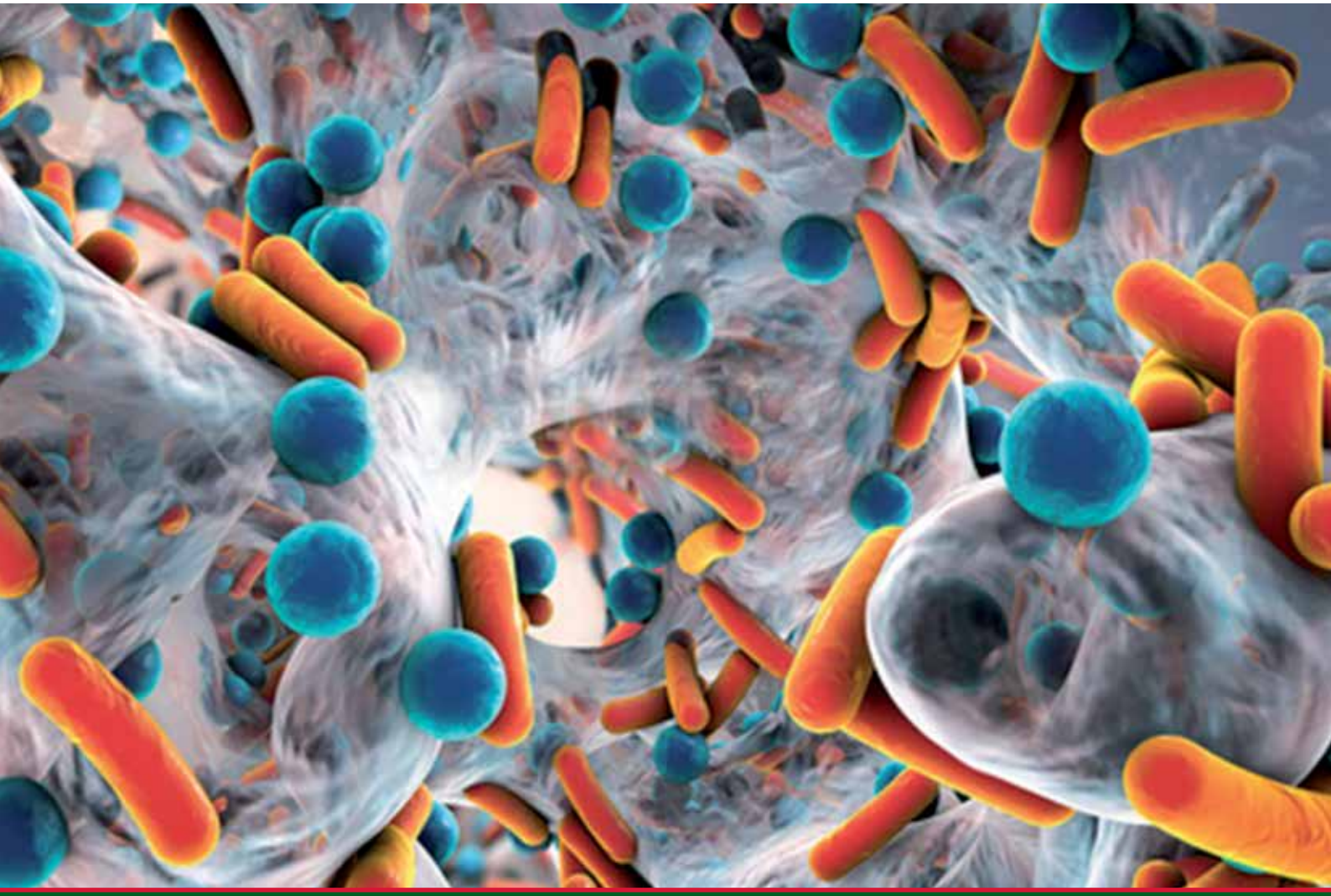
biovis' DIAGNOSTIEK

Het intestinale microbioom



Moderne fecesdiagnostiek levert een moleculair profiel van de menselijke darmmicrobiota op

