

Mikrobiomdiagnostik – Ursachen und Diagnostik von Darmentzündungen

Dr. rer. nat. Christiane Kupsch

IMD Berlin MVZ

Prävalenz von Darmbeschwerden

- je nach Diagnosekriterien **4 % - 17 %** in Deutschland von **Reizdarmbeschwerden** betroffen.

(Das Reizdarmsyndrom ist eine organische Erkrankung Jürgen Stein, Thomas Frieling)

- Im Jahr 2022 **22% der weiblichen** Versicherten der Kaufmännischen Krankenkasse (KKH) zwischen 20 und 24 Jahren wegen **Verdauungsproblemen in ärztlicher Behandlung**

(www.aerzteblatt.de)

- Repräsentative Befragung der deutschen Bevölkerung ergab **11,9 %** mit **leicht** beeinträchtigende und **0,9 %** mit **stark beeinträchtigenden Bauchschmerzen** in den letzten vier Wochen.

(Häuser, W. et al. Prävalenz beeinträchtigender Bauchschmerzen und Menstruationsbeschwerden. Schmerz 28 (2014)).

Häufige Symptome einer Darmentzündung

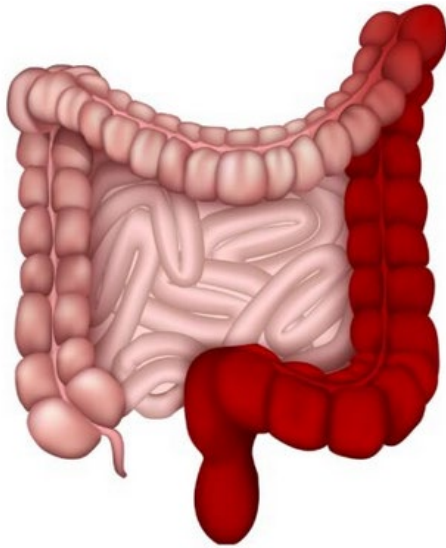
Symptome bei unspezifischer Darmentzündung

- Bauchschmerzen
- Blähbauch
- Diarrhoe
- Obstipation
- Nahrungsmittel-unverträglichkeiten
- Unverträglichkeit von Fruktose, Lactose, Sorbit
- Erschöpfung, Müdigkeit

Symptome bei chronisch-entzündlicher Darmerkrankung (CED)

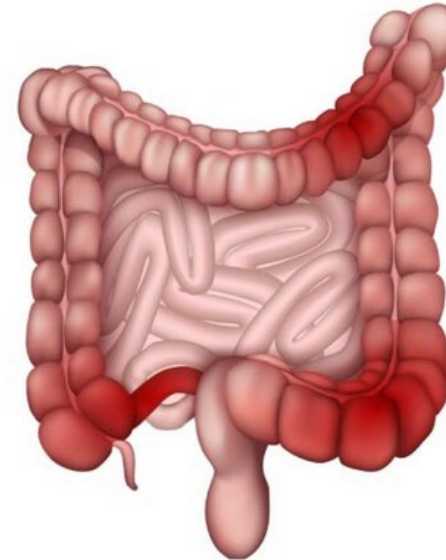
- Schmerzhafter Stuhldrang
- Häufiger, auch nächtlicher Stuhldrang
- Krämpfe und Koliken im Unterbauch, hauptsächlich vor dem Gang zur Toilette
- Blutig-schleimige Durchfälle
- Leichtes bis hohes Fieber
- Appetitlosigkeit, Gewichtsabnahme
- Müdigkeit
- Gelenkentzündungen
- Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis
- Augenentzündungen
- u.a.

Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED)



Colitis ulcerosa

- Ulcus = Geschwür
- Die Entzündung ist flächig und auf die oberste Schicht der Darmwand beschränkt
- Enddarm und Dickdarm betroffen
- ca. 400.000 Betroffene in Deutschland



Morbus Chron

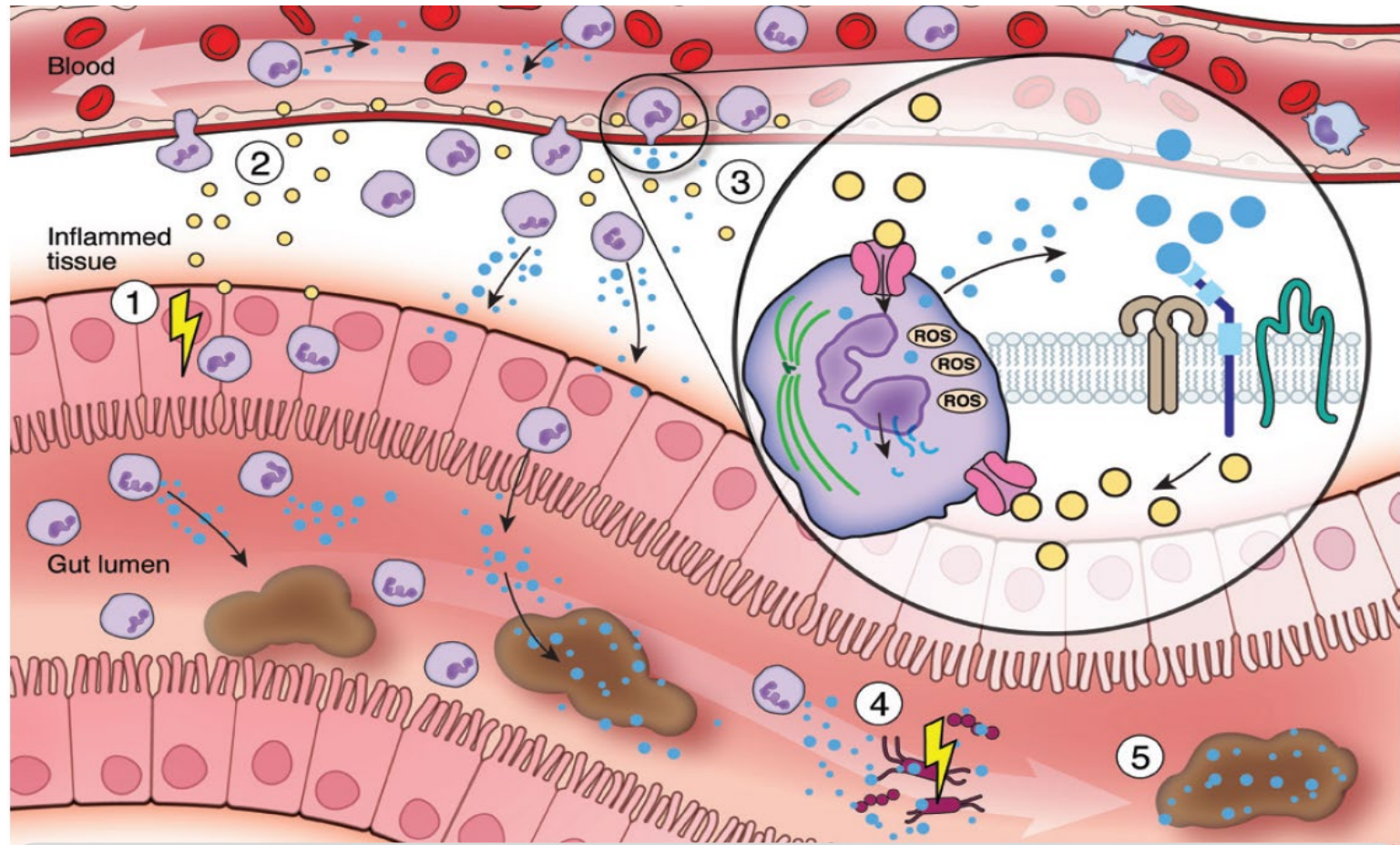
- Entzündete und gesunde Bereiche wechseln sich ab
- Tiefere Schichten der Darmwand betroffen (Fisteln)
- Kann den ges. Gastrointestinaltrakt betreffen
- ca. 250.000 Betroffene in Deutschland

