswesens dar. Die erhöhte Prävalenz von antibiotikaresistenten Bakterien führt zu Entstehung von Infektionen, deren Behandlung nicht nur komplizierter, sondern auch teurer ist. Da altbewährte Antibiotika auf Grund der auftretenden Resistenzen ihre Wirkung verlieren, müssen neue Antibiotika verwendet werden, die jedoch sehr kostenintensiv sind und denen, die sie dringend brauchen, nicht zur Verfügung stehen. (30)

#### ***3.4.1.1.3 Pilzinfektionen***

Unter antibiotischer Therapie kann es nicht nur zur Entstehung einer bakteriellen Infektion kommen, sondern auch zur Entstehung von Pilzinfektionen. Eine Antibiotika-induzierte Dysbiose führt zu einer verminderten Synthese bestimmter bakterieller Stoffwechselprodukte, welche wiederum die Proliferation von bestimmten Pilzen kontrollieren. Cathelizidin steuert beispielsweise das Wachstum von *Candida* spp. und SCFAs verhindern die Besiedelung des Magen-Darmtraktes mit *Candida albicans*.(3) Seelbinder et al. konnten zudem zeigen, dass Antibiotika langanhaltende Auswirkungen auf die Pilzgemeinschaft des Darmes ausüben und sich ein Wettbewerbsverhalten innerhalb des Mykobioms entwickelt. (60)

#### ***3.4.2 Langfristige gesundheitliche Folgen***

Veränderungen im Darmmikrobiom werden mit der Entstehung einer Vielzahl von chronischen Erkrankungen in Verbindung gebracht. Eine Assoziation zwischen einer frühzeitigen Exposition gegenüber Antibiotika und Krankheiten wie Kinderasthma, Allergien und Atemwegserkrankungen besteht schon seit langem. Beobachtungsstudien legen nahe, dass der Einsatz von Antibiotika möglicherweise an der Entstehung immer häufiger auftretender Erkrankungen wie der Adipositas, entzündlichen Darmerkrankungen, Darmkrebs etc. beteiligt sein könnte. (30)

Im kommenden Abschnitt werden drei Krankheitsbilder vorgestellt, die auf Grund einer möglichen Beteiligung der intestinalen Mikrobiota kontinuierlich im Fokus der Mikrobiomforschung stehen. Des Weiteren wird untersucht, ob es eine Verbindung zwischen dem Einsatz von Antibiotika im Erwachsenenalter und dem Auftreten dieser Krankheiten gibt.

### 3.4.2.1 Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen

Unter Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED) versteht man Erkrankungen, die durch schubweise auftretende, entzündliche Veränderungen des Verdauungstraktes gekennzeichnet sind. Die wichtigsten Vertreter sind der Morbus Crohn (MC) und die Colitis ulcerosa (CU). Der Morbus Crohn ist gekennzeichnet durch seine transmuralen und häufig fleckigen Entzündungsmuster, die in allen Bereichen des Gastrointestinaltraktes auftreten können. Im Gegensatz dazu beschränkt sich die Ausbreitung der Colitis ulcerosa auf den Dickdarm und beginnt in der Regel im Bereich des Mastdarms.(1, 61)

Gegenwärtig wird davon ausgegangen, dass eine gestörte Barrierefunktion des Darmes und eine gestörte Immunreaktion bei genetischer Vorbelastung in Zusammenspiel mit Umwelteinflüssen ursächlich für die Entstehung und Entwicklung der Krankheit sind. Auch die intestinale Mikrobiota spielt dabei eine Rolle. Neuere Erkenntnisse sprechen für eine wechselseitige Beziehung zwischen dem Fortschreiten der Krankheit und Veränderungen in der Zusammensetzung und Funktion der Mikrobiota. (1, 61)

Personen, die an chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) leiden, weisen eine gestörte Zusammensetzung des Darmmikrobioms auf. Dies äußert sich in einer Abnahme von Bacteroidetes, Firmicutes und Actinobacteria sowie einer Zunahme von Proteobacteria. (62)

Vertreter der Phyla Bacteroidetes und Firmicutes sind hauptverantwortlich für die Produktion von kurzkettigen Fettsäuren. Aus diesem Grund scheint es nicht verwunderlich, dass Stuhlproben von einem Großteil der Betroffenen reduzierte Mengen an SCFAs aufweisen. Darüber hinaus scheint eine verringerte Anzahl an Firmicutes- und Faecalibacterium-Arten mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für Rückfälle und dem Wiederauftreten der Erkrankung nach einer Operation in Verbindung zu stehen. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die bakterielle Vielfalt des Darmmikrobioms während eines aktiven Schubes reduziert ist. (62)

