


FISH-Analyse

der mukosalen Flora mit ribosomalen Proben



Eub338
Alf1b
Beta42a
Gam42a
Ebac
Ec1531
Y16s-69
Srb385
Sgd
Hpy-1
Arc1430
HGC
LGC
Sfb
Erec
Lach
Ehal
Chis150
Clit135
Lab158
Stre493
Enc131
Efaec
Ato291
Cor653
Ecy1
Phasco
Veil
Rbro, Rfla
UroA, UroB
Ser1410
Bif164
CF319a
Bac303
Bfra602
Bdis656
Fprau
Dss658
Arch915

The image shows a complex, branching structure of a biological sample, likely a microbial community, under fluorescence microscopy. The structure is primarily composed of orange and red fluorescent filaments and clusters. The background is dark, making the fluorescent structures stand out. The orange structures are more prominent and form a dense, interconnected network, while the red structures are more scattered and appear as smaller, distinct clusters or filaments.

**Gleichzeitige Anwendung
unterschiedlich markierter
Proben zur Charakterisierung
der Struktur und
Zusammensetzung**

***Bacteroides* - orange**

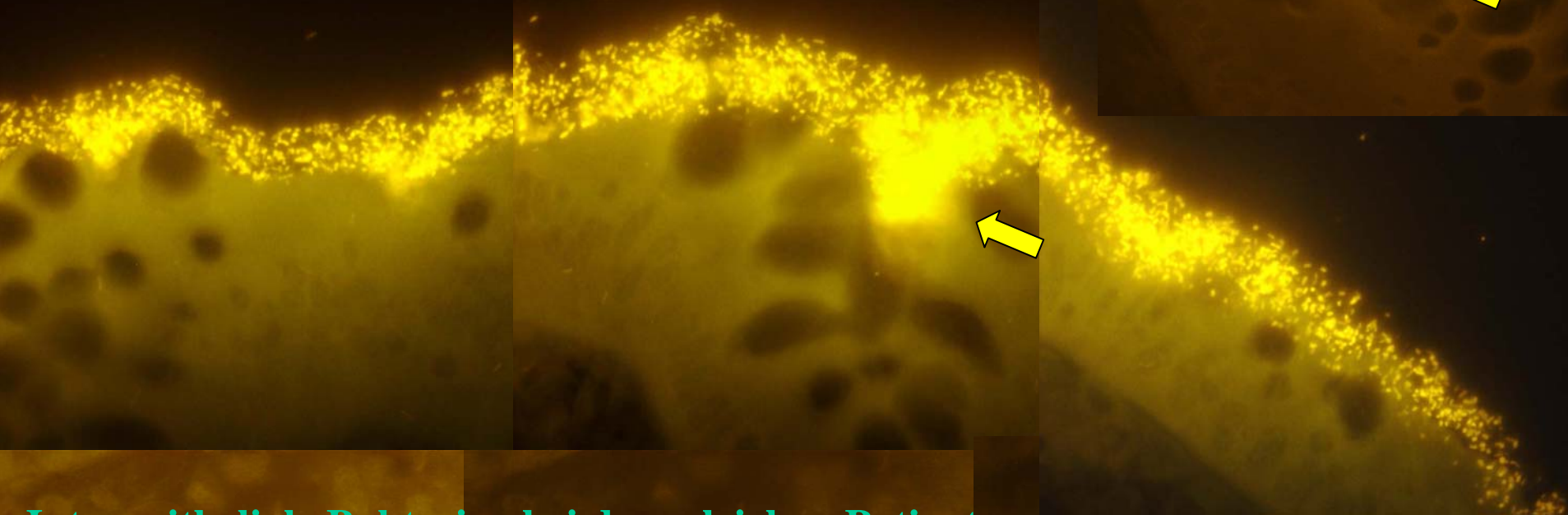
Erec - rot

	MC	UC	Sle- colitis	IBS	Normal controls	IBD on antibiotics
	N=20	N=20	N=20	N=20	N=20	N=10
weibl/männl	9/11	11/9	8/12	14/6	13/7	6/4
Alter	32.5	44.4	37.3	47.8	46.2	39.1
5-ASA	5	16	-	-	-	8
Prednisolon	12	8	-	-	-	8

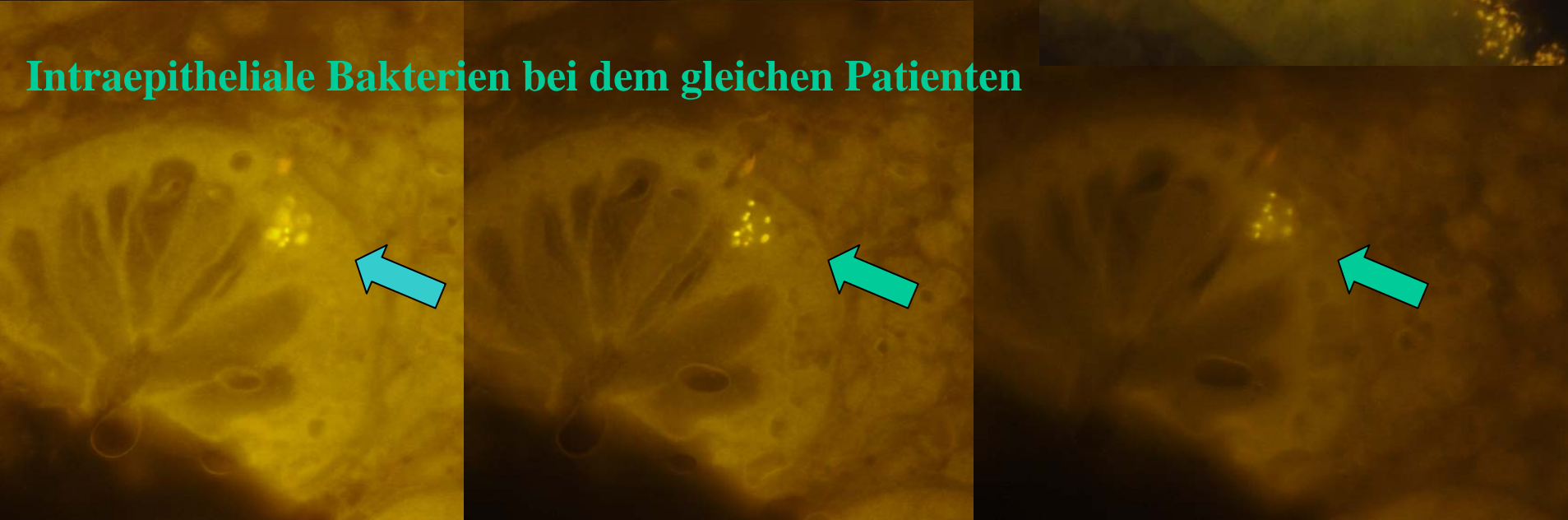
**gesunde
Dickdarm-Wand**



Dichter *Bacteroides fragilis* Biofilm bedeckt die Mukosaoberfläche, Patient mit M. Crohn



Intraepitheliale Bakterien bei dem gleichen Patienten



**10 Bakterien in einem Quadrat-Zentimeter
entsprechen Konzentrationen von 10^9 /ml**

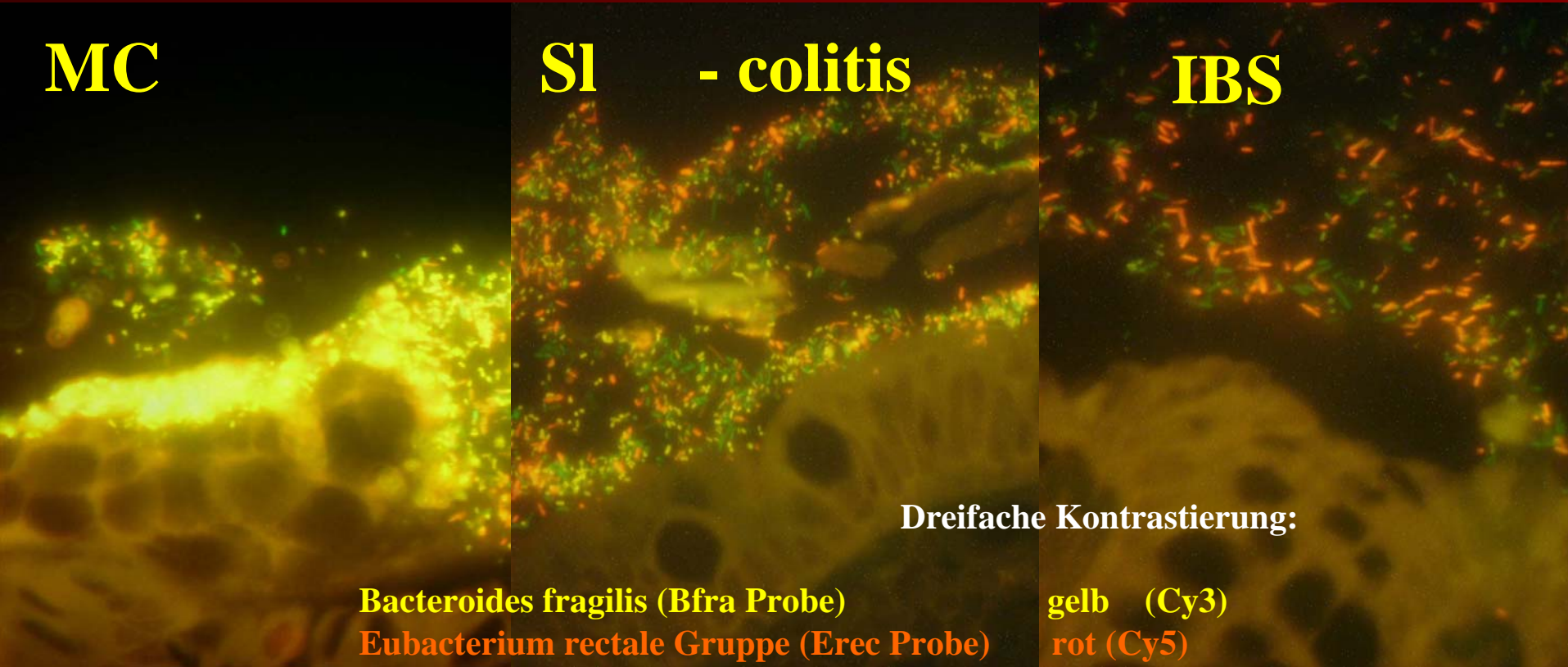


	MC	UC	SI- Colitis	IBS	Kontrollen	IBD an Antibiotika
Mukosale Bakterien in Konzentrationen von über 10^9/ml	95%	90%	95%	65%	35%	0(3)
Mittlere Konzentrationen mukosaler Bakterien $\times 10^{10}$/ml	9,1	0,26	0,31	0,09	0,02	0,02
Prozent der epithelialen Oberfläche zgedeckt vom Biofilm	52%	35%	14%	<5%	<5%	-

MC

SI - colitis

IBS



Dreifache Kontrastierung:

Bacteroides fragilis (Bfra Probe)

Eubacterium rectale Gruppe (Erec Probe)

Alle anderen Bakterien (Eub338)

gelb (Cy3)

rot (Cy5)