→ Goldstandard: **Koloskopie und Ileoskopie mit Biopsie**,

Blutbild, bakterielle Erreger im Stuhl

→ Calprotectin im Stuhl zur Verlaufskontrolle

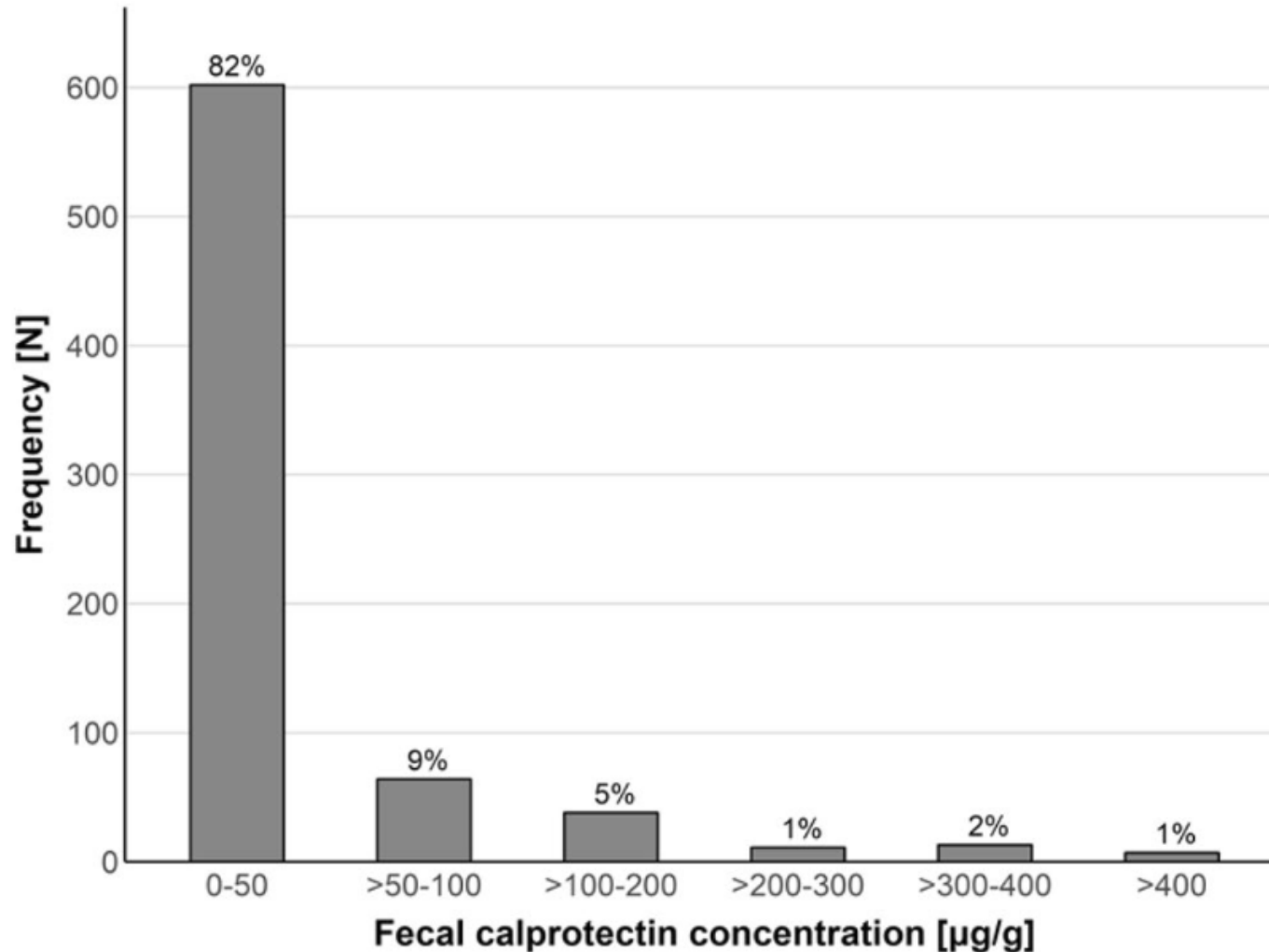
Der Entzündungsmarker Calprotectin



⑤ Calprotectin ist im Darm und im Stuhl sehr stabil und daher ein gut untersuchter non-invasiver Entzündungsmarker. Calprotectin ist bei CED, Darminfektionen, anderen gastrointestinalen Erkrankungen und bei medikamenteninduzierter Enteropathie erhöht.