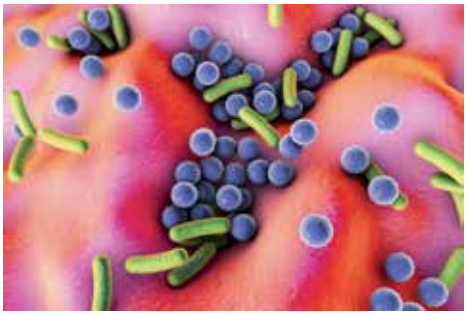
Het microbioom van de darm

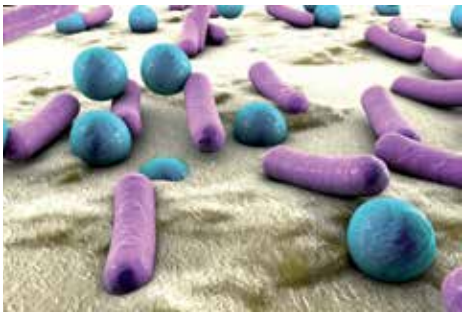
Het menselijke **microbioom** geeft het totaal aan van alle micro-organismen die zich in het menselijk lichaam vestigen. Bacteriën hebben in de volksmond een nogal slechte reputatie - vaak worden ze slechts als ziekteverwekkers beschouwd. Bij pathogenen is dit terecht. Echter, de mens leeft ook in een symbiotisch evenwicht met bacteriën - hij heeft ze nodig om gezond te blijven.

Ademhalingsorganen, het spijsverteringsstelsel en het urogenitale stelsel hebben slijmvliezen, die dicht bevolkt worden door verschillende bacteriesoorten. Deze vormen een bescherming tegen pathogene kiemen.

Het orgaan waar bacteriën zich het vaakst nestelen is de menselijke **dikke darm**. Hier vindt men een **microbiële gemeenschap**, die meer dan duizend soorten omvat. Dit „intestinale microbioom“, recentelijk gedefinieerd als metabool orgaan, is 150 keer groter dan de genetische informatie van de mens en is hiermee het grootste bacteriecomplex in het menselijk lichaam (1). Hierbij beïnvloeden de **darmbacteriën** een aantal complexe interacties op het metabole en immunoregulerende vlak: ze controleren essentiële stofwisselingsprocessen door o.a. energiedragers beschikbaar te stellen of immuunmodulerende stoffen vrij te laten komen.
Commensale **darmbacteriën** kunnen meer dan alleen het opgenomen voedsel benutten en onverteerbare stoffen splijten. Ze synthetiseren ook essentiële vitaminen en antimicrobiële substanties die de groei van pathogene bacteriën beperken. Ze hebben bovendien een positief effect op het darmepitheel, het darmslijmvlies en het immuunsysteem (2).