Die Zytokine IL-6 und IL-8 spielen eine zentrale Rolle bei der Krankheitsentstehung. Die vermehrte Produktion dieser Mediatoren könnte die Folge einer veränderten Zusammensetzung oder eines veränderten Metaboloms der Darmmikrobiota sein. Dies lässt darauf schließen, dass Bakterien oder bakterielle Metabolite die Funktionen des Immunsystems im Rahmen des Krankheitsgeschehens regulieren. Andererseits könnte ein

chronisch entzündliches Milieu im Darm zu einer erhöhten Sauerstoffkonzentration des Gewebes führen und die Schleimhautbarriere stören. Dieser Umstand könnte in einem Rückgang nützlicher Bakterien und in einem Anstieg von Pathobionten resultieren. Ob die bakterielle Dysbiose Ursache oder Folge der Immunaktivierung und Entzündung bei CED ist oder ob beides zutrifft, konnte noch nicht in ausreichendem Maße geklärt werden. (61, 62)

#### **3.4.2.1.1 Assoziation mit Antibiotikagebrauch**

Eine Reihe an Evidenz lässt darauf schließen, dass Antibiotika eine Rolle bei der Entstehung von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) spielen könnten, indem sie die Artenvielfalt der Darmmikrobiota beeinträchtigen und eine Dysbiose verursachen.(59)

So kam bspw. eine Kohortenstudie aus Dänemark zum Ergebnis, dass der Gebrauch von Antibiotika mit einem erhöhten Risiko für die Entstehung einer CED einhergeht. Ein signifikanter Zusammenhang ließ sich in allen untersuchten Altersgruppen (10-40 Jahre, 40-60 Jahre, >60 Jahre) beobachten, bei über 40-Jährigen war er jedoch am ausgeprägtesten. In allen Altersgruppen wurde eine positive Dosis-Wirkungs-Beziehung festgestellt, wobei sich ähnliche Ergebnisse sowohl für Morbus Crohn als auch für Colitis ulcerosa zeigten. Das höchste Risiko, an einer CED zu erkranken, wurde ein bis zwei Jahre nach Antibiotika-Administration beobachtet und war vor allem mit dem Gebrauch von Antibiotika assoziiert, die häufig zur Behandlung von Infektionen des Gastrointestinaltraktes eingesetzt werden. (63)

Souadet et. untersuchten, ob der Gebrauch von oralen Antibiotika zwei bis fünf Jahre vor Diagnosestellung mit der Entwicklung von entzündlichen Darmerkrankungen in Verbindung gebracht werden kann. Im Rahmen der Studie konnte festgestellt werden, dass es einen signifikanten und dosisabhängigen Zusammenhang zwischen einer Antibiotikaeinnahme und der Entstehung von Morbus Crohn bzw. von Colitis ulcerosa im Erwachsenenalter gibt. Dieser Zusammenhang wurde für alle untersuchten Jahren beobachtet. So zeigte sich bspw., dass bei  $\geq 1$  Antibiotikaadministration/en in den letzten zwei Jahren ein 1,2-fach erhöhtes Risiko für eine Krankheitsentstehung im Vergleich zur Kontrollgruppe besteht. Bei  $\geq 3$  Antibiotikazyklen erhöhte sich das Risiko bereits auf das

1,5 fache. 12% der Erkrankten berichteten von mehr als  $\geq 3$  Antibiotikatherapien innerhalb der letzten zwei Jahre, in der Kontrollgruppe hingegen nur 7%. Diese Abweichung bei  $\geq 3$  Verordnungen zeigte sich konstant auch drei, vier und fünf Jahre vor Diagnosestellung. (64)

### 3.4.2.2 Reizdarmsyndrom

Das Reizdarmsyndrom (RDS) stellt eine der häufigsten funktionellen Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes dar. Es äußert sich durch wiederkehrende, lang andauernde Bauchschmerzen, Schwankungen in den Stuhlgewohnheiten, Veränderungen bezüglich Beschaffenheit und Häufigkeit des Stuhlgangs sowie Blähungen.

Die Diagnosestellung erfolgt derzeit mittels Rom-IV-Kriterien. In Abhängigkeit von der vorherrschenden Symptomatik werden die Patient\*innen in vier Haupttypen unterteilt. Für das Reizdarmsyndrom wird eine multifaktorielle und heterogene Pathogenese vermutet, deren Pathophysiologie noch nicht ausreichend verstanden ist.

Es wurden mehrere Ursachen bzw. Einflussfaktoren bezüglich der Entstehung des Reizdarmsyndromes diskutiert, darunter eine Störung der Darm-Hirn-Achse, die Ernährung, frühere Infektionen, Stress, prä- und postnatale Einflüsse und Veränderungen der Darmmikrobiota. (65)

Verglichen mit gesunden Menschen, weist die Zusammensetzung des Darmmikrobioms von RDS-Betroffenen deutliche Unterschiede auf. Diese könnten zur Entstehung der charakteristischen Symptome beitragen. (66)