Prävalenz der unspezifischen Darmentzündung

Calprotectin im Stuhl bei 728 Probanden >50 Jahre
→ >15 % hatten erhöhte Werte

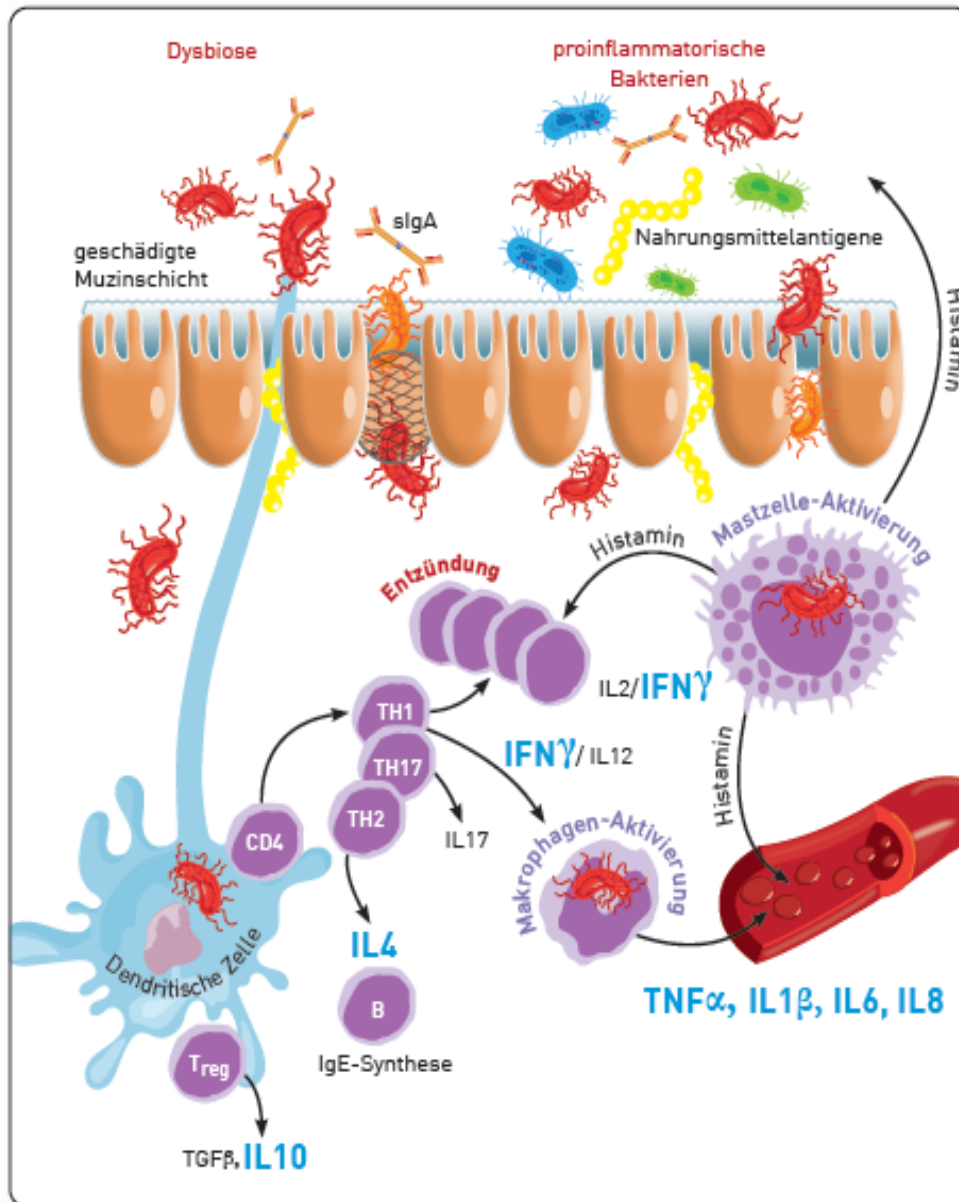


Mögliche Auslöser einer Darmentzündung

- Infektionen (*Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli*, *Norovirus*, *G. lamblia* u.a.)
- Ernährung (proentzündlich, Farb- und Konservierungsstoffe)
- Toxinbelastung (z.B. Mykotoxine)
- Toxische Metalle z.B. aus Zahnersatzmaterialien
- Medikamente (NSAR)
- Genetik (Prädisposition, z.B. Morbus-Chron-
Polymorphismen NOD2, ATG16L1)
- Durchblutungsstörungen
- Stress
- **Dysbiose**
- etc.



Dysbiose als Auslöser einer Darmentzündung



Dysbiose

- ↓ Epithelschutz (Kolonisationsresistenz)
- ↓ Muzinbildung
- ↓ Butyrat
- ↑ Proinflammatorische Bakterien (Endotoxin)