Diverse bacteriën op de darmwand
3-D-illustratie

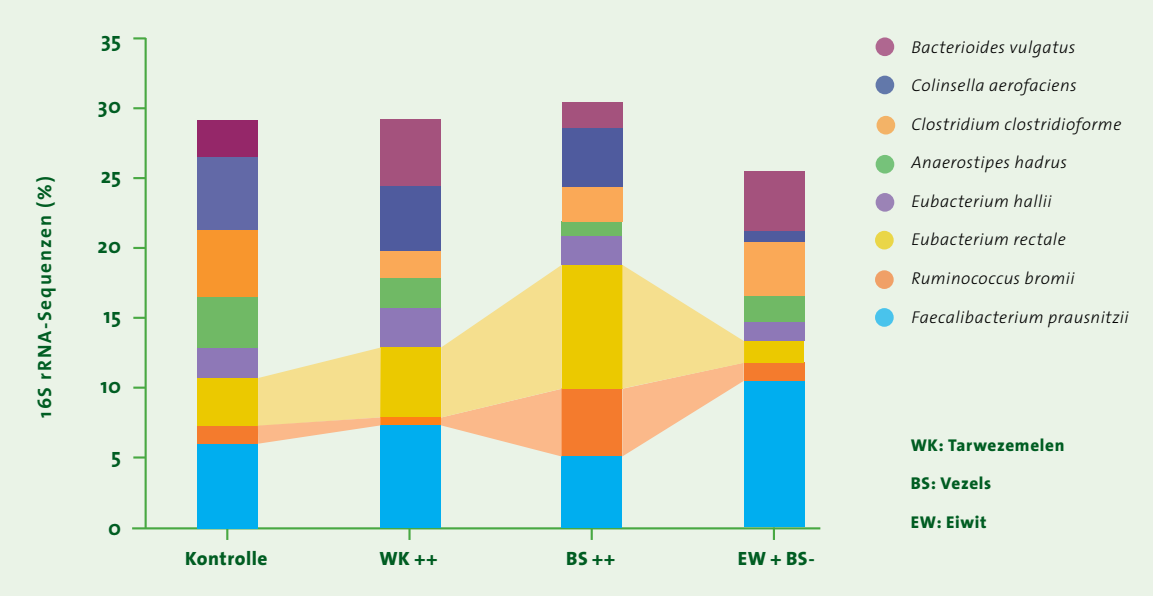




Andere belangrijke functies die hen nog worden toegeschreven:

- Stimulering van het **immuunsysteem**: het versterken van het mucosa-immuunsysteem (MIS), verdringing van pathogenen door de vorming van beta-defensine en sIgA
- **Vitaminevoorziening:** synthese van de vitaminen B1, B2, B6, B12 en K
- Hulp bij de **spijsvertering**: afbraak van moeilijk verteerbare koolhydraten of vezels
- Productie van **korte keten vetzuren** zoals azijnzuur (acetaat) en boterzuur (butyraat) die het darmmilieu mede bepalen
- Korte keten vetzuren dienen als **energiebron** voor darmepitheelcellen
- Bevorderen van de **darmperistaltiek** via korte keten vetzuren
- Bestrijding van **ontstekingen**: met name butyraat werkt ontstekingsremmend en slijmvliesbeschermend
- **Ontgifting** van vreemde stoffen

Een gezond darmmicrobioom kan in samenstelling totaal verschillend zijn. Het wordt beïnvloed door de bacteriële initiële kolonisatie na de geboorte, door genetische factoren en in zeer belangrijke mate door het voedingspatroon. Hoe de frequentie van de bacteriële stammen en soorten door de voeding wordt beïnvloed, is in afbeelding 1 te zien. Vermenigvuldiging van de bacteriegroep Firmicutes, met prominente soorten als Eubacterium rectale, Eubacterium hallii, Ruminococcus bromii of diverse soorten Roseburia, wordt voornamelijk door vezels bevorderd.



Afbeelding 1.
Invloed van voeding op de darmmicrobiota
Diagram opgesteld naar Flint et al..(21)

De kolonisatie van de dunne darm is duidelijk anders dan die van de dikke darm: in de dunne darm is een duidelijk kleinere dichtheid van bacteriën waarneembaar dan in de dikke darm, waar kiemgetallen van 10^{11}-10^{12} bacteriën / g ontlasting bereikt worden. Ongeveer de helft van de hoeveelheid uitgescheiden ontlasting van een gezonde volwassene bestaat uit bacteriemateriaal (3).

De functie van het intestinale microbioom kan echter pas goed waargenomen worden wanneer de juiste bacteriesoorten zich in optimale samenstelling op het darmslijmvlies nestelen. Als er verschuivingen binnen dit evenwicht ontstaan, dan is de kans groter dat er endogene infecties en ernstige, systemische ziekten optreden. Fluctuaties binnen het intestinale microbioom hebben dus directe invloed op het optreden van **klinische symptomen**.