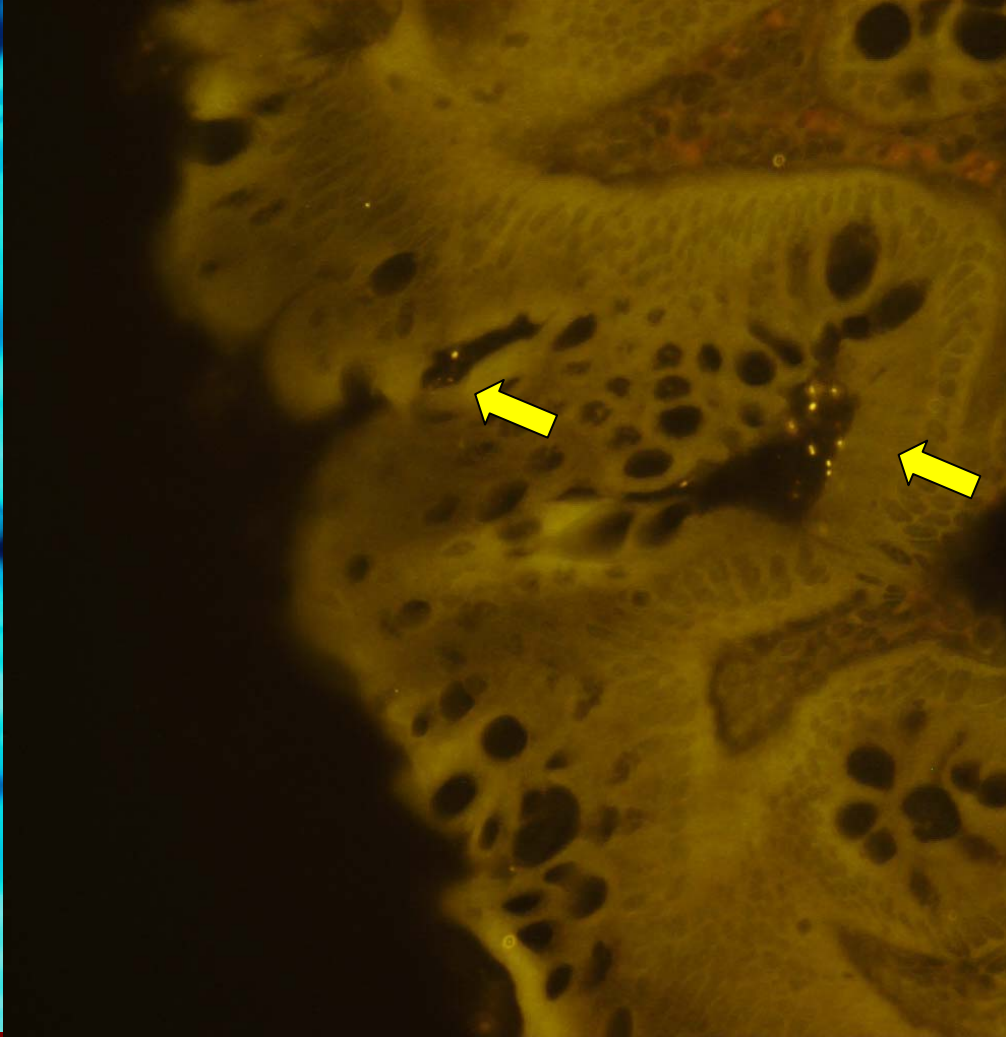
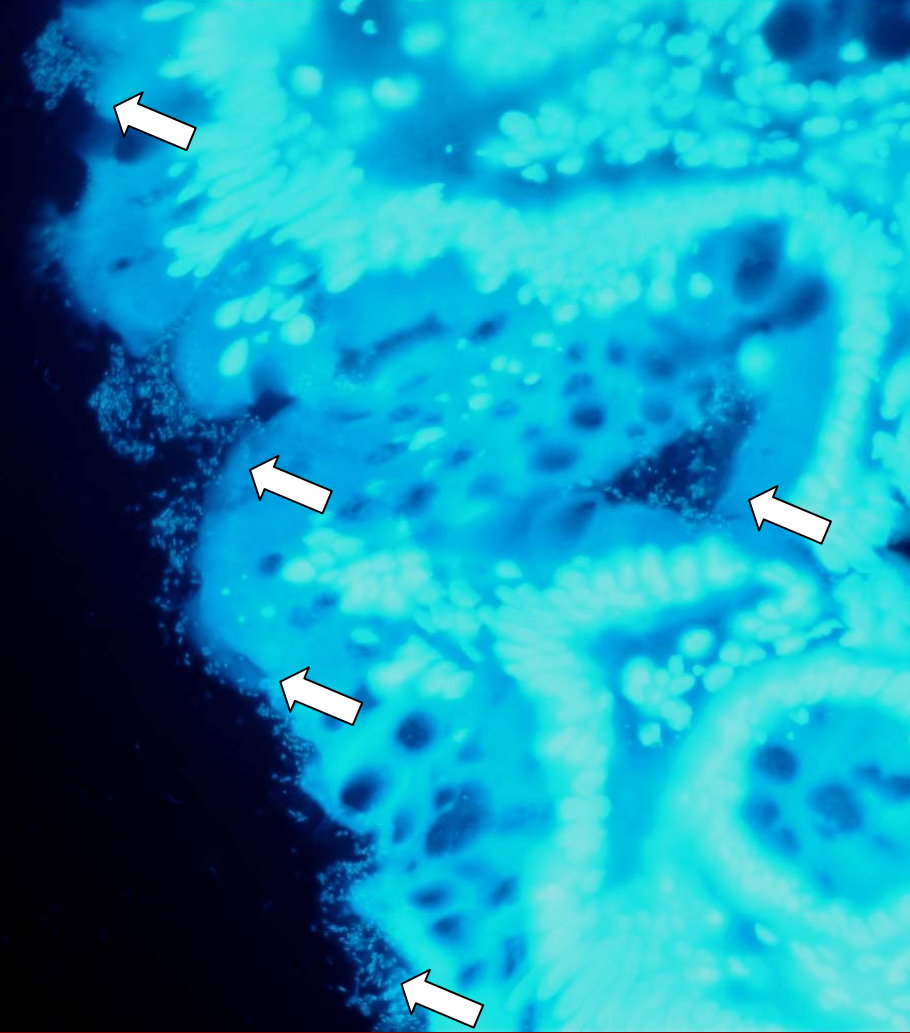
grün (FITC)

Anteil im Biofilm	MC	UC	slc colitis	IBS	Kontrollen
Bfra	60%	30%	31%	14%	16%
Erec	10%	5%	18%	48%	32%

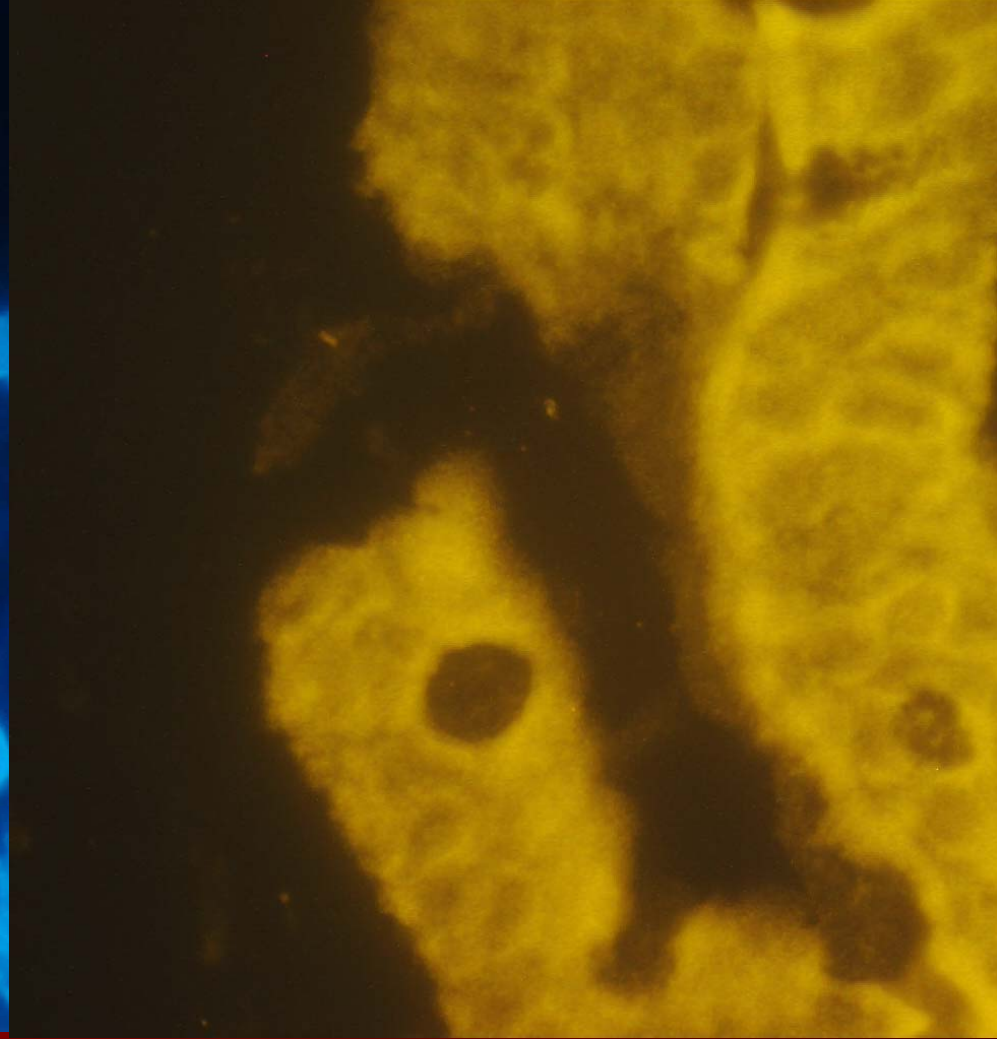
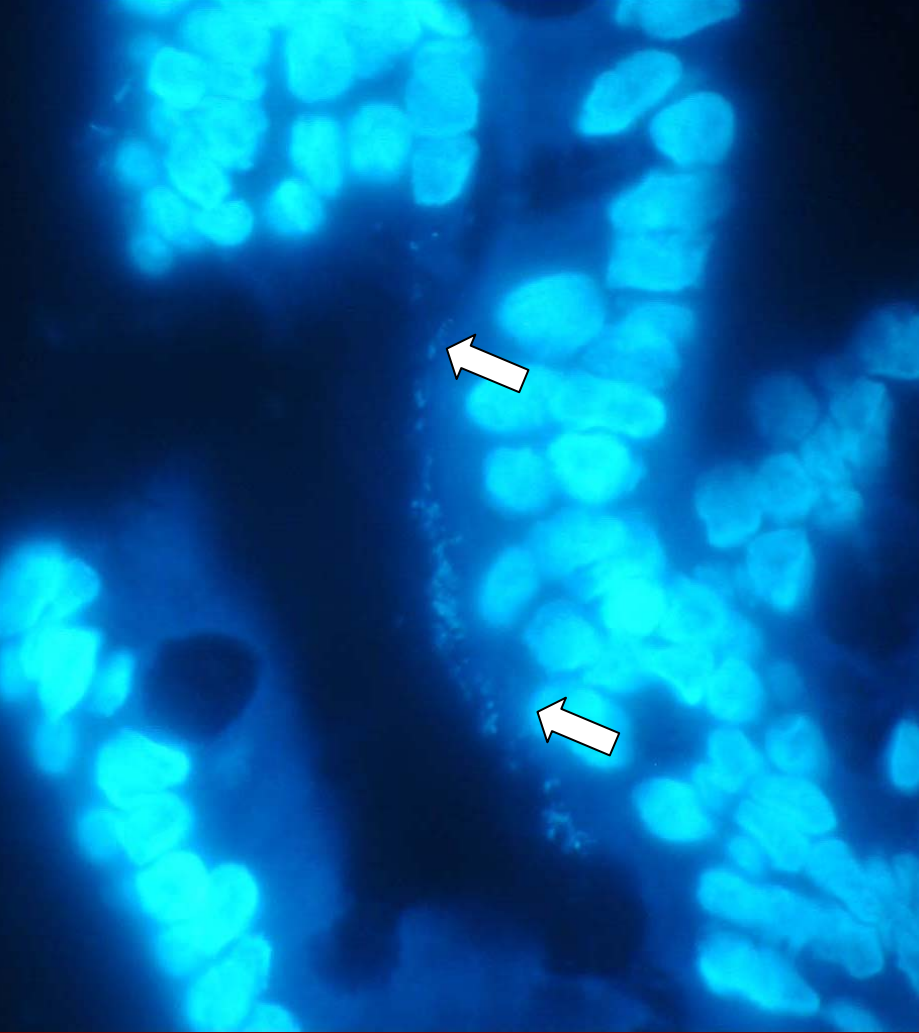
Nachweishäufigkeit bestimmter Bakteriengruppen:

Immer	bis zu 80%	40-60%	20-40%	bei einzelnen Patienten
<u>Erec</u> <u>Bac(Bfra)</u> Bdis <u>Fprau</u>	Ato/Cor Str <u>Efaec</u>	<u>Ebac (Ec)</u> Rbro Bif LGC Ecyl HGC Phasco Ehal	Chis150 Lach Rfla Strc Enc Arc CF	<u>Ser</u> Clit UroA UroB Veil Lab

adherente Bakterien

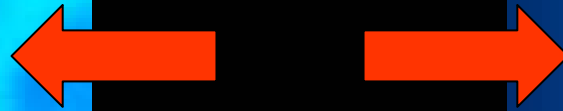


Sigmabiopsie, Patient mit Colitis ulcerosa unter Salofalk Therapie (3g oral und 4 g in Einläufen). Dapi Färbung zeigt einen für M.Crohn typischen Biofilm. Der Biofilm läßt sich mit FISH nicht darstellen. Nur einzelne Bakterien in Krypten hybridisieren mit der universellen FISH Probe.