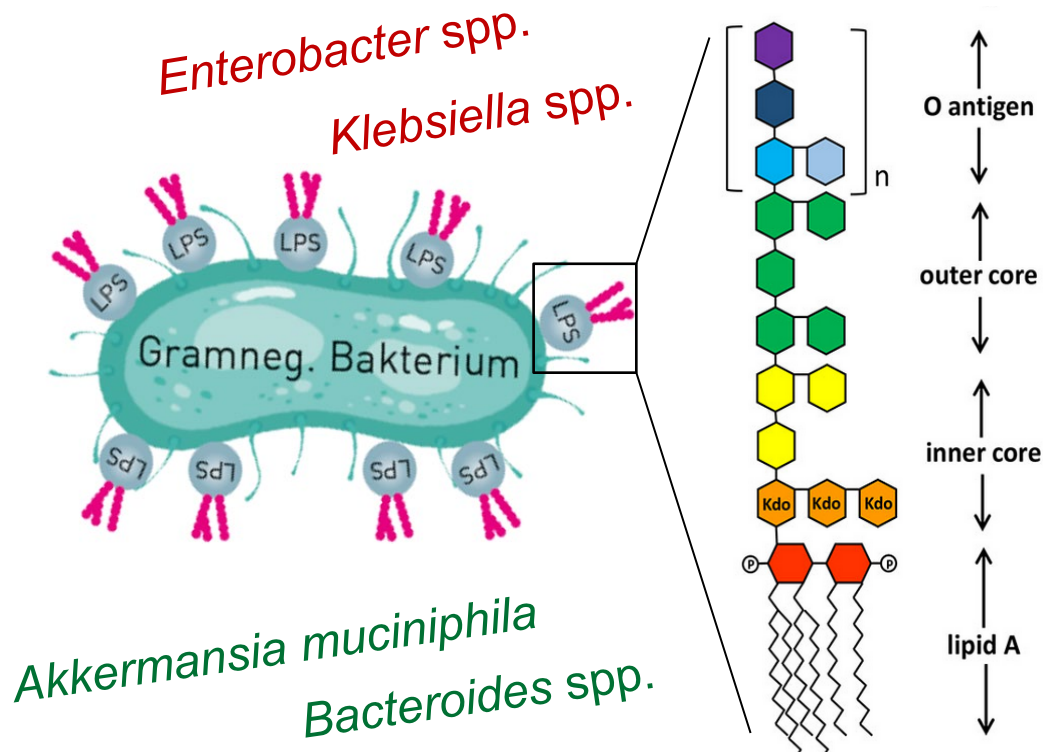
→ **geschädigte Darmbarriere**

Pathogene, Nahrungsantigene, **Endotoxin** gelangen in das Gewebe.

Das Immunsystem reagiert mit **Entzündung**.

LPS ist ein Bestandteil der äußeren Zellmembran von gramnegativen Bakterien

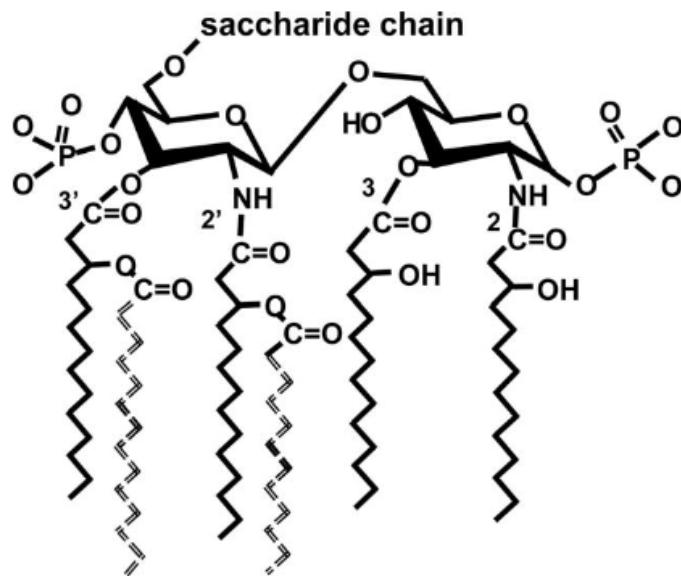
Endotoxin = Lipopolysaccharid = LPS



Die Struktur des O-Antigens (Zuckerzusammensetzung, Länge) und die des Lipids A (Anzahl der Phosphatgruppen, Anzahl und Länge der Acylketten) beeinflusst die Immunogenität.

LPS-Struktur bestimmt seine immunogene Wirkung

- LPS mit **sechs Acylketten** werden vom MD-2-TLR4-Rezeptor besonders gut erkannt.



- Weniger oder verzweigte Acylketten sind weniger immunogen (z.B. *Bacteroides*).

- Beispiele für Bakterien mit **Hexa-Acylketten**

Shigella sonnei, *S. flexneri* d

Haemophilus influenzae

Neisseria gonorrhoeae, *N. meningitidis*

Vibrio cholerae O1

Campylobacter sp.

Aeromonas salmonicida

Escherichia coli

Klebsiella pneumoniae

Enterobacter cloacae

Serratia marcescens

Proteus mirabilis

LPS von **kommensalen**
Proteobacteria und **obligaten**
Pathogenen sind für das
Immunsystem gleichermaßen
sichtbar!

Labordiagnostik von erhöhter LPS-Belastung

- **Funktionelles Mikrobiotaprofil im Stuhl**

- LPS-tragende Bakterien werden quantifiziert

- **LPS-bindendes Protein (LBP) im Serum**

- korreliert mit der LPS-Menge, die ins Blut übergetreten ist

- **Lösliches CD14 (sCD14) im Serum**

- korreliert mit der Monozyten-Aktivierung durch LPS

Funktionelles Mikrobiotaprofil

Untersuchung

Wert

Referenzbereich

Funktionelles Mikrobiotaprofil (PCR + Kultur)

			12345
Dysbiose-Index	3	1	
bakterielle Diversität	0,8	> 2,5	
Butyratbildung	vermindert	normal	
Mukosaprotektion	vermindert	normal	
Kolonisationsresistenz	vermindert	normal	
Proinflammatorische Bakterien	erhöht	normal	
Histaminbildner	normal	normal	
Candida-Pilze	normal	normal	
pH-Messung	7,5	5,5 - 6,5	



LPS-Träger

Proinflammatorische Bakterien (Kultur)

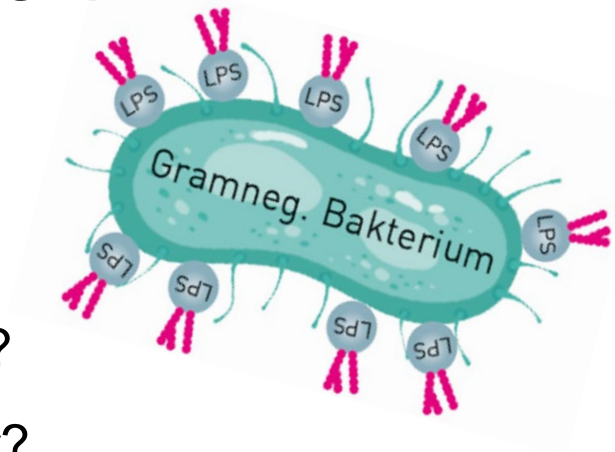
Enterobacteriaceae	< 1x10 ⁶	KBE/g	<= 1x10 ⁶	
E.coli Biovare	> 1x10 ⁸	KBE/g	<= 1x10 ⁶	
Citrobacter spp.	< 1x10 ⁶	KBE/g	<= 1x10 ⁶	
Enterobacter spp.	< 1x10 ⁶	KBE/g	<= 1x10 ⁶	
Klebsiella spp.	< 1x10 ⁶	KBE/g	<= 1x10 ⁶	
Serratia spp.	< 1x10 ⁶	KBE/g	<= 1x10 ⁶	
Proteus spp.	< 1x10 ⁶	KBE/g	<= 1x10 ⁶	
Pseudomonas spp.	< 1x10 ⁵	KBE/g	<= 1x10 ⁵	