Bisher gelang es noch nicht, eine spezifische charakteristische Veränderung in der Darmmikrobiota zu identifizieren, die dem Reizdarmsyndrom zugeordnet werden kann. Verschiedene Forschungsarbeiten weisen darauf hin, dass die Anzahl von Faecalibacterium, Bifidobakterien und Lactobazillen in der RDS-Mikrobiota verringert ist. Die Zahl an Ruminococcus, Veillonella und entzündungsfördernden Bakterienarten wie Enterobacteriaceae zeigt sich hingegen erhöht. Gegensätzlich dazu wurde in einer systematischen Übersichtsarbeit zur Darmmikrobiota bei RDS-Patient\*innen eine erhöhte Abundanz von Lactobacillaceae und Bacteroides-Genera festgestellt. Publikationen berichteten sowohl von einem erhöhten als auch von einem erniedrigten Verhältnis an Firmicutes/Bacteroidetes bei RDS-Patient\*innen. Darüber hinaus könnte die Vielfalt und

Stabilität der Darmmikrobiota bei Patient\*innen mit Reizdarmsyndrom verringert sein. (65, 67)

Angesammeltes Wissen der letzten Jahrzehnte weist darauf hin, dass Faktoren wie die Darmmikrobiota, zur Entstehung von abnormalen Reaktionen in Regulationszentren führen, welche sensorisch-motorische Mechanismen bei der Entstehung des Reizdarmsyndromes steuern. Diese Zentren umfassen das enterische Nervensystem, die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse, das Immunsystem und die Darm-Hirn-Achse. Eine Dysbiose führt beispielsweise zu verschiedenen entzündlichen und immunologischen Veränderungen, die ihrerseits die Schleimhautbarriere des Magen-Darm-Trakts beeinträchtigen können, indem sie die Durchlässigkeit des Darms erhöhen. Dies könnte wiederum die gastrointestinale Homöostase aus dem Gleichgewicht bringen und nozizeptive Bahnen der Gehirn-Darm Achse stören, was zu einer gesteigerten viszerale Empfindlichkeit oder erhöhten Schmerzwahrnehmung des Gastrointestinaltraktes führen kann, wie es bei RDS-Patient\*innen häufig beobachtet wird. (65, 66)

#### ***3.4.2.2.1 Assoziation mit Antibiotikagebrauch***

Erkenntnisse aus umfangreichen Kohorten- und Fall-Kontroll-Studien legen nahe, dass Antibiotika einen Risikofaktor für die Entstehung von RDS und anderen funktionellen Störungen des Magen-Darm-Traktes darstellen könnten, indem diese zur Entstehung einer Dysbiose beitragen. (59)

2012 berichteten Villareal et.al von einem möglichen Zusammenhang zwischen dem Gebrauch von Breitbandantibiotika und der Entstehung eines Reizdarmsyndromes. Insbesondere eine Therapie mit Makroliden bzw. Tetracyclinen dürfte mit der Krankheitsentstehung assoziiert sein. Von 26.107 erwachsenen Personen, die während des Studienzeitraums ein Breitbandantibiotikum einnahmen, konnte bei 115 innerhalb eines Jahres ein Reizdarmsyndrom diagnostiziert werden. Personen, die eine Tetracyclin- bzw. Makrolidtherapie erhielten, wiesen dabei eine höhere Rate an IBS-Diagnosen auf als Personen, die von der Einnahme eines anderen Antibiotikums berichteten. (0.71% vs. 0.48%). (68)

Ebenso beschäftigte sich eine bevölkerungsbasierte Kohortenstudie aus Dänemark mit einem möglichen Zusammenhang zwischen dem Gebrauch von Antibiotika und der

Pathogenese des Reizdarmsyndroms. Erwachsene Proband\*innen der Studie nahmen in den Jahren 2010, 2011 und 2013 an einer RDS-Umfrage teil und wurden anhand ihrer gastrointestinalen Symptome bzw. vorbekannten gastrointestinalen Erkrankungen in Gruppen aufgeteilt. Im Vergleich zu asymptomatischen Kontrollpersonen berichteten deutlich mehr Studienteilnehmer\*innen mit Reizdarmdiagnose von einem Antibiotikagebrauch (29,0% vgl. mit 17,9%). Bei Proband\*innen, die 2010 und 2011 keine gastrointestinalen Beschwerden/Erkrankungen angaben, war die Wahrscheinlichkeit einer RDS-Diagnosestellung im Jahr 2013 höher, wenn sie im letzten Jahr Antibiotika eingenommen hatten. (69)

### **3.4.2.3 Adipositas**

Die Adipositas ist eine Erkrankung, deren Entstehung auf einer gestörten Energiehomöostase beruht, welche mit modifizierten metabolischen Prozessen und einer, den eigenen Energiebedarf deutlich übersteigenden, Kalorienzufuhr einhergeht. Laut der Weltgesundheitsorganisation (WHO) gehört die Adipositas zum Formenkreis der chronischen Erkrankungen und ist mit dem Auftreten von Diabetes mellitus Typ 2, Hypercholesterinämie, Hypertonie und koronaren Herzerkrankungen assoziiert. Betroffene weisen eine erhöhte Morbidität und Mortalität auf. (3, 70)