Biopsie aus Colon asc. Patient mit M. Crohn ein Tag nach Beginn der antibiotischen Therapie mit Metronidazol und Ciprofloxacin. Der bakterielle Biofilm ist teilweise erhalten und sichtbar in DAPI-Färbung, jedoch absolut stumm bei Hybridisierung mit FISH-Proben (Eub 338).

**Der Biofilm
verschwindet
nach Fixierung
mit Formalin
(Dapi)**



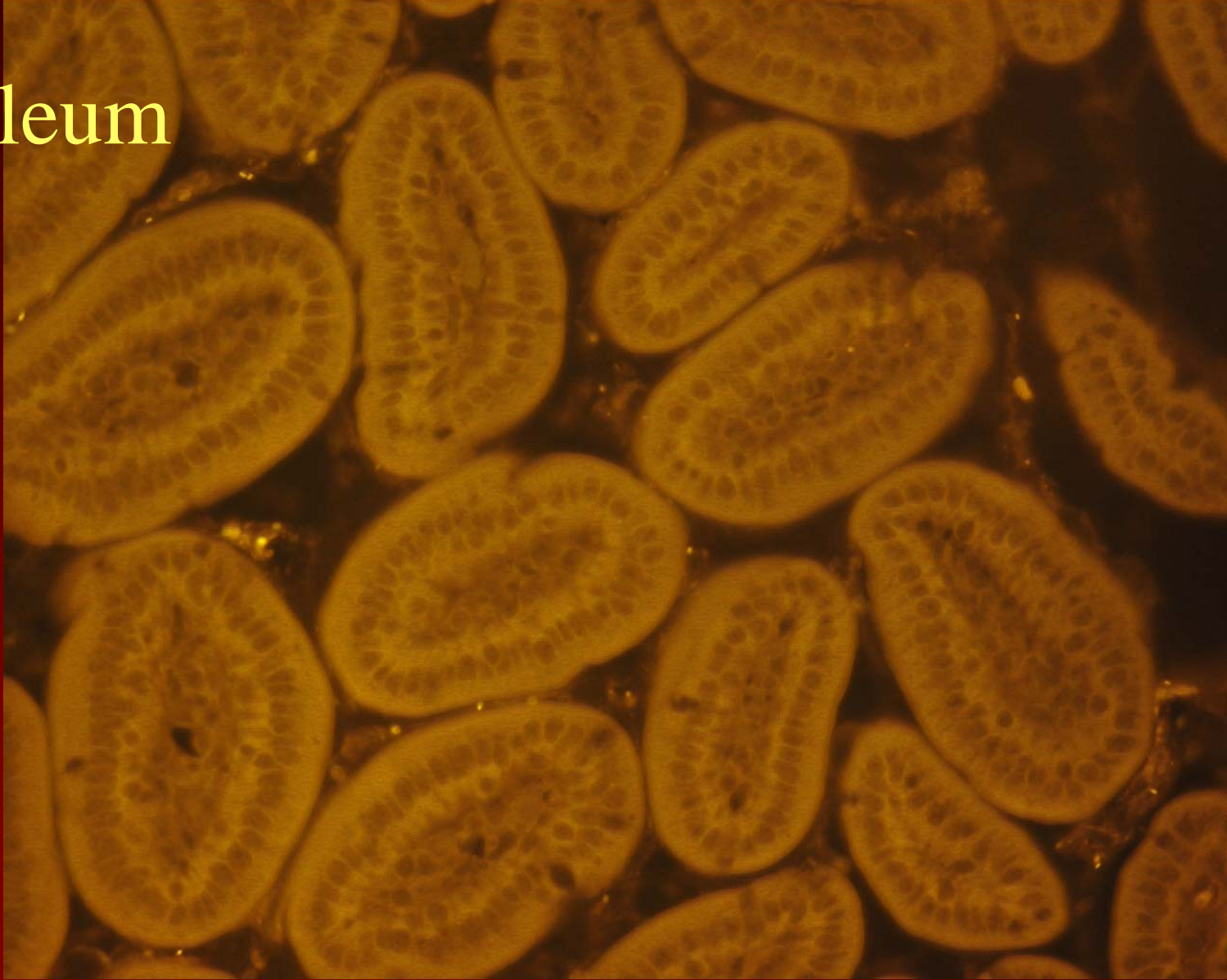
Carnoy Formalin

Der gleiche Patient
und die gleiche
Lokalisation,
M. Crohn

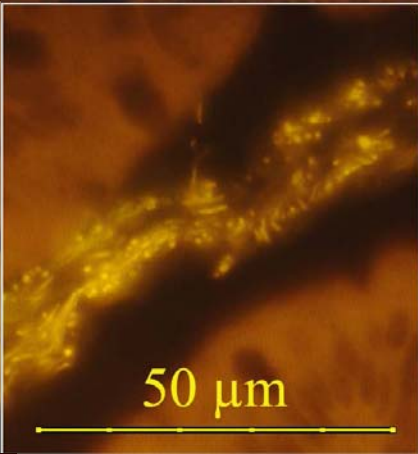
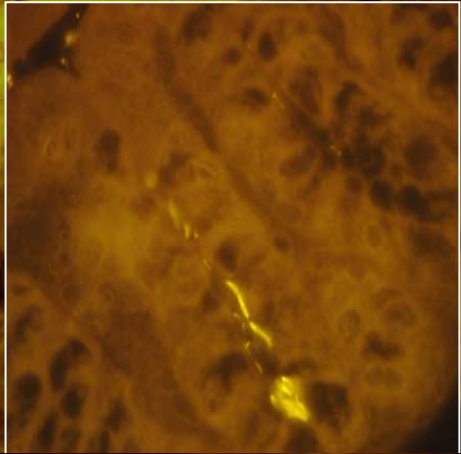
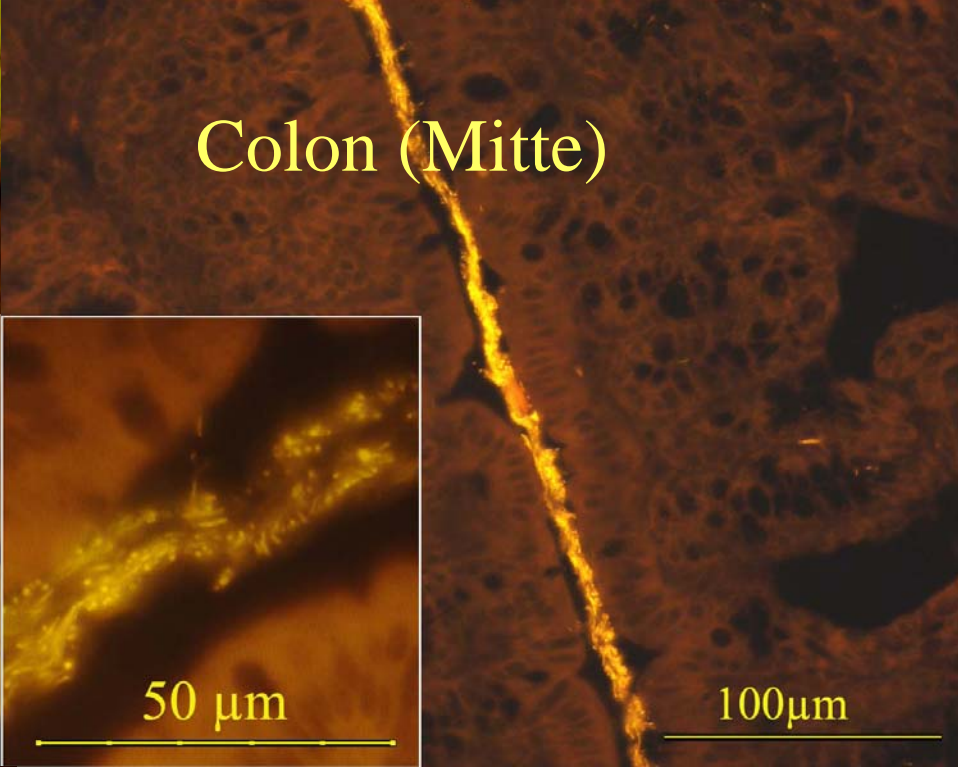
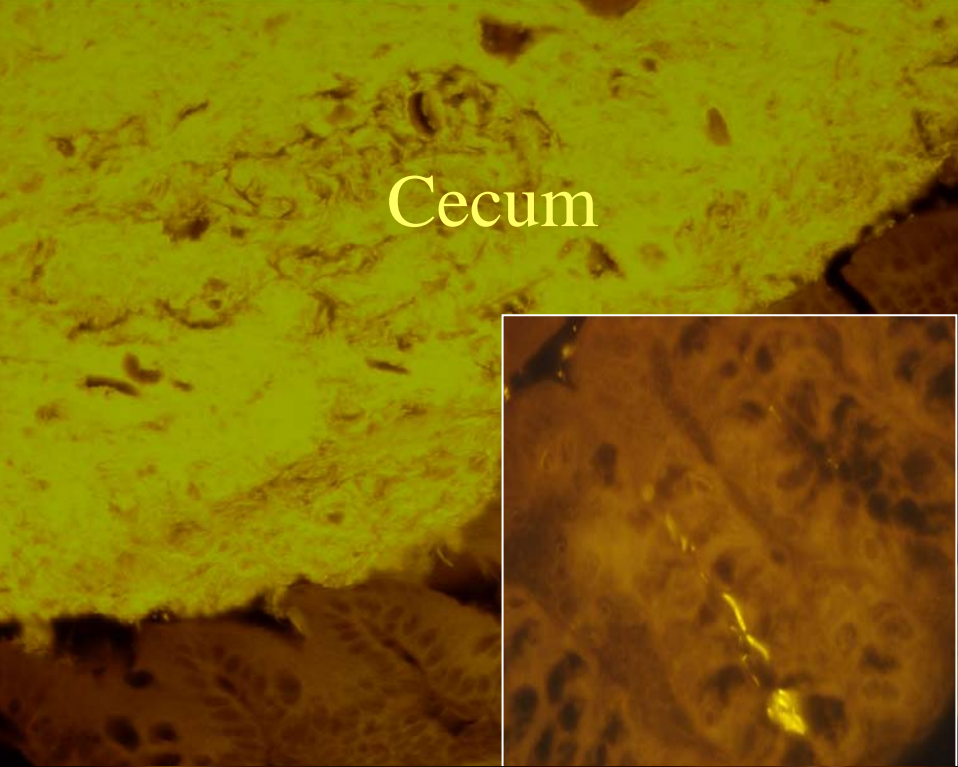
Tiere

- **C57BL/6J Mäuse**
- **Il-10 Knock-out Mäuse vor und**
- **nach der Entwicklung einer spontanen Colitis**
- **C57BL/6J Mäuse mit chemisch induzierter DSS Colitis**
- **RAG Mäuse mit und ohne Effektor Zellen**

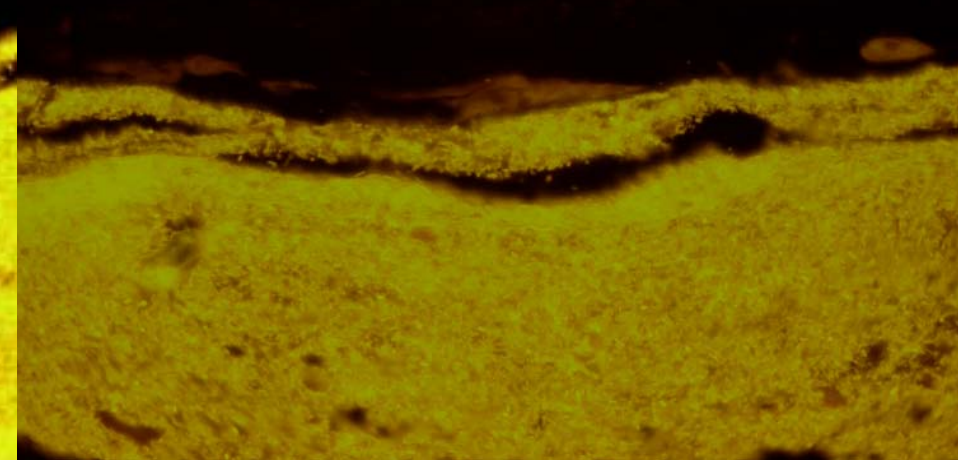
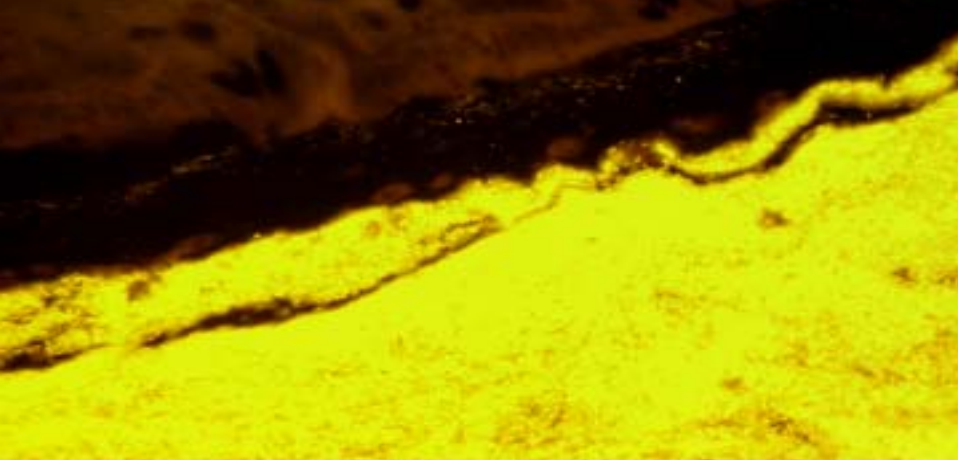
Ileum