Erkenntnisse aus dem Mikrobiombefund

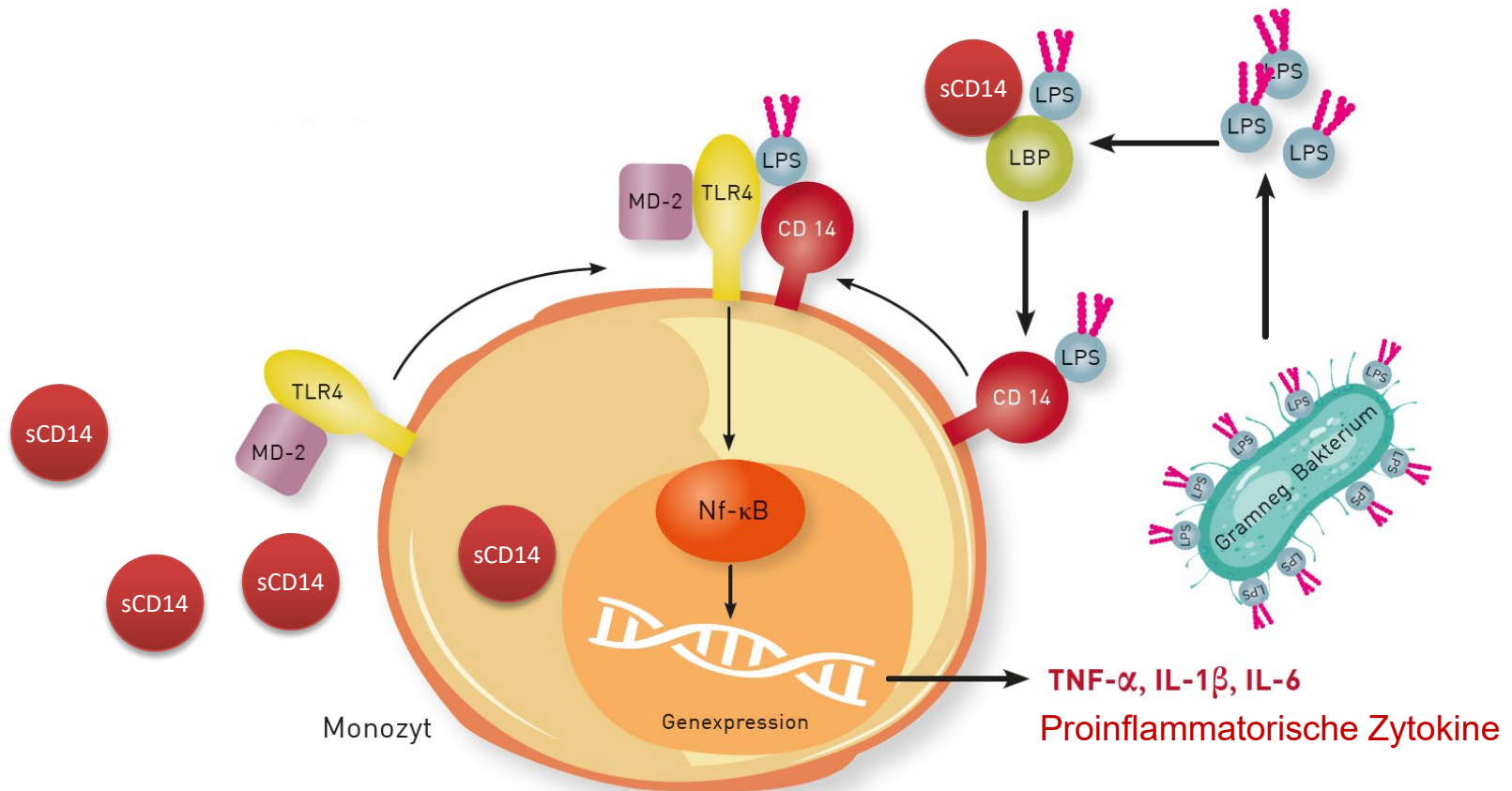
- **Massive Dysbalance der Darmbakterien**
 - **Geringe Vielfalt der Darmbakterien**
 - **Wenige barriereerhaltende Bakterien**
 - ***Proteobacteria*, die immunogenes LPS auf ihrer Oberfläche tragen, sind erhöht**
- **Im Darm liegt eine potenzielle Entzündungsquelle vor**

Offene Fragen:

- Bleibt LPS im Darmlumen?
- Oder ist LPS (schon) ins Blut übergetreten?
- Liegt eine Immunaktivierung durch LPS vor?