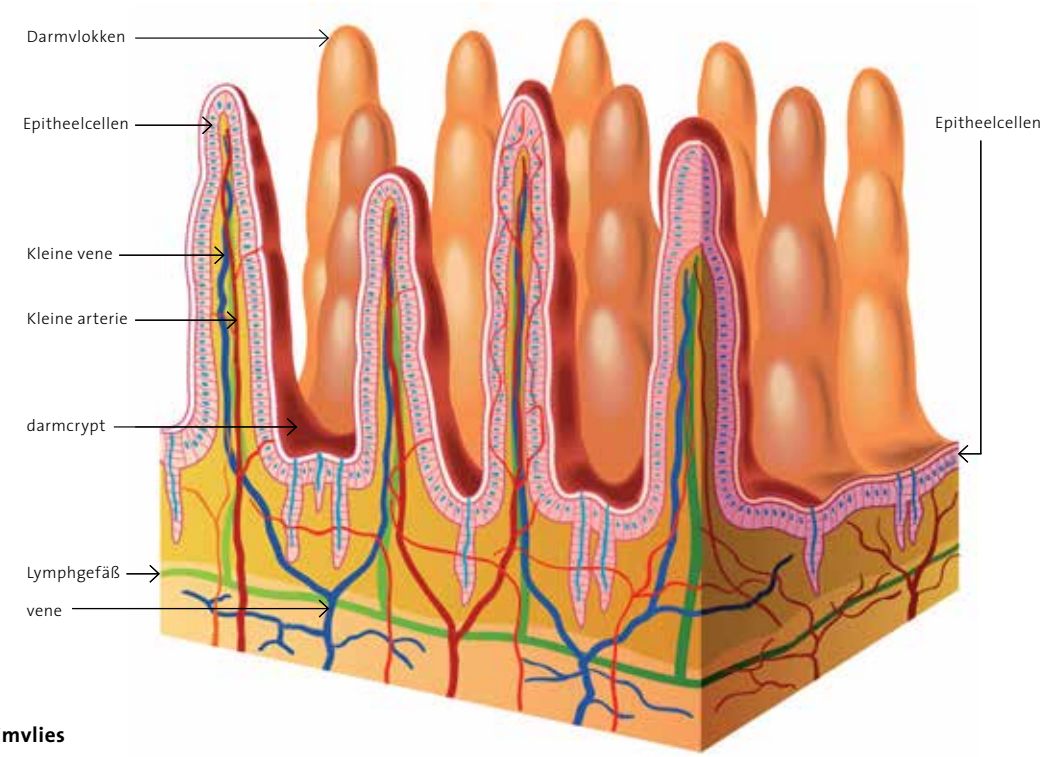
De microbiële darmgemeenschap

Commensalen

De in de menselijke dikke darm aanwezige inheemse bacteriën fermenteren de via het voedsel opgenomen koolhydraten en eiwitten tot korte keten vetzuren (melkzuur, azijnzuur, boterzuur, enz.) en gassen (waterstof, kooldioxide). **Butyraat**, het zout van boterzuur, is daarbij de belangrijkste energiebron voor colonocyten - bovendien heeft het een sterke anti-inflammatoire werking. Vooral de butyraat producerende Firmicutes gelden als belangrijke leverancier van de korte keten vetzuren, vooral *Faecalibacterium prausnitzii*. Ze vormen 5-15% van de menselijke darmbacteriën en behoren daardoor tot de meest voorkomende bewoners van de darmen. Daar ze veel butyraat produceren spelen ze een centrale rol in de energievoorziening van de darmcellen. Naast productie van butyraat blinkt *F. prausnitzii* uit door ontstekingsremmende eigenschappen middels inactivatie van de transcriptiefactor NF-κB- en IL-8 productie (2,4).

Een toename van acute-fase-eiwitten in de ontlasting - zoals α-1-antitrypsine of calprotectine – wijst vaak op een inflammatoire irritatie van het darmslijmvlies. De **moleculair-genetische fecesdiagnostiek** van ***biovis'*** levert op dit punt informatie over bacteriële indicatoren. Vaak correleert het ontbreken van *F. prausnitzii* met de sterkte van de ontsteking.