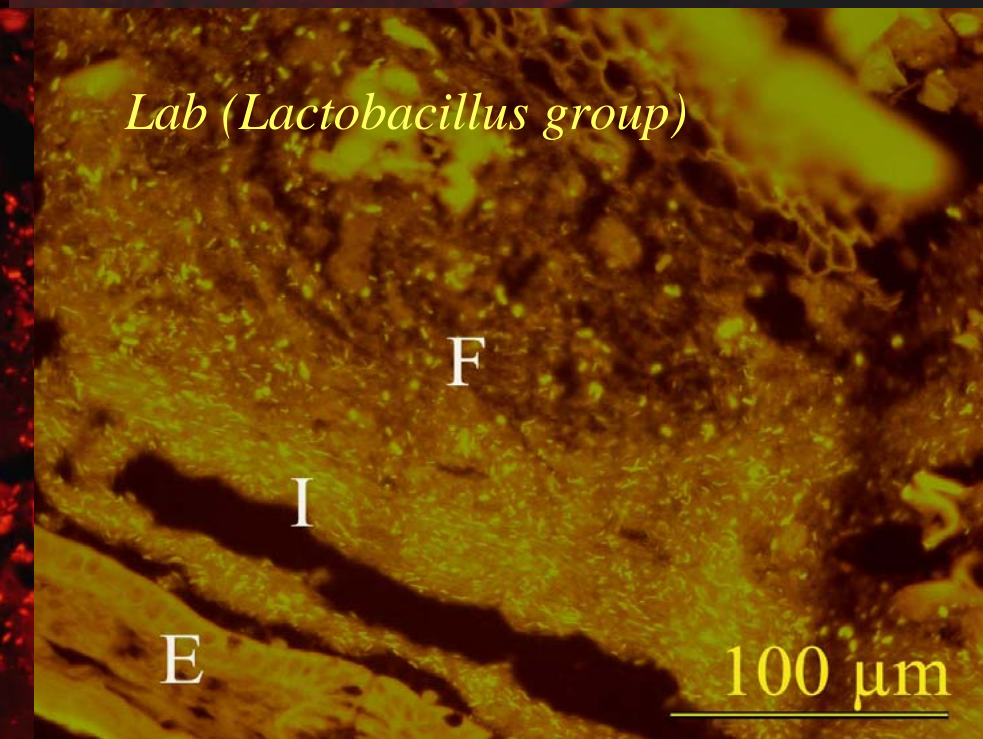
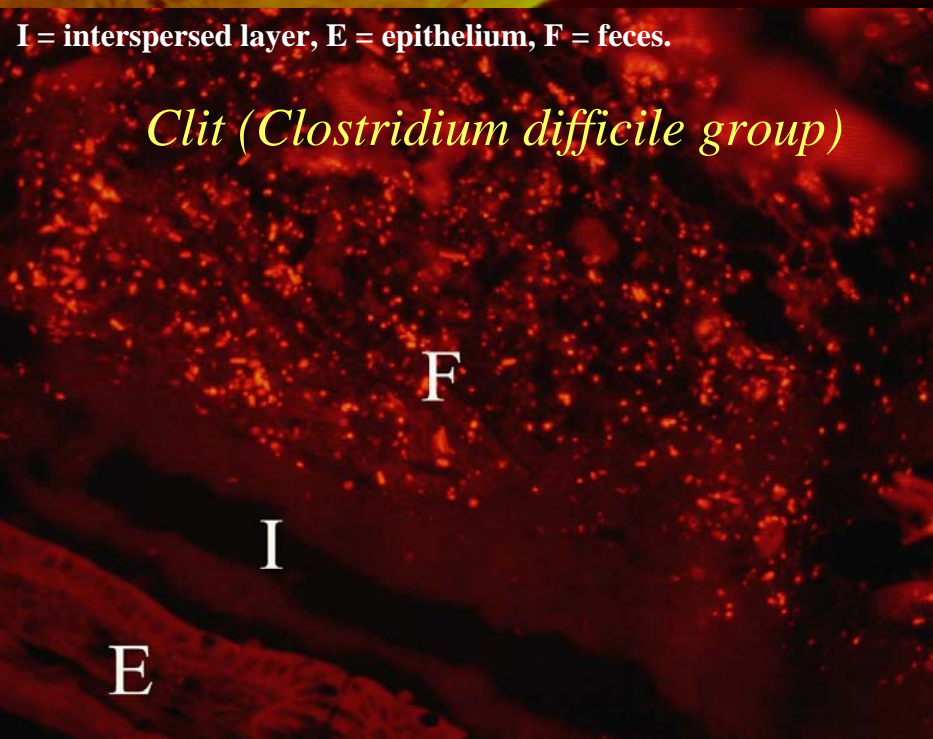
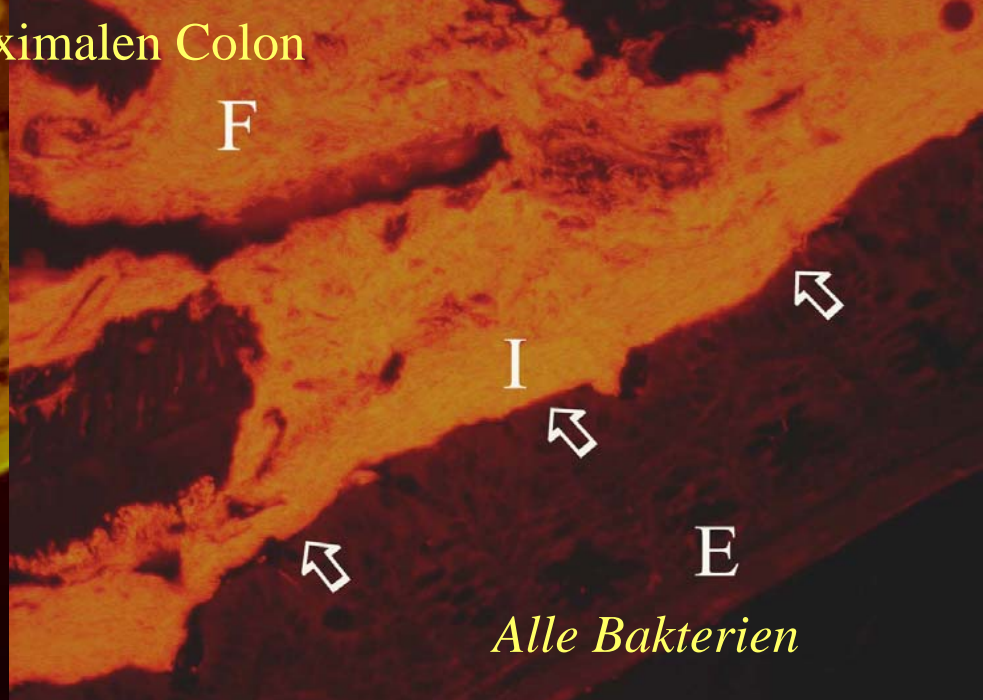
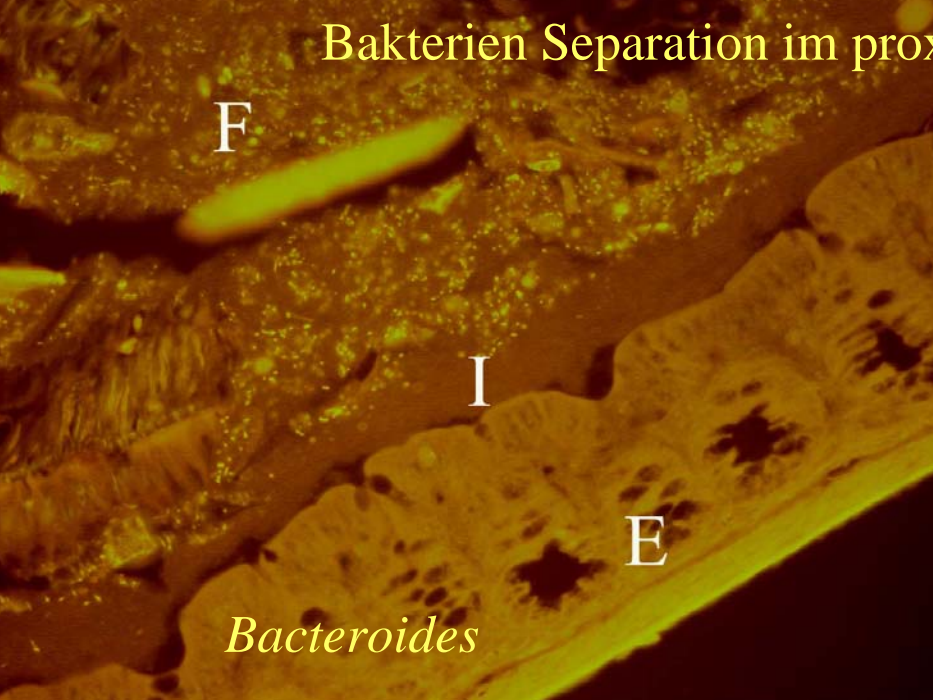
Keine relevante Bakterienzahlen im Ileum aller Maus-Gruppen



Mucus trennt vollständig fäkale Bakterien von der Mukosa
im dist. Colon und Rectum