Ursache für die Entstehung der Adipositas ist ein Ungleichgewicht zwischen der Energieaufnahme und dem Energieverbrauch. Der verstärkte Verzehr fettreicher Lebensmittel sowie weitere Veränderungen der Lebensweise sind für die epidemiologischen Ausmaße der Erkrankung verantwortlich. Einige Studien konnten belegen, dass auch genetische Faktoren das Erkrankungsrisiko beeinflussen, da das Körpergewicht und der Fettanteil unter anderem auch genetisch determiniert werden. Ebenfalls wird eine alterierte Darmmikrobiota mit der Krankheitsentstehung in Verbindung gebracht. Eine Dysbiose scheint einerseits durch direkte Effekte auf den Darm und andererseits durch indirekte Regulation peripherer Organe einen Einfluss auf die Krankheitsentwicklung zu haben (70, 71)

In humanen und tierexperimentellen Studien konnte in der intestinalen Mikrobiota adipöser Individuen eine Zunahme von Firmicutes und eine Abnahme der Bacteroidetes beobachtet werden. Das Verhältnis von Firmicutes zu Bacteroidetes wird deswegen, wenn auch mit

einigen Kontroversen, als Adipositasindex bezeichnet. Darüber hinaus konnte in adipösen Patient\*innen eine reduzierte Diversität der intestinalen Mikrobiota sowie eine Reduktion von entzündungshemmenden Bakterienarten wie *Faecalibacterium prausnitzii* und eine Abundanz an Bakterien mit proinflammatorischen Effekten, wie *Ruminococcus gnavus*, beobachtet werden. (59)

Die Produktion von kurzkettigen Fettsäuren durch die Darmbakterien liefert dem gesunden, erwachsenem Menschen ungefähr 80-200 kcal pro Tag. Eine Dysbiose kann zu einem zusätzlichen Energiegewinn von bis zu 150 kcal pro Tag führen. Kurzkettige Fettsäuren sind unter anderem auch an der Modulation der Sekretion von Peptid-YY und GLP-1 verantwortlich, welche einen direkten Einfluss auf das Sättigungsgefühl haben. (70) Darüber hinaus haben die enteralen Bakterien einen Effekt auf den Gallensäurestoffwechsel. Gallensäuren fungieren als Liganden für bestimmte Rezeptoren, die wiederum sowohl in der Regulation der Sekretion von Darmhormonen als auch im Glukose- und Lipidstoffwechsel eine Rolle spielen. (70)

Das intestinale Mikrobiom besitzt auch die Fähigkeit die Integrität und Barrierefunktion der Darmmukosa zu schädigen, wodurch das Immunsystem einer erhöhten Menge an bakteriellen Antigenen ausgesetzt ist. Es wird vermutet, dass eine Zunahme an bestimmten Bakterien und damit verbunden auch eine Zunahme der Konzentration ihrer Lipopolysaccharide (LPS) zu einer metabolischen Endotoxämie führen kann. Diese Endotoxämie wird zusammen mit der erhöhten Durchlässigkeit des Darmepithels mit Entzündungsprozessen in Verbindung gebracht, die wiederum zu einer Gewichtszunahme, gestörten Glukosetoleranz und einer erhöhten Insulinresistenz führen. Außerdem kann eine Alteration der intestinalen Mikrobiota zu Verhaltensveränderungen führen wie beispielsweise einem veränderten Appetit oder einer veränderten Nahrungsaufnahme. (70)

#### ***3.4.2.3.1 Assoziation mit Antibiotikagebrauch***

Da Antibiotika zur Entstehung einer Dysbiose beitragen können, scheint es auch eine Verknüpfung zwischen der Anwendung von Antibiotika und der Entstehung der Adipositas zu geben. Dieser Zusammenhang wurde in zahlreichen Studien mit Kindern erforscht, doch es gibt auch Untersuchungen, die eine Assoziation im Erwachsenenalter aufzeigen.(70)

Eine Kohortenstudie beschäftigte sich beispielsweise mit den Auswirkungen eines chronischen Antibiotikagebrauches auf das Gewicht und die Gewichtsveränderungen erwachsener Frauen. Es stellte sich heraus, dass der langfristige Gebrauch von Penicillinen und bakteriziden Antibiotika während des vierten Lebensjahrzehntes mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Fettleibigkeit in Verbindung gebracht werden kann. Zudem war der Gebrauch von Penicillinen, in den fünf Jahren vor Studienbeginn mit einer BMI-Erhöhung nach Studienbeginn assoziiert. Die Autor\*innen schlossen daraus, dass der chronische Antibiotikagebrauch einer erwachsenen Person langfristige Auswirkungen auf den Body-Mass-Index haben könnte. (72)