In de gezonde dikke darm worden de epitheelcellen bedekt door een beschermende slijmlaag. Wanneer deze **mucinelaag** beschadigd is of wanneer er onvoldoende mucine gevormd kan worden, kunnen pathogenen, schadelijke stoffen of allergenen in direct contact komen met het slijmvlies, hetgeen leidt tot ontstekingen. Dus beschermt het behoud van een gezonde slijmvliesbarrière tegen ontstekingen – hier is de bacterie *Akkermansia muciniphila*, een vertegenwoordiger van de Verrucomicroben, in belangrijke mate bij betrokken, doordat hij de slijmproductie in de slijmbekercellen stimuleert. De afbraak van slijm bevordert de nieuwe productie en stelt tegelijkertijd substraat in de vorm van oligosacchariden en korte keten vetzuren voor de productie van butyraat ter beschikking - een belangrijke samenhang, die wordt beoordeeld met de microbioomdiagnostiek (2,5).



Afbeelding 2:
Opbouw van het darmslijmvlies
3-D-illustratie

Pathogenen

De bacteriële stofwisseling werkt echter niet alleen voor het welbevinden van de mens. Via de vorming van **zwavelwaterstof** (H_2S) dragen sulfaatreducerende bacteriën bij aan de ontwikkeling van darmziekten. H_2S is een toxisch stofwisselingsproduct, dat het darmepitheel beschadigt en dus het optreden van atypische cellen bevordert. De soorten *Bilophila wadsworthi*i, ***Desulfomonas pigra*** en *Desulfovibrio piger* gelden als bijzonder krachtige H_2S producenten.

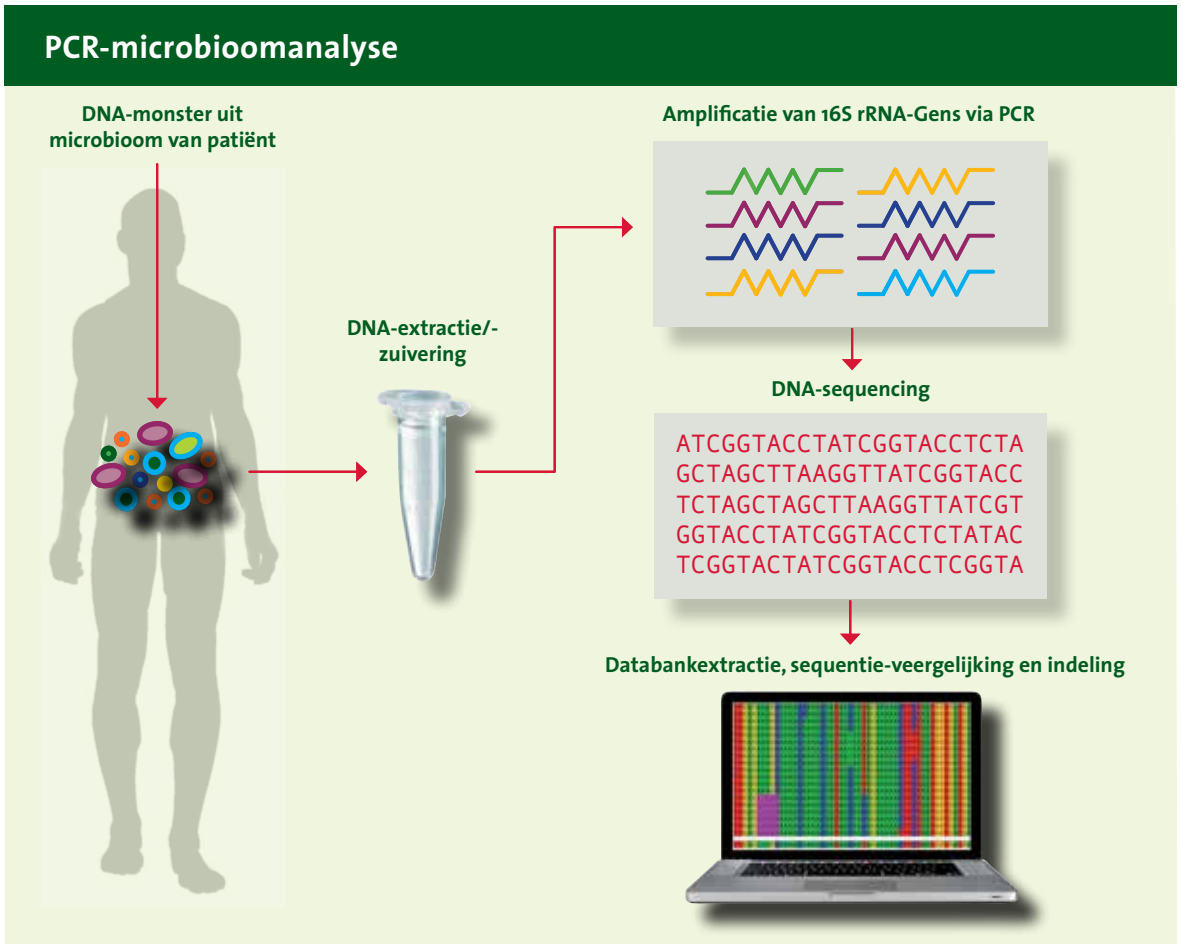
Het geslacht van de obligate anaerobe Clostridia omvat zowel ziekteverwekkers als nuttige kiemen die immuunmodulerend optreden en leiden tot een toename van IL-10. Vooral Clostridia Cluster I omvatten toxine producerende soorten, die vaak voorkomen bij Autisme Spectrum Stoornissen, en vaak de oorzaak zijn van met autisme geassocieerde, intestinale en vaak ook extra-intestinale symptomen.