Bakterien Separation im proximalen Colon





Phasco und EREC

EREC

Lach

Phasco

Alpha

Lab

Ehal

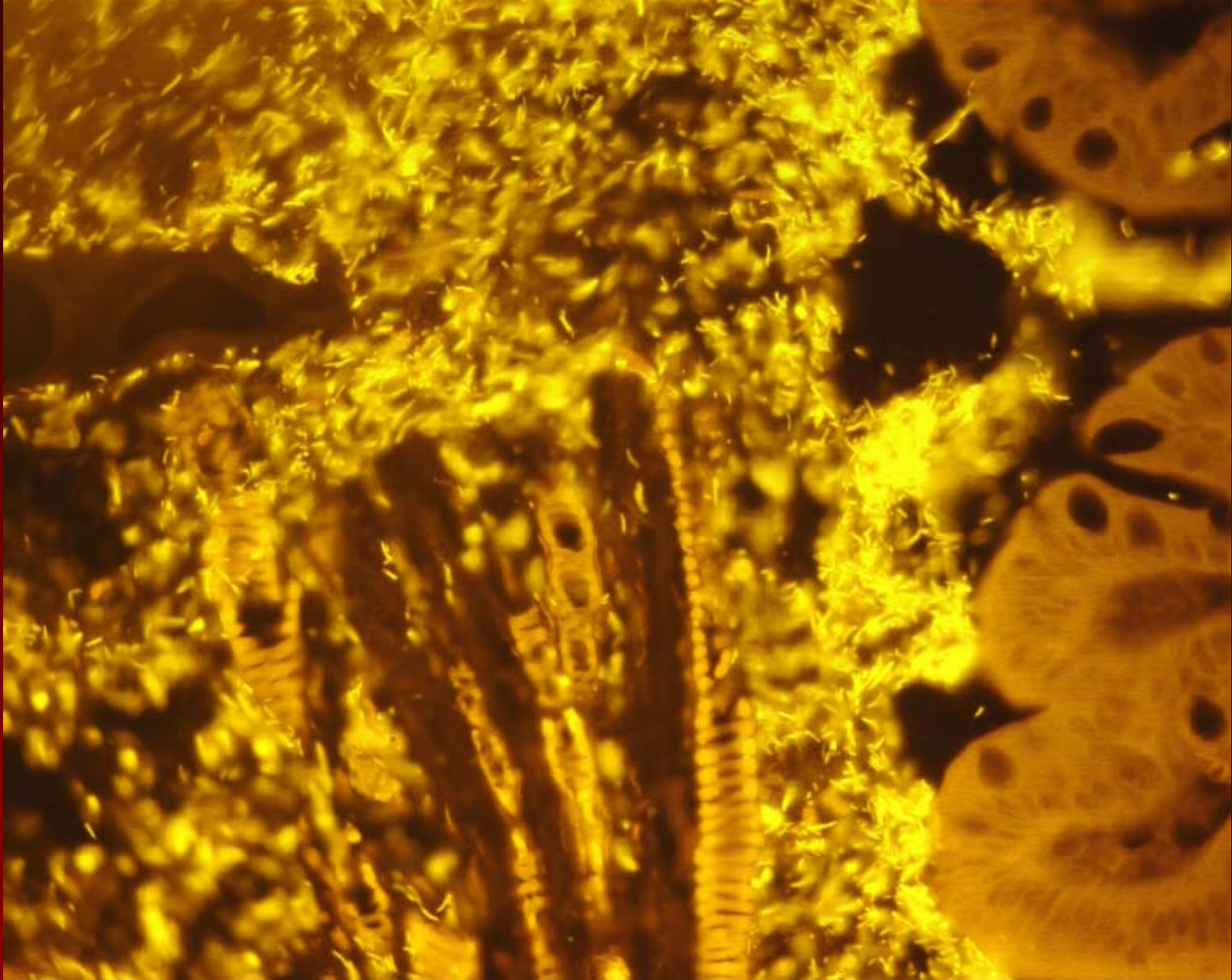


Lach

Zusammensetzung der Separationsschicht

Veränderungen bei Colitis

Suppression der fäkalen Flora

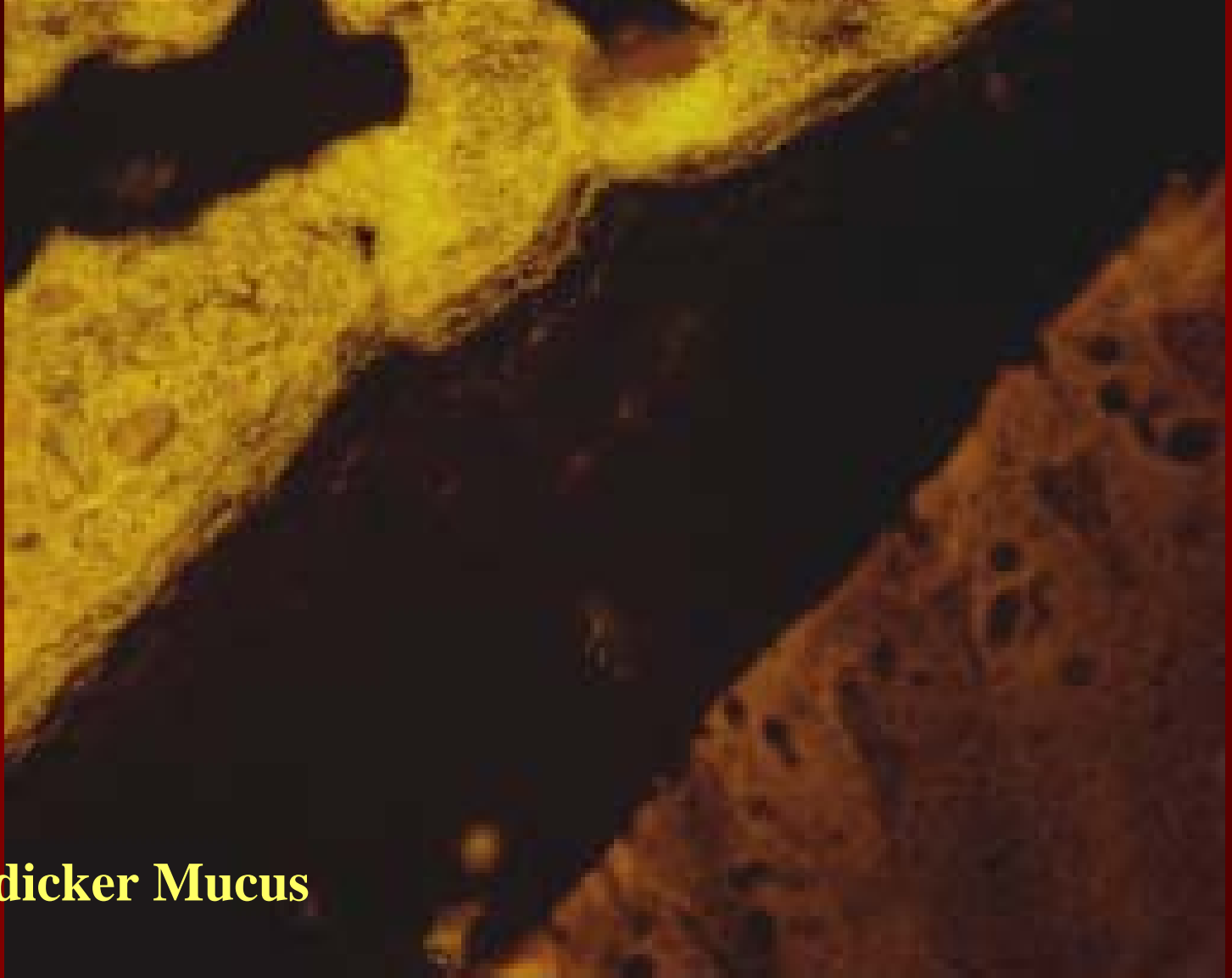


**Niedrige Bakterienkonzentrationen in Feces,
beginnende Mukustrennung schon im Zökum**

Veränderungen bei Colitis

Suppression der fäkalen Flora

Verstärkte mechanische Trennung der Bakterien von der Darmwand durch Mucus



Extrem dicker Mucus

Veränderungen bei Colitis

Suppression der fäkalen Flora

Verstärkte mechanische Trennung der Bakterien von der Darmwand durch Mucus

Veränderte Bakterienseparation, Zunahme von Bakterien in den Krypten



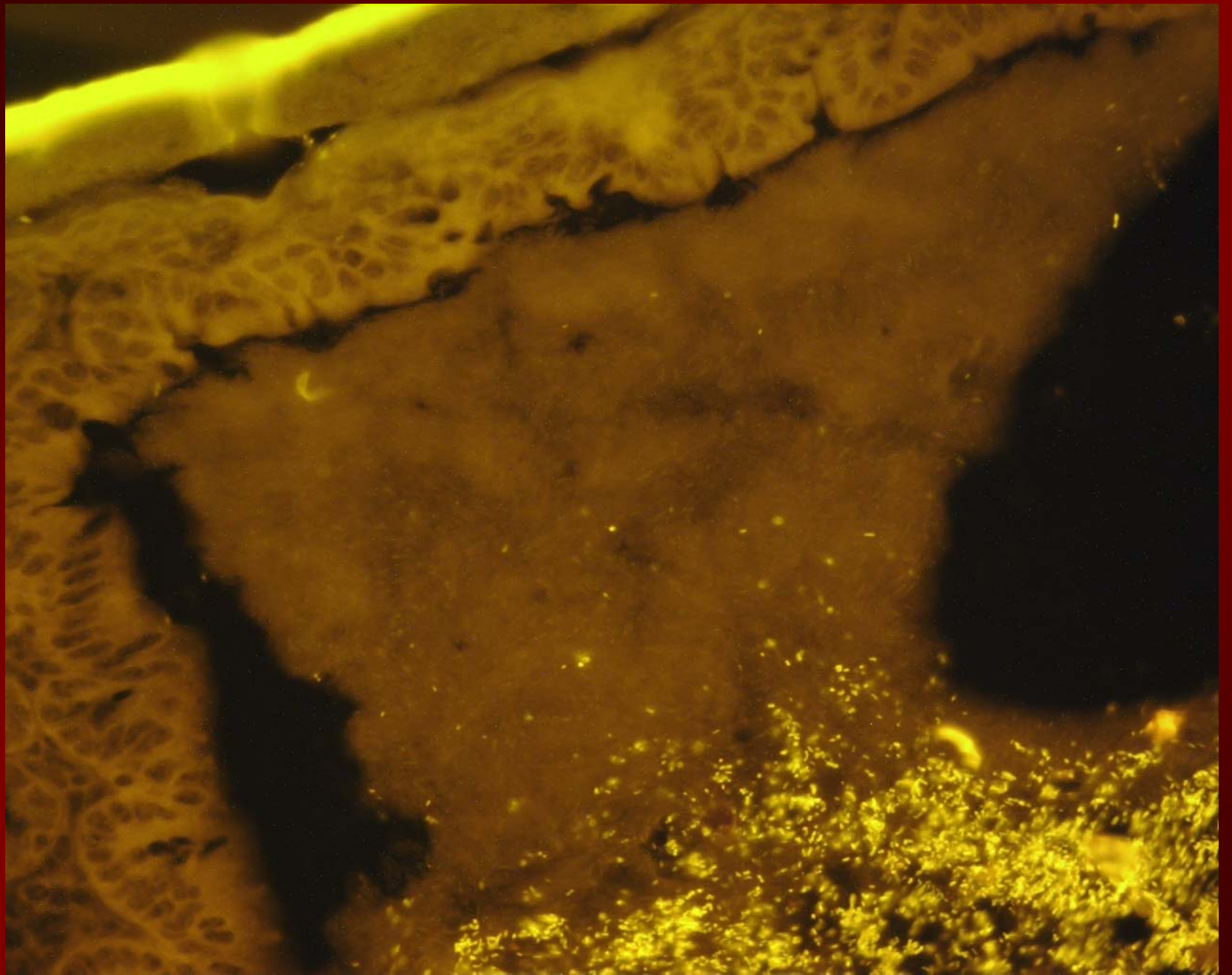
Reichlich Bakterien in den Krypten

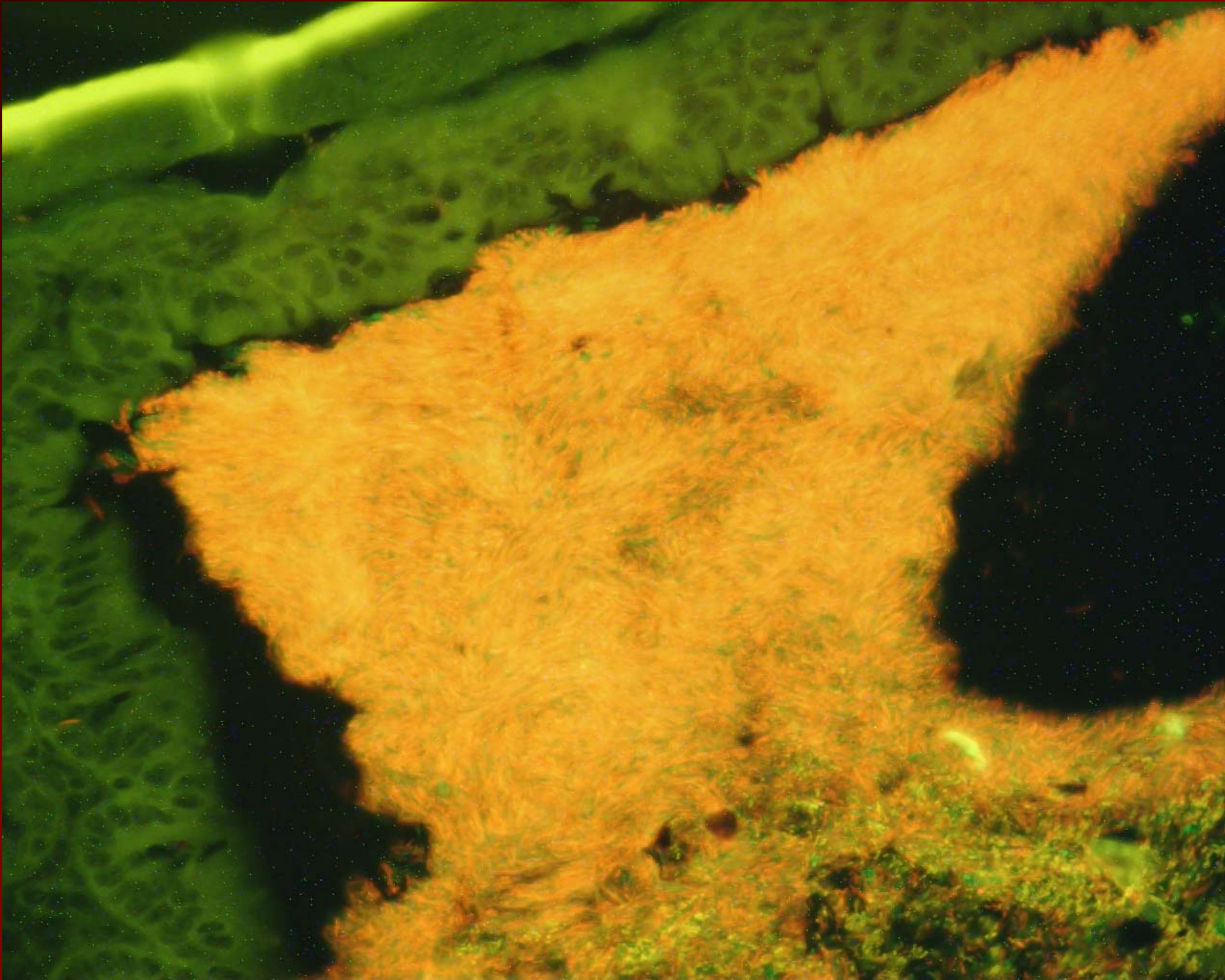
Veränderungen bei Colitis

Suppression der fäkalen Flora

Verstärkte mechanische Trennung der Bakterien von der Darmwand durch Mukus

Veränderte Bakterienseparation, Zunahme von Bakterien in den Krypten und in der Separationsschicht vor der Mukosa