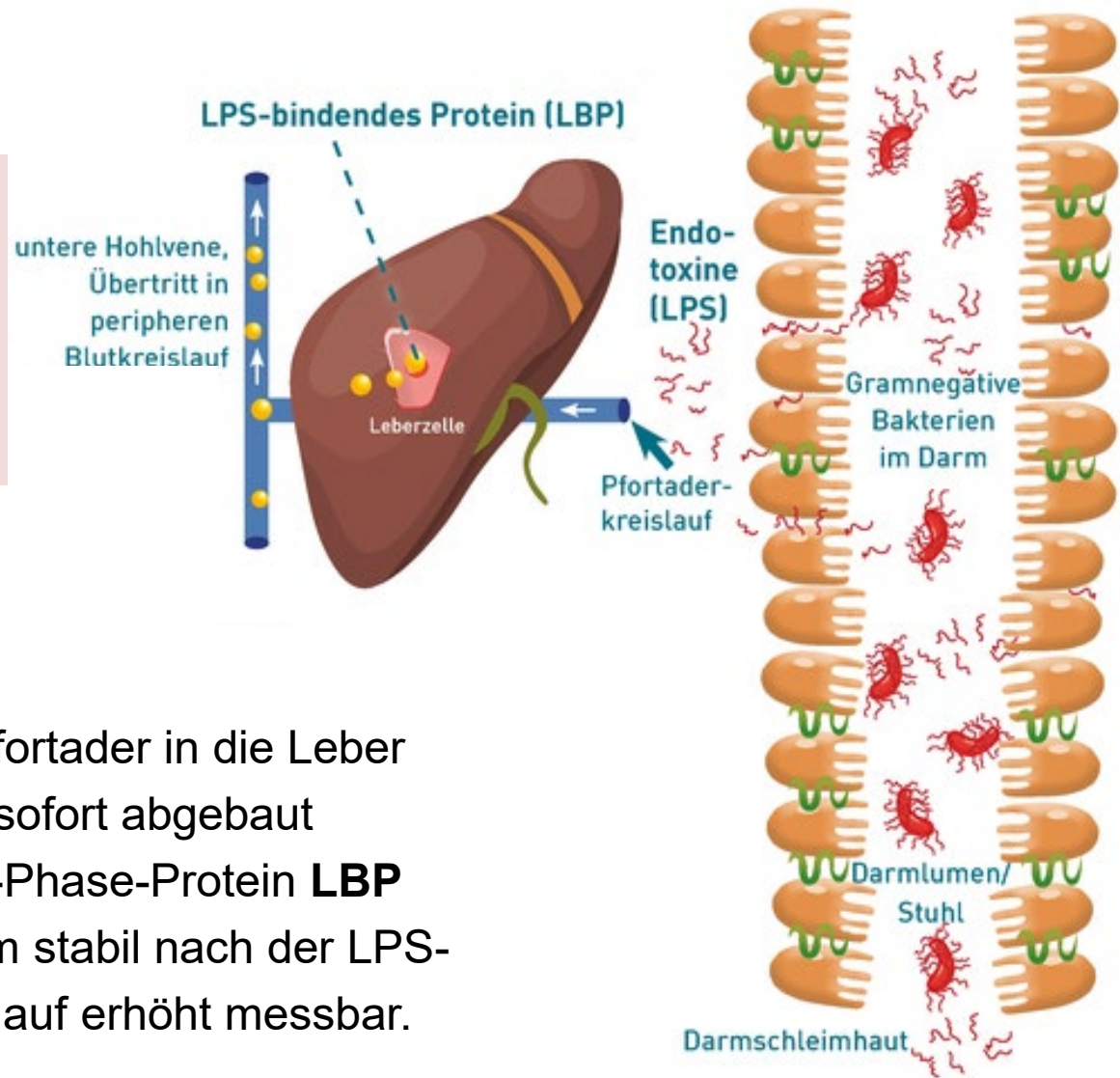
LBP und (s)CD14 ermöglichen es Zellen auf LPS zu reagieren



LBP = LPS-bindendes Protein

Serum-Marker für *leaky gut* und LPS-Belastung: LBP

LBP im Serum
spiegelt sehr gut die
tagesdurchschnittliche
Endotoxinbelastung
wider.



- **LPS** gelangt über die Pfortader in die Leber
 - wird dort zum Teil sofort abgebaut
 - Induziert das Akut-Phase-Protein **LBP**
- **LBP** ist >24 h im Serum stabil nach der LPS-Exposition im Blutkreislauf erhöht messbar.

sCD14 ist ein Marker für Monozyten-Aktivierung

- LPS-Stimulation führt zu vermehrter Ausschüttung von sCD14 in Monozyten
- Stimulation mit gleicher Menge IL-6 oder IL-1 β führte zu einer etwas geringeren Ausschüttung von sCD14.