Nuotio et. al konnten zeigen, dass eine vorherige Exposition gegenüber systemischen Antibiotika mit einem erhöhten Risiko für Übergewicht, Adipositas und zukünftigem Typ-2-Diabetes in Verbindung steht. Diese Beobachtungen blieben auch nach Berücksichtigung einer Vielzahl möglicher Störfaktoren bestehen. Das erhöhte Risiko für die Entwicklung von Typ II-Diabetes und Adipositas präsentierte sich in der Studie kumulativ, da Proband\*innen mit mehreren Antibiotikabehandlungen eine höhere Typ-2-Diabetes Inzidenz bzw. Adipositas Prävalenz aufwiesen. (73)

## 4 Diskussion

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass häufig angewandte Antibiotika wie Amoxicillin/Clavulansäure, Azithromycin und Doxycyclin die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota des Erwachsenen zumindest kurzfristig deutlich modifizieren können. Die Studienlage zu Amoxicillin/Clavulansäure ist am dichtesten und die Ergebnisse stimmten am ehesten miteinander überein. Mit Doxycyclin beschäftigten sich nur drei Forschungsarbeiten und die Untersuchung der Stuhlproben erfolgte hauptsächlich kulturbasiert. Studien, die die Auswirkungen von Azithromycin abhandelten, verwendeten hauptsächlich die Shotgun-Metagenom-Sequenzierungsmethode und setzten sich unter anderem auch mit der Untersuchung von Dysbiose-assoziierten Stoffwechseleränderungen auseinander.

Zu den beobachteten Auswirkungen der Antibiotika zählen eine Reduktion der Artenvielfalt der Darmmikrobiota, Veränderungen in den relativen Häufigkeiten bestimmter Bakterientaxa sowie Resistenzentwicklungen. Diese Auswirkungen würden sich einerseits durch das Wirkspektrum des jeweiligen Antibiotikums, andererseits durch die Dysbiose-bedingte Abnahme der Kolonisationsresistenz erklären lassen. Obwohl einige Studien von einer Normalisierung der intestinalen Mikrobiota berichteten, konnte in mehreren Forschungsarbeiten gezeigt werden, dass sich die Mikrobiota innerhalb der Studiendauer nicht wieder vollständig regenerierte. Der längste beobachtete Zeitraum betrug dabei 3 Monate. Dies legt nahe, dass diese Antibiotika eine anhaltende Wirkung auf bestimmte Arten haben und womöglich zu langfristigen ökologischen Störungen der intestinalen Mikrobiota führen könnten. Eine Antibiotika-assoziierte Dysbiose geht mit einer erhöhten Anfälligkeit für gastrointestinale Infektionen einher. Zudem ist der Antibiotikagebrauch, auch im Erwachsenenalter, mit der Pathogenese unterschiedlicher Krankheitsbilder assoziiert, was im Zuge dieser Arbeit sowohl für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen, für das Reizdarmsyndrom als auch für die Adipositas festgestellt werden konnte. Störungen, die durch diese Antibiotika verursacht werden, könnten also langfristige Konsequenzen für die Gesundheit haben. Die genauen Pathomechanismen der Krankheitsentstehung sind allerdings noch nicht ausreichend geklärt und es bedarf weiterer Untersuchungen, um diese Assoziationen besser zu verstehen.

Es gestaltete sich als äußerst herausfordernd präzise Aussagen bezüglich der taxonomischen Auswirkungen der einzelnen Antibiotika zu treffen. Die miteinander

vergleichenen Forschungsarbeiten wählten unterschiedliche Studientypen, verwendeten verschiedene Analyseverfahren und untersuchten unterschiedliche Mengen an Stuhlproben. Darüber hinaus wurden unterschiedliche Nachbeobachtungszeiträume definiert und kleine Studienpopulationen herangezogen. Außerdem wurde die Zusammensetzung der Darmmikrobiota auf verschiedenen taxonomischen Ebenen untersucht. Konnte festgestellt werden, dass sich die Mikrobiota bis zum Ende der Studiendauer nicht vollständig erholte, wurde im Anschluss keine Follow-up Studie durchgeführt. Es wurden verschiedene Antibiotikadosierungen verabreicht, und auch die Behandlungsdauer variierte in den Publikationen. Obwohl das adulte Mikrobiom als stabil und resilient gilt, ist die genaue Zusammensetzung sehr individuell und wird durch unterschiedliche Faktoren wie Alter, Geschlecht, geographische Lage, Ethnizität, Ernährung, frühere Antibiotikatherapien, Probiotikakonsum, aktuelle Medikation etc. beeinflusst. Um sicherzustellen, dass die Studienpopulation möglichst homogen ist bzw. ein vergleichbares Mikrobiom aufweist, ist es wichtig, diese Parameter bei der Auswahl der Studienteilnehmer\*innen miteinzubeziehen. Dies würde aussagekräftigere Ergebnisse hinsichtlich der Auswirkungen von Antibiotika auf die Zusammensetzung der Mikrobiota gewährleisten. In den meisten Studien wurde darauf jedoch nicht in ausreichendem Maße Rücksicht genommen.