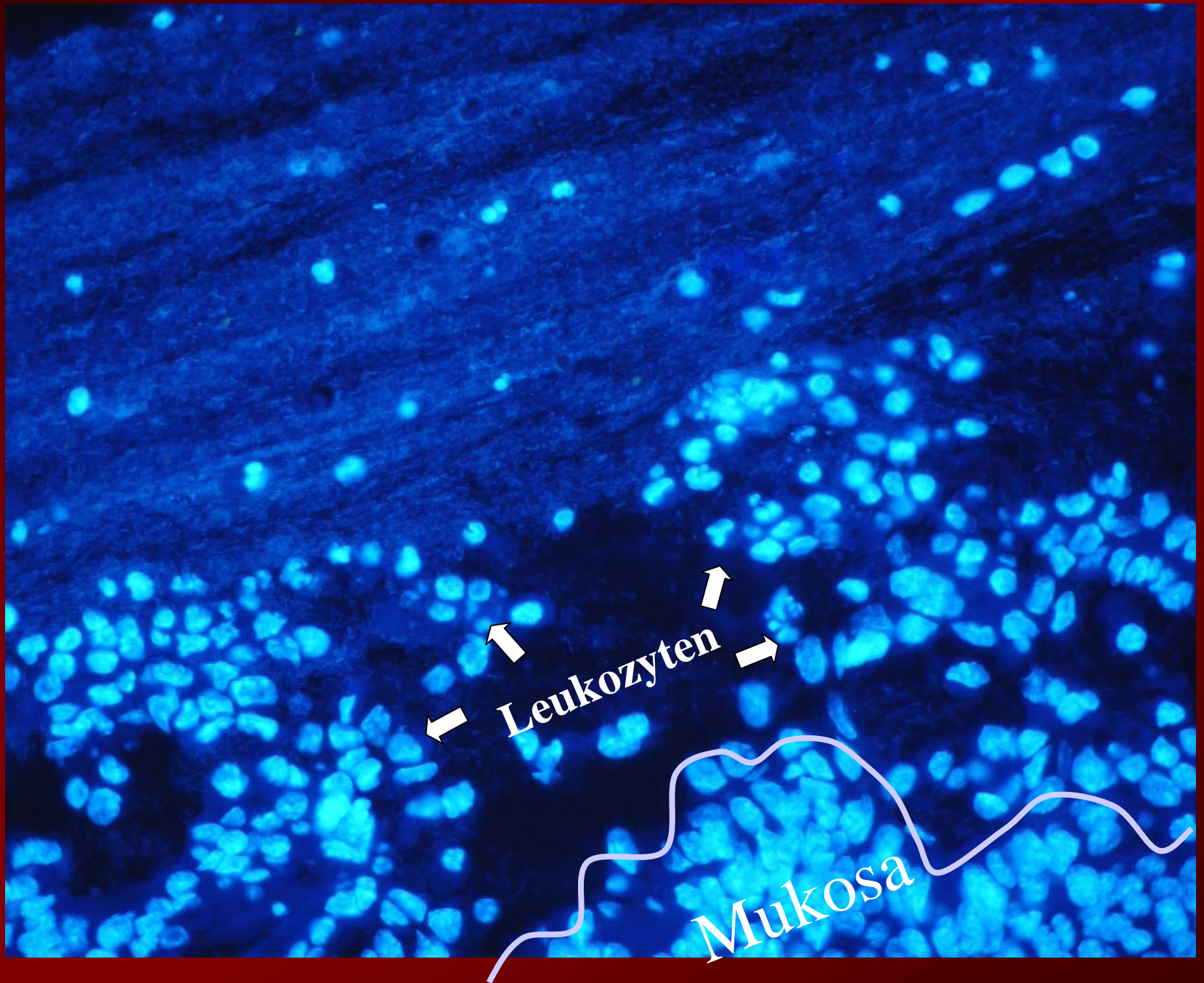
Veränderungen bei Colitis

Suppression der fäkalen Flora

Verstärkte mechanische Trennung der Bakterien von der Darmwand durch Mukus

Veränderte Bakterienseparation, Zunahme von Separations-Bakterien-Gruppen in den Krypten und vor der Mukosa

Einwanderung von Leukozyten in den Mukus vor die Bakterienfront



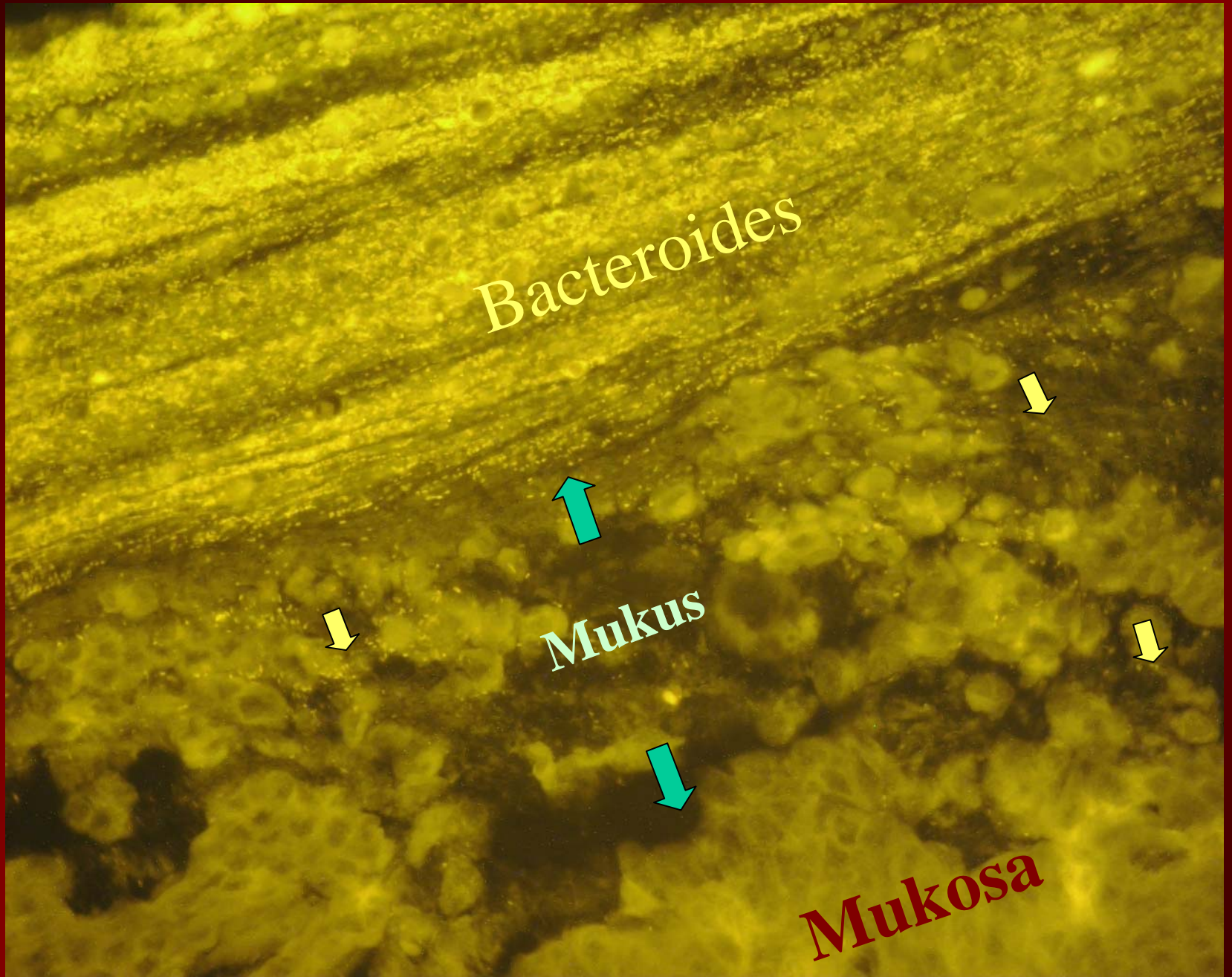
Leukozyten

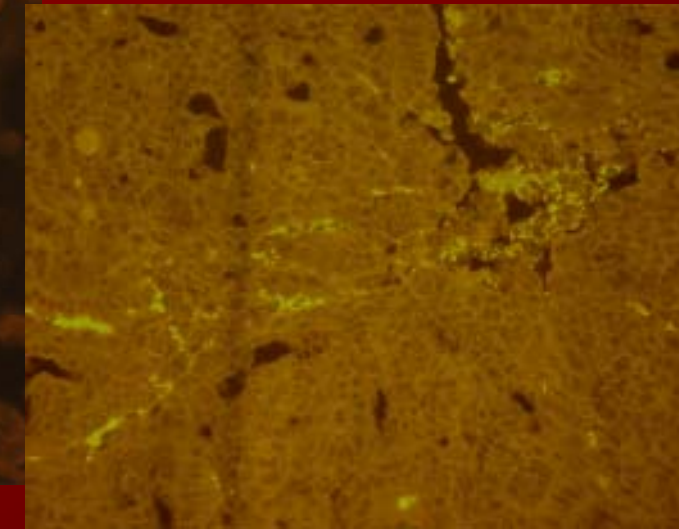
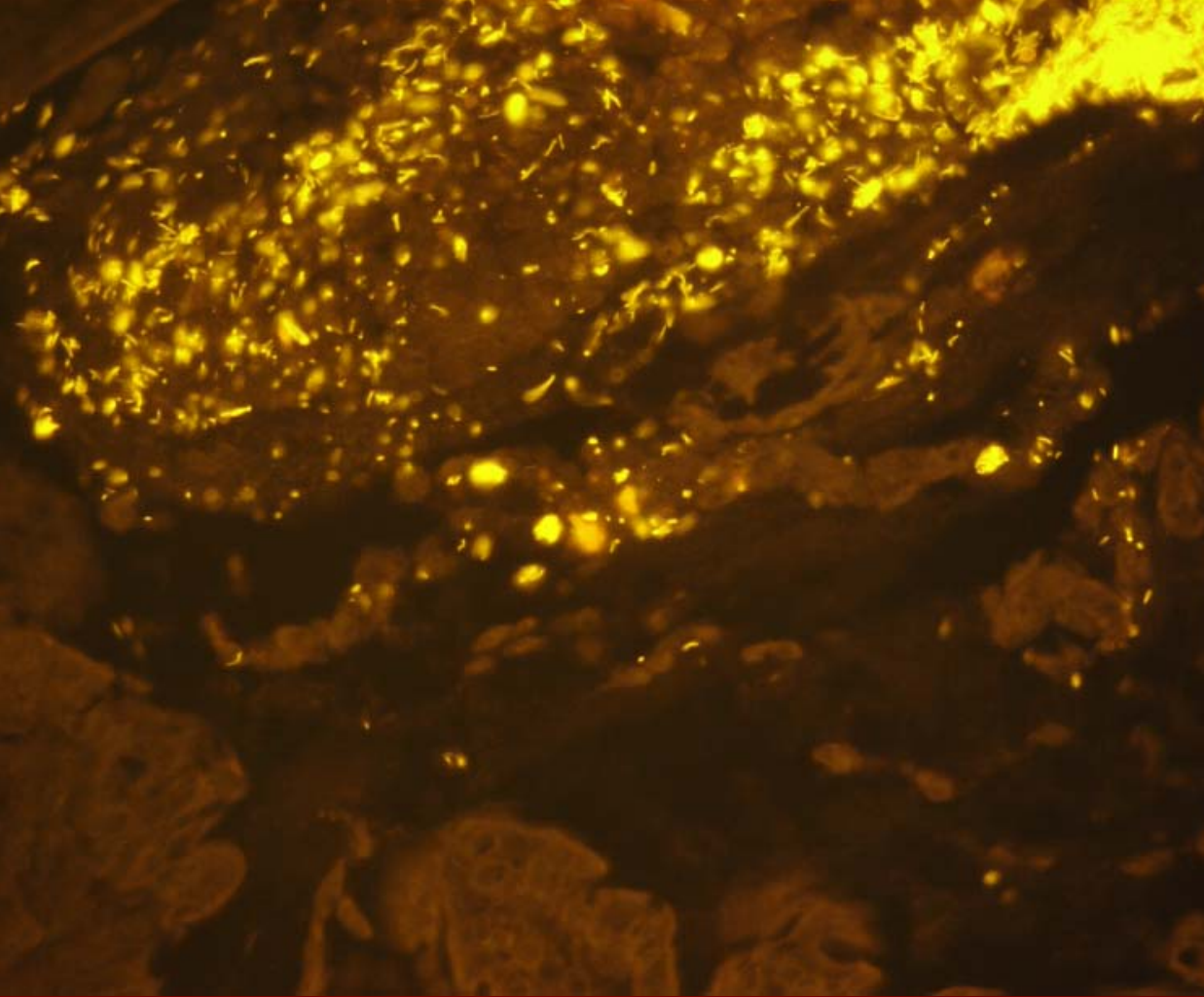
Mukosa

Bacteroides

Mucus

Mukosa





Mit fortschreitender Entzündung geht Mukus ins Exsudat über und hält die Bacteroides nicht mehr vom Kontakt mit Mukosa zurück. Es kommt zur Adhäsion und Infiltration der Darmwand.