sCD14

sCD14

sCD14

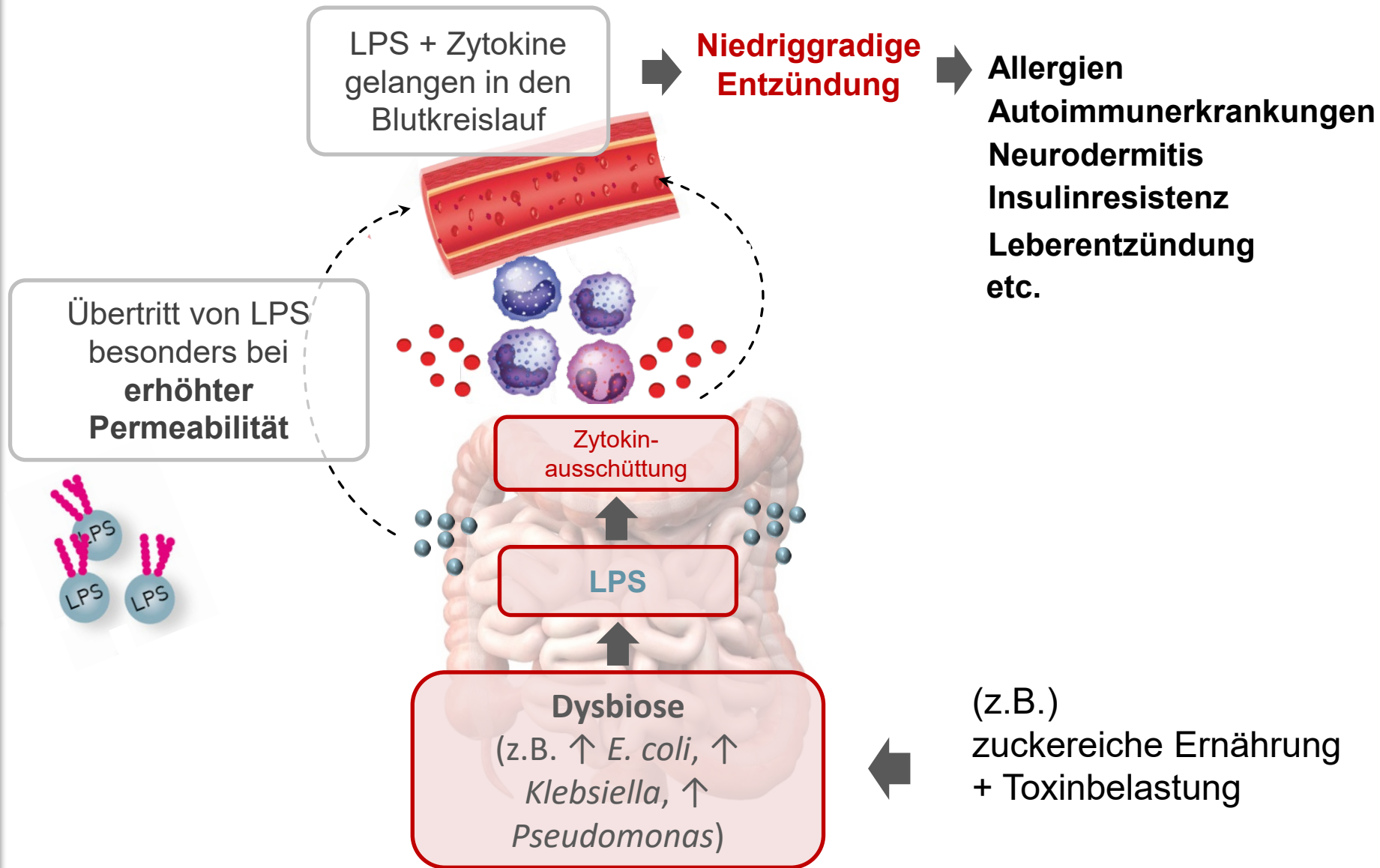


Ärztlicher Befundbericht

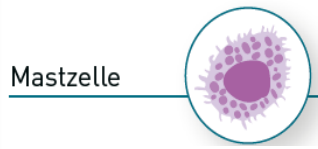
Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Lipopolysaccharid Bindendes Protein (CLIA)	12,0	pg/ml	< 8,00
Lösliches CD14 i. S. (ELISA)	1821	pg/ml	< 1400

LBP und sCD14 spiegeln die Belastung mit immunogenem LPS wider.

Systemische Auswirkungen der Dysbiose



Marker für Entzündungen der Darmschleimhaut



Ärztlicher Befundbericht

Untersuchung	Wert		Referenzbereich	
Histamin (ELISA)	305	ng/g	< 600	normal



Calprotectin im Stuhl (ELISA)	43	µg/g	< 50	normal
EPX (EDN) (ELISA)	126	ng/g	< 1358	normal
Lysozym (ELISA)	178	ng/g	< 600	normal

**Mit diesen klassischen Markern werden aber
nicht alle Entzündungszustände der
Darmschleimhaut erfasst**

Marker für Entzündungen der Darmschleimhaut

		Ärztlicher Befundbericht			
		Untersuchung	Wert	Referenzbereich	
Mastzelle 		Histamin (ELISA)	305	ng/g < 600	normal
		Zytokinprofil im Stuhl (ECLIA)			
Makrophage 		IL-1b im Stuhl	84,4	pg/g < 61	erhöht
		IL-6 im Stuhl	43,7	pg/g < 67	normal
		TNF alpha im Stuhl	121,4	pg/g < 58	erhöht
		IL-8 im Stuhl	33,2	pg/g < 162	normal
T-Lymphozyt 		IFN gamma im Stuhl	297,5	pg/g < 253	erhöht
		IL-4 im Stuhl	6,0	pg/g < 7	normal
		IL-10 im Stuhl	27,9	pg/g 8 - 30	normal
Granulozyten 		Calprotectin im Stuhl (ELISA)	43	µg/g < 50	normal
		EPX (EDN) (ELISA)	126	ng/g < 1358	normal
		Lysozym (ELISA)	178	ng/g < 600	normal

Darmepithelzellen bilden auch Zytokine!

Interleukin 10 begrenzt die Entzündungsreaktion



Untersuchung	Wert	Referenzbereich
Zytokinprofil im Stuhl (ECLIA)		
IL-1b im Stuhl	54267	pg/g < 61 erhöht
IL-6 im Stuhl	39,6	pg/g < 67 normal
TNF alpha im Stuhl	618	pg/g < 58 erhöht
IL-8 im Stuhl	55310	pg/g < 162 erhöht
IFN gamma im Stuhl	674	pg/g < 253 erhöht
IL-4 im Stuhl	2,03	pg/g < 7 normal
IL-10 im Stuhl	5,08	pg/g 8 - 30 vermindert
Calprotectin im Stuhl (ELISA)	68	µg/g < 50 erhöht

Ausschüttung von **proinflammatorischen Zytokinen** (IL1 β , TNF α , IL8, IL6, IFN γ , IL4) im Darm wird ausgelöst durch:

- *Proteobacteria* (oft zu viele bei Dysbiose)
- Infektionserreger
- bei Zellschädigung (z.B. durch ROS, Umweltgifte, toxische Metalle)

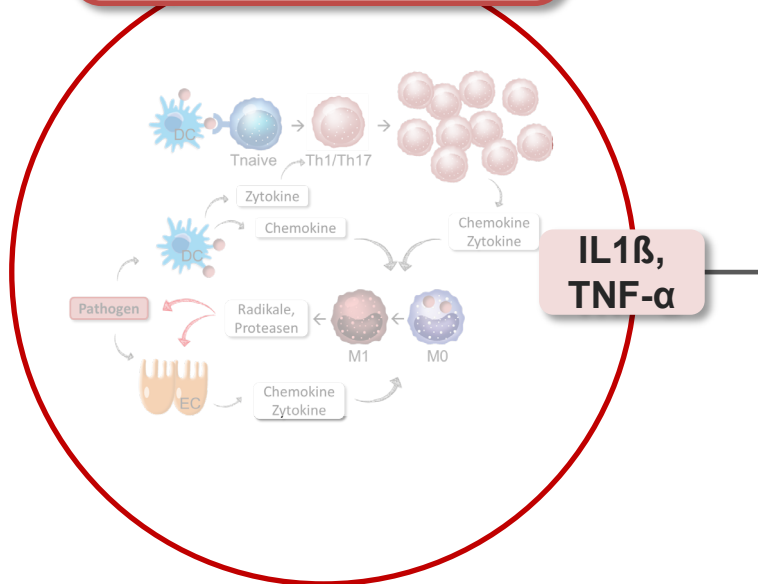
Die Entzündungsreaktion wird **begrenzt durch** Ausschüttung von **IL10**, induziert durch:

- Kommensale Darmbakterien (*Akkermansia*, *Faecalibacterium* etc.)
- Kurzkettige Fettsäuren (Butyrat)
- Vitamin D