Abschließend lässt sich festhalten, dass ein Mangel an Forschung und ausreichendem Verständnis bezüglich der Auswirkungen häufig zur Anwendung kommender Antibiotika in Hinblick auf das adulte Darmmikrobiom besteht. In diesem Bereich besteht Bedarf an Kohortenstudien mit großen, möglichst homogenen Studienpopulationen und standardisierter Methodik, um taxonomische Veränderungen genauer zu definieren und langfristige Auswirkungen auf das Mikrobiom und die Gesundheit erfassen zu können. Besondere Bedeutung dürfte hierbei in Zukunft der funktionellen Untersuchung des Mikrobioms und seiner Metabolite zukommen, welche dabei helfen werden die Pathophysiologie einer Dysbiose-assoziierten Krankheitsentstehung besser zu verstehen.

Die Erkenntnisse dieser Arbeit betonen die Bedeutung einer restriktiven und angemessenen Verwendung von Antibiotika, auch im Erwachsenenalter.

## 5 Literaturverzeichnis

1. Stallmach A, Vehreschild MJGT. Mikrobiom: Wissensstand und Perspektiven. Berlin, Boston: De Gruyter; 2016.
2. Messmann H. Klinische Gastroenterologie. 2., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2021.
3. Stange E. Intestinales Mikrobiom und Innere Medizin. Bremen ; London ; Boston: UNI-MED Science; 2021.
4. Beule AG. Das Mikrobiom – die unplanbare Größe zukünftiger Therapien. Laryngorhinootologie. 2018;97(S 01):S279-S311.
5. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Nageshwar Reddy D. Role of the normal gut microbiota. World J Gastroenterol. 2015;21(29):8787-803.
6. Fishbein SRS, Mahmud B, Dantas G. Antibiotic perturbations to the gut microbiome. Nat Rev Microbiol. 2023.
7. Suerbaum S, Burchard GD, Kaufmann SHE, Schulz TF. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. 9., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage. Berlin: Springer; 2020.
8. Madigan MT, Bender KS, Buckley DH, Sattley WM; Stahl DA. Brock Mikrobiologie. München: Pearson Studium; 2020.
9. Hof H, Schlüter D. Duale Reihe Medizinische Mikrobiologie. 8., unveränderte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2022.
10. Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggiano GAD, Gasbarrini A, Mele MC. What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. Microorganisms. 2019;7(1).
11. Beckmann G, Ruffer A. Mikroökologie des Darmes. Bad Bocklet/Großenbrach: Labor LS SE & Co. KG; 2019.
12. Munk K, Dersch P, Eikmanns B, Eikmanns M, Fischer R. Taschenlehrbuch Biologie: Mikrobiologie. 2., unveränderte Auflage. Stuttgart ; New York: Georg Thieme Verlag KG; 2018.
13. Adak A, Khan MR. An insight into gut microbiota and its functionalities. Cell Mol Life Sci. 2019;76(3):473-93.
14. Lopetuso LR, Scaldaferrri F, Petito V, Gasbarrini A. Commensal Clostridia: leading players in the maintenance of gut homeostasis. Gut Pathog. 2013;5(1):23.

15. Donaldson GP, Lee SM, Mazmanian SK. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14(1):20-32.
16. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature.* 2011;473(7346):174-80.
17. Yatsunenkov T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature.* 2012;486(7402):222-7.
18. He Y, Wu W, Zheng HM, Li P, McDonald D, Sheng HF, et al. Regional variation limits applications of healthy gut microbiome reference ranges and disease models. *Nat Med.* 2018;24(10):1532-5.
19. Gaulke CA, Sharpton TJ. The influence of ethnicity and geography on human gut microbiome composition. *Nat Med.* 2018;24(10):1495-6.
20. Mohajeri MH, Brummer RJM, Rastall RA, Weersma RK, Harmsen HJM, Faas M, Eggersdorfer M. The role of the microbiome for human health: from basic science to clinical applications. *Eur J Nutr.* 2018;57(Suppl 1):1-14.
21. Sun L, Xie C, Wang G, Wu Y, Wu Q, Wang X, et al. Gut microbiota and intestinal FXR mediate the clinical benefits of metformin. *Nat Med.* 2018;24(12):1919-29.
22. Wu H, Esteve E, Tremaroli V, Khan MT, Caesar R, Mannerås-Holm L, et al. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naive type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. *Nat Med.* 2017;23(7):850-8.
23. Wan Y, Zuo T. Interplays between drugs and the gut microbiome. *Gastroenterol Rep (Oxf).* 2022;10:goac009.
24. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J.* 2017;474(11):1823-36.
25. Seon-Kyun K, It, sup, gt, It, sup, et al. Role of Probiotics in Human Gut Microbiome-Associated Diseases. *J Microbiol Biotechnol.* 2019;29(9):1335-40.
26. Markowiak P, Śliżewska K. Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients.* 2017;9(9).
27. Ruan W, Engevik MA, Spinler JK, Versalovic J. Healthy Human Gastrointestinal Microbiome: Composition and Function After a Decade of Exploration. *Dig Dis Sci.* 2020;65(3):695-705.
28. Lazar V, Ditu LM, Pircalabioru GG, Gheorghe I, Curutiu C, Holban AM, et al. Aspects of Gut Microbiota and Immune System Interactions in Infectious Diseases, Immunopathology, and Cancer. *Front Immunol.* 2018;9:1830.