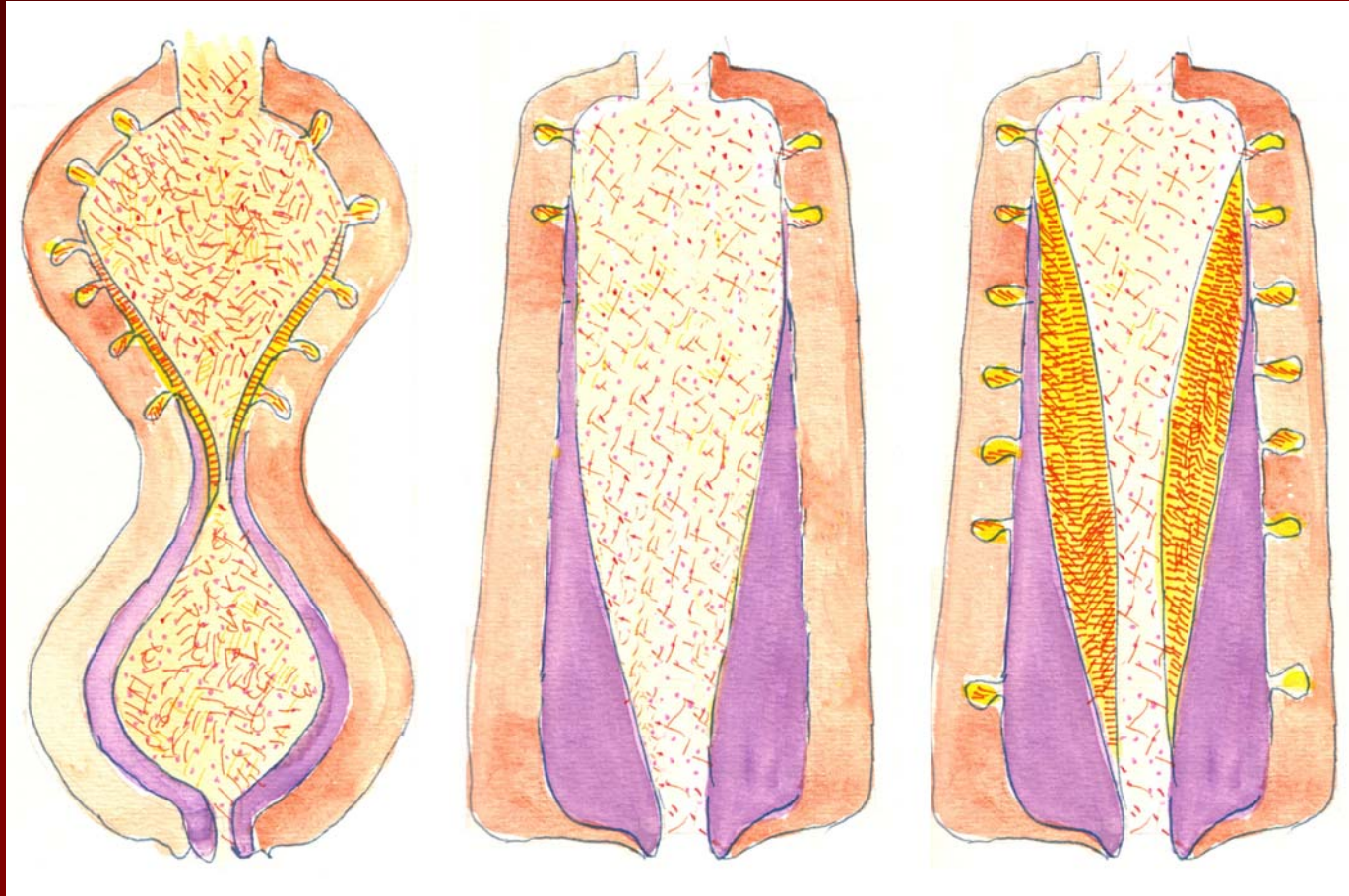
Wt-Maus

**Il 10 ko-Maus
ohne Colitis**

**- Il 10 ko-Maus
mit Colitis**

- RAG Maus mit und ohne Colitis

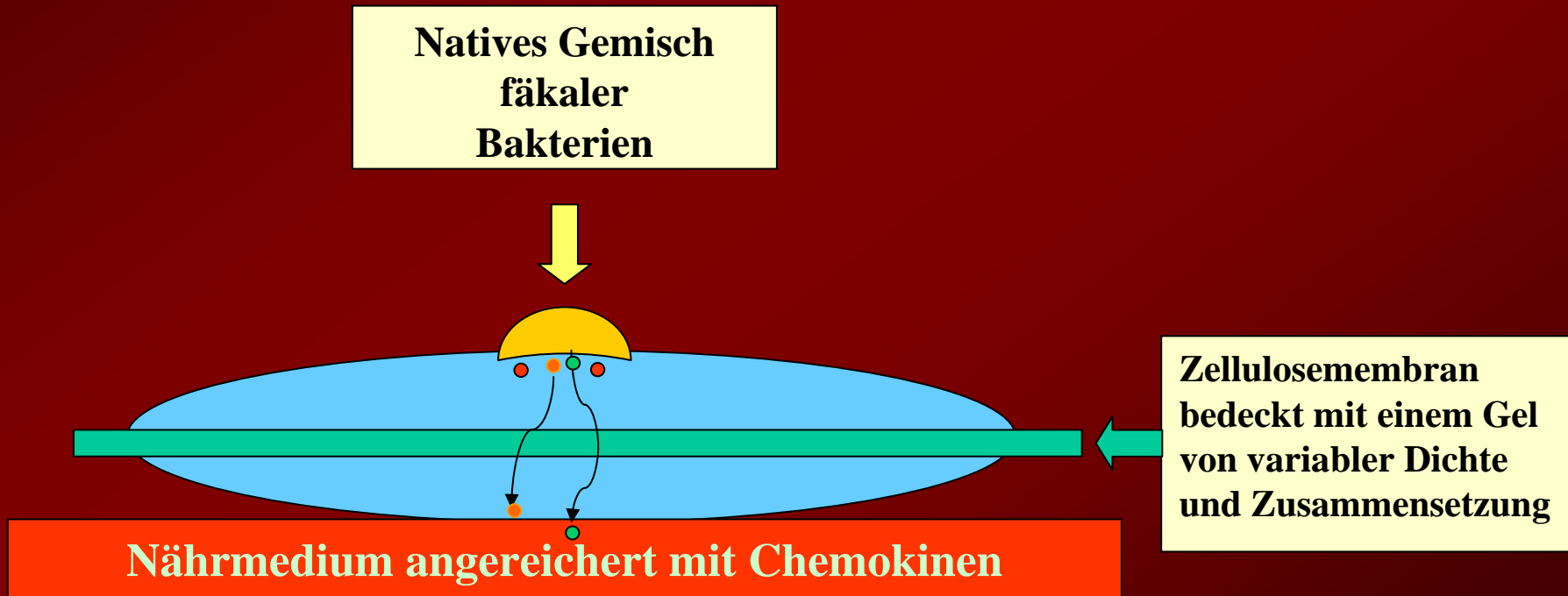
- Wt Maus mit DSS Colitis



Mucus blau

Bakterielle Separationsschicht orange

Mucus Simulation in vitro

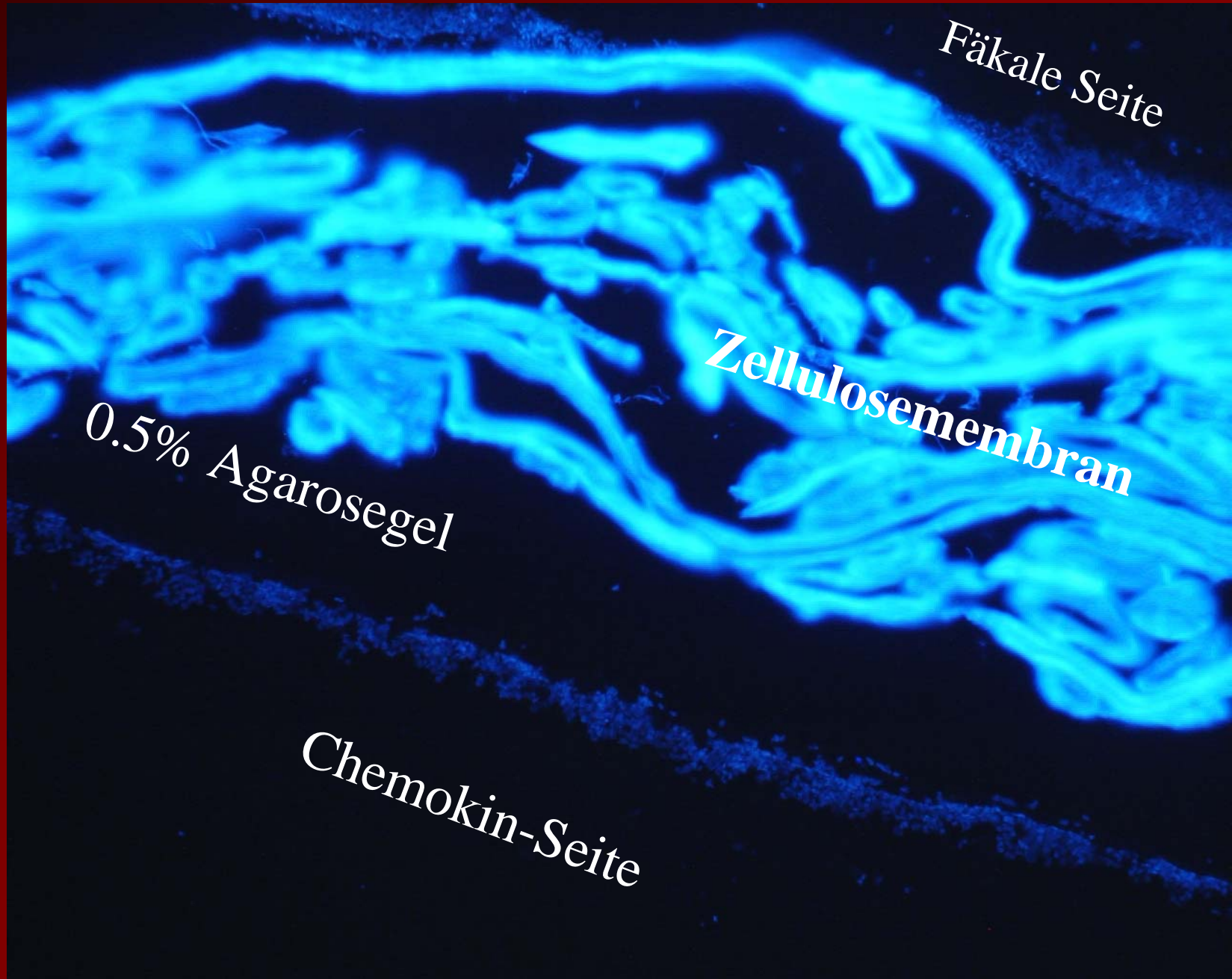


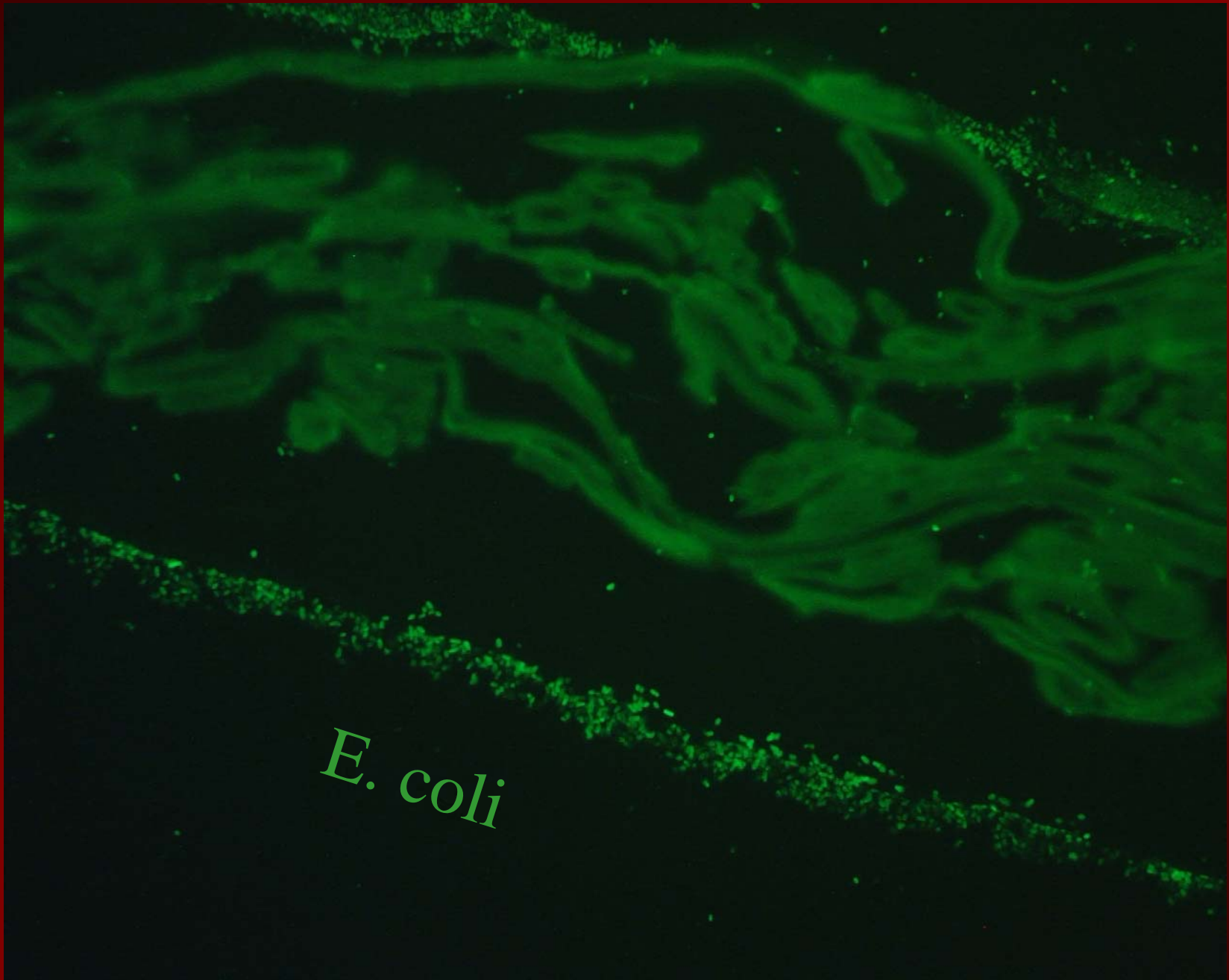
Fäkale Seite

Zellulosemembran

0.5% Agarosegel

Chemokin-Seite

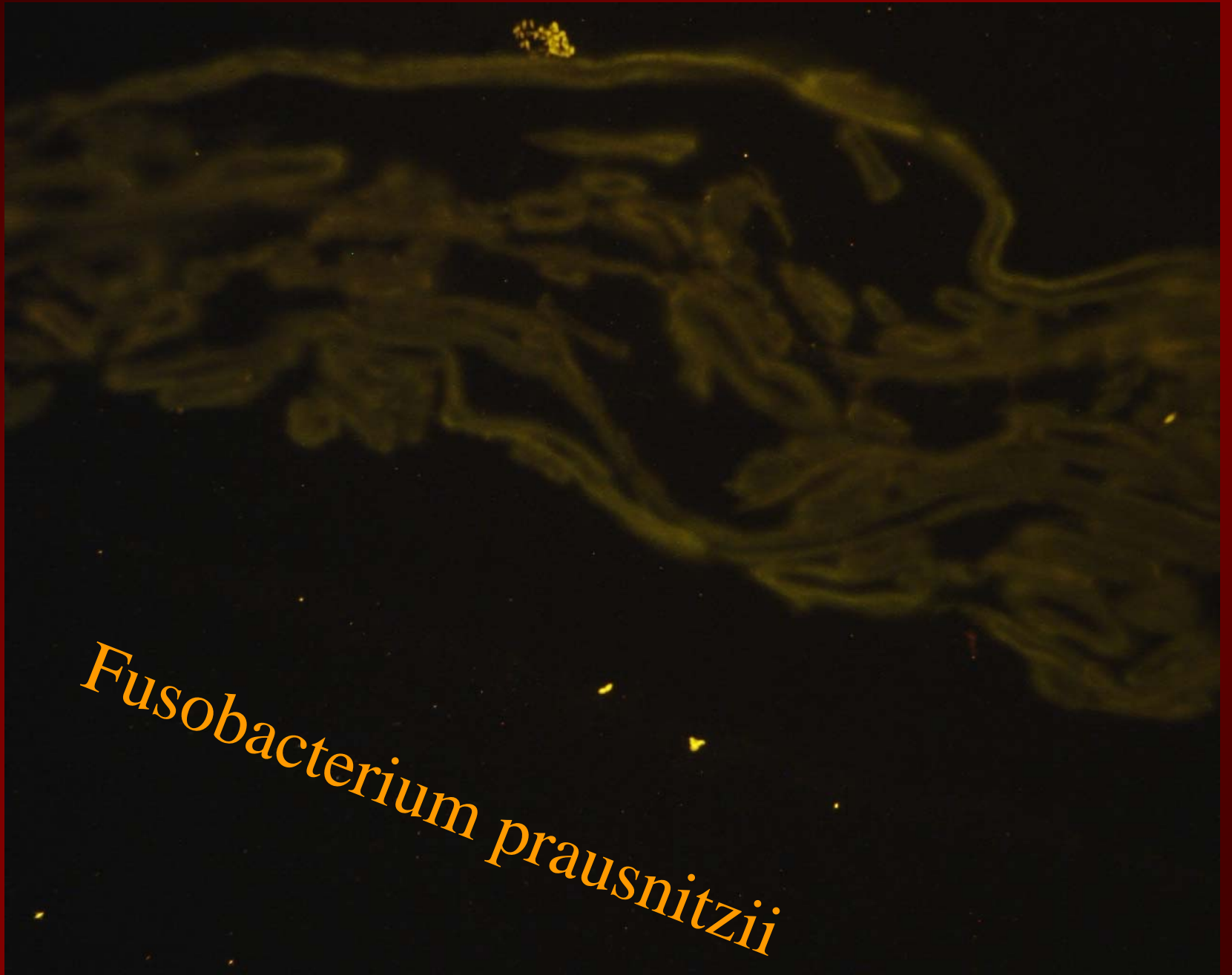




E. coli

A fluorescence microscopy image showing a dense network of red, filamentous structures against a dark background. The structures appear to be interconnected and form a complex, web-like pattern. The red color indicates the presence of a specific fluorescent marker. The overall appearance is that of a highly organized, interconnected network of biological fibers or cells.

Bacteroides



Fusobacterium prausnitzii

Mobilität fäkaler Bakterien unter Einwirkung von:

	MM Minimalmedium	MM +5-ASA	MM +DSS	MM +DSS +5-ASA
0,3%				
0,5%				
0,7%				

E. Coli **Bacteroides** **Fprau**

Mukosale Schicht verhindert einen Kontakt fäkaler Bakterien mit der Mukosa. Die Behinderung ist selektiv bei der Maus und anscheinend absolut beim Menschen.

Die Mukusbarriere ist gestört bei einer Reihe von Erkrankungen. Bakterien wandern in den Mukus ein und bilden Biofilme auf der Darmoberfläche bei Patienten mit:

CED

Funktionellem Colon

Selbstlimitierender Colitis

Divertikulose

Carzinomen

Die Zusammensetzung des mukosalen Biofilms ist krankheitsspezifisch.

5-ASA ist ein potentes Mittel sowohl zur Suppression des Biofilms als auch zur Verhinderung einer Durchwanderung des Mukus.

Die Gründe für die Durchwanderung und Biofilmbildung sind noch unklar. Denkbar sind:

Primäre Störungen der Mukuszusammensetzung, einschließlich aller einzelner Komponenten der spezifischen Immunantwort.

Besonderheiten der fäkalen Flora, die eine Durchwanderung und Herausbildung des Biofilms ermöglichen.

Umwelteinflüsse (Detergenzienbelastung) die eine Mukusbarriere aufheben.

Natürliche Emulgatoren Glutene

Haushalts- Detergentien

Zahnpasta- Zusätze

EU zugelassene Emulgatoren für Lebensmittel

- [E425](#), Konjak
- [E432 bis E436](#), Polysorbat
- E432, Polyoxyethylen-sorbitan-monolaurat (Polysorbat 20)
- E433, Polyoxyethylen-sorbitan-monooleat (Polysorbat 80)