Interleukin 10 begrenzt die Entzündungsreaktion

Alkohol, Rauchen,
Zucker, Transfette,
Toxinbelastung,
Feinstaub, Stress

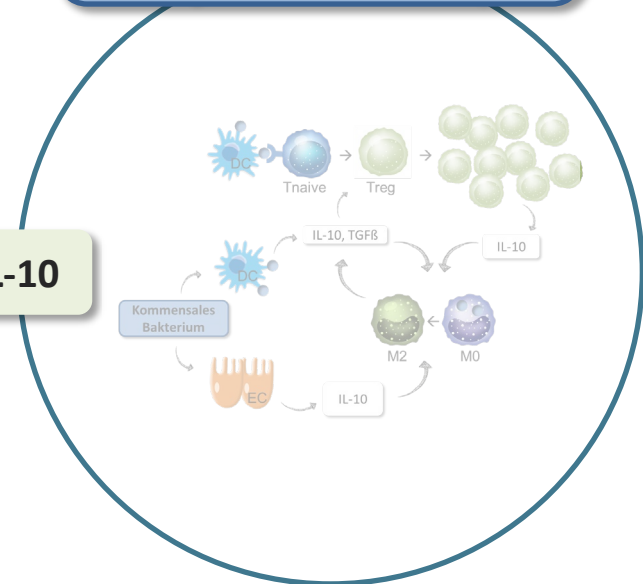
Infektionen,
Zellschäden,
↑*Proteobacteria*



Entzündungskaskade

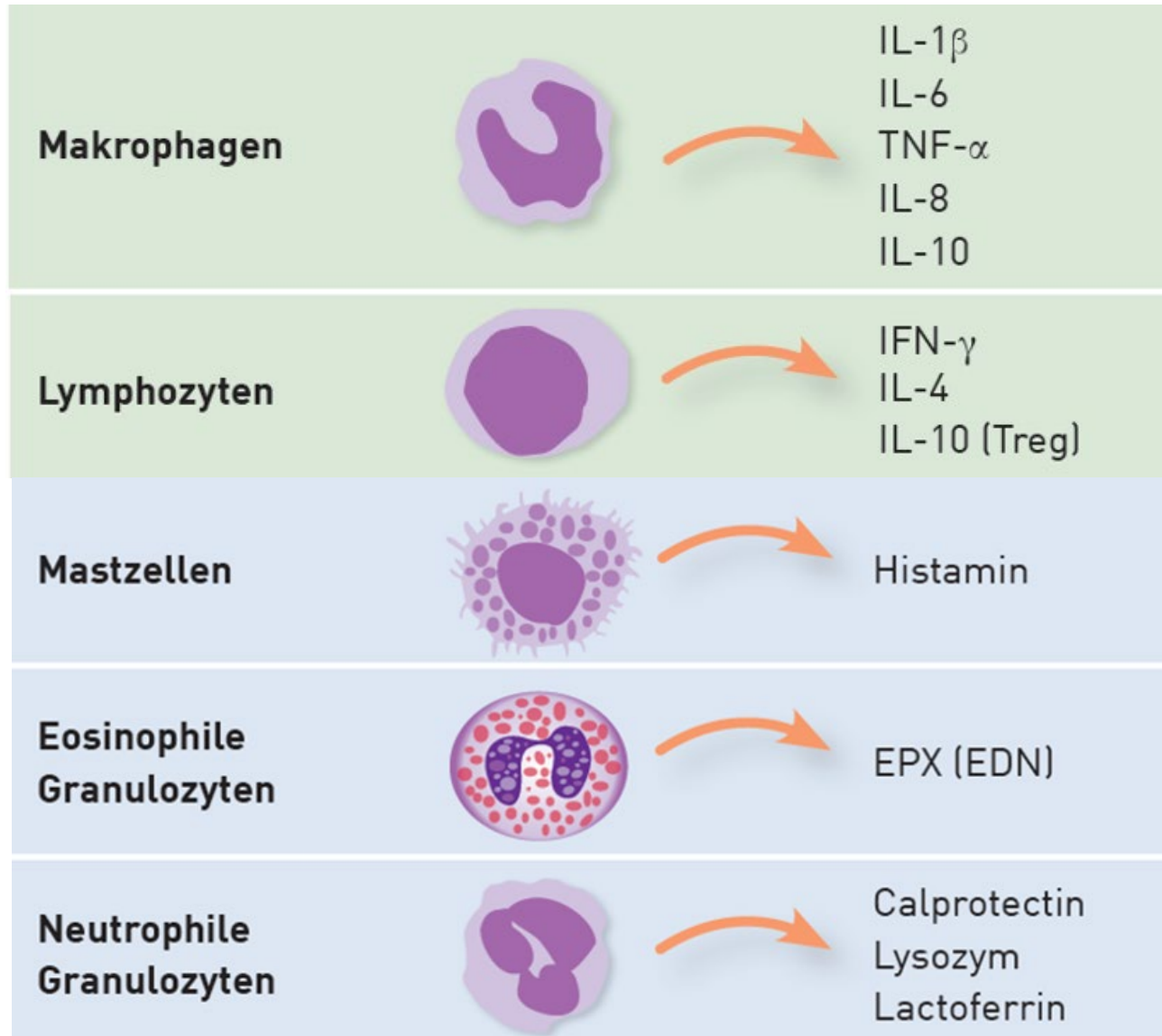
Gute Versorgung mit Ω-3-Fettsäuren, Vitamin D, Polyphenolen und Ballaststoffen

Kommensale Bakterien
(z.B. *Lactobacillus*,
Bifidobacterium)



**Antiinflammatorische
Gegenregulation**

Zusammenfassung: Entzündungsmarker im Stuhl



Indikationen für die Messung von Entzündungsmarkern im Stuhl

- Wenn **systemische Entzündung** vorliegt, z.B. hohes hsCRP
(Ist die Quelle der Darm?)
- Bei **Reizdarmsymptomatik** (Liegt doch eine Entzündung vor?)
- Bei multiplen **Nahrungsmittelunverträglichkeiten**
(Ist die Ursache Entzündung und/oder eine Permeabilitätsstörung?)
- Zytokine im Stuhl sind zum Nachweis/Ausschluss einer Darmmukosaentzündung eine sinnvolle Ergänzung zu Calprotectin, EPX, Lysozym, da sie zum Teil sensitiver sind
- Die Zytokinmessung ersetzt nicht Calprotectin!

Ihr
Labor für
**Immunologische
SpezialDiagnostik**



Vielen Dank!



 **IMD**
Labor Berlin

 **IMD**
Labor Berlin