29. DeGruttola AK, Low D, Mizoguchi A, Mizoguchi E. Current Understanding of Dysbiosis in Disease in Human and Animal Models. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22(5):1137-50.
30. Ramirez J, Guarner F, Bustos Fernandez L, Maruy A, Sdepanian VL, Cohen H. Antibiotics as Major Disruptors of Gut Microbiota. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:572912.
31. Mutschler E, Geisslinger G, Menzel S, Gudermann T, Hinz B, Ruth P. Mutschler Arzneimittelwirkungen: Pharmakologie - Klinische Pharmakologie - Toxikologie. 11., völlig neu bearbeitete Auflage. Stuttgart: wvg - Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; 2020.
32. Aktories K, Förstermann U, Hofmann FB, Starke K. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 12. Auflage. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2017.
33. Patangia DV, Anthony Ryan C, Dempsey E, Paul Ross R, Stanton C. Impact of antibiotics on the human microbiome and consequences for host health. *Microbiologyopen.* 2022;11(1):e1260.
34. Willing BP, Russell SL, Finlay BB. Shifting the balance: antibiotic effects on host-microbiota mutualism. *Nat Rev Microbiol.* 2011;9(4):233-43.
35. Iizumi T, Battaglia T, Ruiz V, Perez Perez GI. Gut Microbiome and Antibiotics. *Arch Med Res.* 2017;48(8):727-34.
36. Macfarlane S. Antibiotic treatments and microbes in the gut. *Environ Microbiol.* 2014;16(4):919-24.
37. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology (Reading).* 2010;156(Pt 11):3216-23.
38. Lange K, Buerger M, Stallmach A, Bruns T. Effects of Antibiotics on Gut Microbiota. *Dig Dis.* 2016;34(3):260-8.
39. Dudek-Wicher RK, Junka A, Bartoszewicz M. The influence of antibiotics and dietary components on gut microbiota. *Prz Gastroenterol.* 2018;13(2):85-92.
40. Francino MP. Antibiotics and the Human Gut Microbiome: Dysbioses and Accumulation of Resistances. *Front Microbiol.* 2015;6:1543.
41. Hurkacz M, Dobrek L, Wiela-Hojeńska A. Antibiotics and the Nervous System- Which Face of Antibiotic Therapy Is Real, Dr. Jekyll (Neurotoxicity) or Mr. Hyde (Neuroprotection)? *Molecules.* 2021;26(24).

42. Dinan K, Dinan T. Antibiotics and mental health: The good, the bad and the ugly. *J Intern Med.* 2022;292(6):858-69.
43. Modi SR, Collins JJ, Relman DA. Antibiotics and the gut microbiota. *J Clin Invest.* 2014;124(10):4212-8.
44. Resistenzbericht Österreich – AURES 2021. Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz (BMSGPK); 2023.
45. Beubler E. *Kompendium der Pharmakologie.* 4. Auflage. Berlin: Springer Berlin; 2017.
46. Kabbani TA, Pallav K, Dowd SE, Villafuerte-Galvez J, Vanga RR, Castillo NE, et al. Prospective randomized controlled study on the effects of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 and amoxicillin-clavulanate or the combination on the gut microbiota of healthy volunteers. *Gut Microbes.* 2017;8(1):17-32.
47. Forssten S, Evans M, Wilson D, Ouwehand AC. Influence of a probiotic mixture on antibiotic induced microbiota disturbances. *World J Gastroenterol.* 2014;20(33):11878-85.
48. Mangin I, Lévêque C, Magne F, Suau A, Pochart P. Long-term changes in human colonic *Bifidobacterium* populations induced by a 5-day oral amoxicillin-clavulanic acid treatment. *PLoS One.* 2012;7(11):e50257.
49. Young VB, Schmidt TM. Antibiotic-associated diarrhea accompanied by large-scale alterations in the composition of the fecal microbiota. *J Clin Microbiol.* 2004;42(3):1203-6.
50. MacPherson CW, Mathieu O, Tremblay J, Champagne J, Nantel A, Girard SA, Tompkins TA. Gut Bacterial Microbiota and its Resistome Rapidly Recover to Basal State Levels after Short-term Amoxicillin-Clavulanic Acid Treatment in Healthy Adults. *Sci Rep.* 2018;8(1):11192.
51. Lode H, Von der Höh N, Ziege S, Borner K, Nord CE. Ecological effects of linezolid versus amoxicillin/clavulanic acid on the normal intestinal microflora. *Scand J Infect Dis.* 2001;33(12):899-903.
52. Matute AJ, Schurink CA, Krijnen RM, Florijn A, Rozenberg-Arska M, Hoepelman IM. Double-blind, placebo-controlled study comparing the effect of azithromycin with clarithromycin on oropharyngeal and bowel microflora in volunteers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2002;21(6):427-31.