- E434, Polyoxyethylen-sorbitan-monopalmitat (Polysorbat 40)
- E435, Polyoxyethylen-sorbitan-monostearat (Polysorbat 60)
- E436, Polyoxyethylen-sorbitan-tristearat (Polysorbat 65)
- [E440](#), Pektine, Amidiertes Pektin
- [E442](#), Ammoniumsalze von Phosphatidsäuren
- [E444](#), Saccharose-acetat-isobutyrat
- [E445](#), Glycerinester aus Wurzelharz/Kolophonester
- [E450 bis E452](#), Phosphate
- [E459](#), Beta-Cyclodextrin
- [E460 bis E469](#) Cellulose und Celluloseverbindungen
- E460, Cellulose, Mikrokristalline Cellulose, Cellulosepulver
- E461, Methylcellulose
- E463, Hydroxypropylcellulose
- E464, Hydroxypropylmethylcellulose
- E465, Ethylmethylcellulose
- E466, Carboxymethylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose
- E468, Vernetzte Natrium-Carboxymethylcellulose
- E469, Enzymatisch hydrolysierte-Carboxymethylcellulose
- [E470a und E470b](#), Salze von Speisefettsäuren
- E470a, Natrium-, Kalium- und Calciumsalze von Speisefettsäuren
- E470b, Magnesiumsalze von Speisefettsäuren
- [E471 bis E472f](#), Mono- und Diglyceride von Speisefettsäuren
- E471, Mono- und Diglyceride von Speisefettsäuren, Monoglycerid
- E472a, Essigsäureester von Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren
- E472b, Milchsäureester von Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren
- E472c, Citronensäureester von Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren
- E472d, Weinsäureester von Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren
- E472e, Mono- und Diacetylweinsäureester von Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren
- E472f, Gemischte Essig- und Weinsäureester von Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren
- [E473](#), Zuckerester von Speisefettsäuren
- [E474](#), Zuckerglyceride
- [E475](#), Polyglycerinester von Speisefettsäuren, Polyglycerinester
- [E476](#), Polyglycerin-Polyricinoleat
- [E477](#), Propylenglycolester von Speisefetten
- [E479](#), Thermooxidiertes Sojaöl mit Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren
- [E481 bis E483](#), Natriumstearoyl-2-lactylat, Calciumstearoyl-2-lactylat, Stearylitartrat
- [E491 bis E495](#), Stearin- und Palmitatverbindungen
- E491 Sorbitanmonostearat
- E492, Sorbitantristearat
- E493, Sorbitanmonolaurat
- E494, Sorbitanmonooleat
- E495, Sorbitanmonopalmitat