53. Kang K, Imamovic L, Misiakou MA, Bornakke Sørensen M, Heshiki Y, Ni Y, et al. Expansion and persistence of antibiotic-specific resistance genes following antibiotic treatment. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1-19.
54. Anthony WE, Wang B, Sukhum KV, D'Souza AW, Hink T, Cass C, et al. Acute and persistent effects of commonly used antibiotics on the gut microbiome and resistome in healthy adults. *Cell Rep*. 2022;39(2):110649.
55. Choo JM, Martin AM, Taylor SL, Sun E, Mobegi FM, Kanno T, et al. The Impact of Long-Term Macrolide Exposure on the Gut Microbiome and Its Implications for Metabolic Control. *Microbiol Spectr*. 2023;11(4):e0083123.
56. Rashid MU, Panagiotidis G, Bäckström T, Weintraub A, Nord CE. Ecological impact of doxycycline at low dose on normal oropharyngeal and intestinal microflora. *Int J Antimicrob Agents*. 2013;41(4):352-7.
57. Heimdahl A, Nord CE. Influence of doxycycline on the normal human flora and colonization of the oral cavity and colon. *Scand J Infect Dis*. 1983;15(3):293-302.
58. Kho ZY, Lal SK. The Human Gut Microbiome - A Potential Controller of Wellness and Disease. *Front Microbiol*. 2018;9:1835.
59. Ianiro G, Tilg H, Gasbarrini A. Antibiotics as deep modulators of gut microbiota: between good and evil. *Gut*. 2016;65(11):1906-15.
60. Seelbinder B, Chen J, Brunke S, Vazquez-Urbe R, Santhaman R, Meyer AC, et al. Antibiotics create a shift from mutualism to competition in human gut communities with a longer-lasting impact on fungi than bacteria. *Microbiome*. 2020;8(1):133.
61. Shan Y, Lee M, Chang EB. The Gut Microbiome and Inflammatory Bowel Diseases. *Annu Rev Med*. 2022;73:455-68.
62. Gubatan J, Boye TL, Temby M, Sojwal RS, Holman DR, Sinha SR, et al. Gut Microbiome in Inflammatory Bowel Disease: Role in Pathogenesis, Dietary Modulation, and Colitis-Associated Colon Cancer. *Microorganisms*. 2022;10(7).
63. Faye AS, Allin KH, Iversen AT, Agrawal M, Faith J, Colombel JF, Jess T. Antibiotic use as a risk factor for inflammatory bowel disease across the ages: a population-based cohort study. *Gut*. 2023;72(4):663-70.
64. Shaw SY, Blanchard JF, Bernstein CN. Association between the use of antibiotics and new diagnoses of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(12):2133-42.

65. Ghaffari P, Shoaie S, Nielsen LK. Irritable bowel syndrome and microbiome; Switching from conventional diagnosis and therapies to personalized interventions. *J Transl Med.* 2022;20(1):173.
66. Shaikh SD, Sun N, Canakis A, Park WY, Weber HC. Irritable Bowel Syndrome and the Gut Microbiome: A Comprehensive Review. *J Clin Med.* 2023;12(7).
67. Menees S, Chey W. The gut microbiome and irritable bowel syndrome. *F1000Res.* 2018;7.
68. Villarreal AA, Aberger FJ, Benrud R, Gundrum JD. Use of broad-spectrum antibiotics and the development of irritable bowel syndrome. *Wmj.* 2012;111(1):17-20.
69. Krosgaard LR, Engsbro AL, Bytzer P. Antibiotics: a risk factor for irritable bowel syndrome in a population-based cohort. *Scand J Gastroenterol.* 2018;53(9):1027-30.
70. Leong KSW, Derraik JGB, Hofman PL, Cutfield WS. Antibiotics, gut microbiome and obesity. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2018;88(2):185-200.
71. Abenavoli L, Scarpellini E, Colica C, Boccuto L, Salehi B, Sharifi-Rad J, et al. Gut Microbiota and Obesity: A Role for Probiotics. *Nutrients.* 2019;11(11).
72. Furlong M, Deming-Halverson S, Sandler DP. Chronic antibiotic use during adulthood and weight change in the Sister Study. *PLoS One.* 2019;14(5):e0216959.
73. Nuotio J, Niiranen T, Laitinen TT, Miller J, Sabin MA, Havulinna AS, et al. Use of antibiotics and risk of type 2 diabetes, overweight and obesity: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study and the national FINRISK study. *BMC Endocr Disord.* 2022;22(1):284.