Bovendien kunnen vaak potentieel **pathogene soorten** zoals *Haemophilus* en *Fusobacteriën* - beide eigenlijk geassocieerd met de slijmvliezen van de luchtwegen - in de darm worden aangetoond. Recente resultaten van wetenschappelijk onderzoek stellen een samenhang vast tussen de verwekkers van deze geslachten en het optreden van chronische inflammatoire darmziekten (IBD), colorectaal carcinoom en appendicitis. Verbanden zoals deze, evenals toekomstige bevindingen kunnen voortdurend en relatief makkelijk in de moleculair-genetische fecesdiagnostiek geïntegreerd worden (6,7).

Enterale microbioomanalyse

Bekende darmbacteriën zoals E. coli, Enterococcus, Bifidobacterium en verschillende soorten Lactobacillus kunnen op een betrouwbare manier worden gekweekt en vormen een belangrijk deel van de darmmicrobiota. Cultuurkweek van een groot aantal anaëroben, namelijk micro-organismen die alleen in zuurstofvrije habitats kunnen groeien, is erg duur en is soms helemaal niet mogelijk - daardoor worden de meeste van deze bacteriën (b.v. Faecalibacterium prausnitzii, Akkermansia muciniphila) bij conventionele ontlastingsonderzoeken slecht of helemaal niet aangetoond. Deze bacteriën vormen echter de grootste groep van de darmmicrobiota en hebben essentiële metabole functies. Met de bestaande diagnostische methodes zijn er al veel conclusies mogelijk. Belangrijke informatie over butyraat, mucine, de vorming van H2S en de daarvoor verantwoordelijke bacteriën bestond tot nu toe echter niet.
Aangezien de kenmerken en individuele functies van de bacteriën in hun genomen gecodeerd zijn, is een uitgebreide analyse van het intestinale microbioom dan ook slechts mogelijk door middel van extra genetische onderzoeken - en hiervoor dient de nieuwe diagnose van biovis': het klassieke ontlastingsonderzoek wordt aangevuld met twee moderne methoden uit de moleculaire genetica, die het mogelijk maken om een groot aantal aërobe, anaërobe bacteriën en hele metabolisch gerelateerde groeperingen te bekijken.

Om de genomen van de bacteriën duidelijk te kunnen identificeren maakt men gebruik van de microbioomanalyse - een moleculair genetische methode die zich op de sequentievolgorde van geïsoleerde DNA van bacteriën van klinische monsters baseert. Daarbij worden signalen waargenomen die alleen in bacteriën voorkomen. Via de individuele 16S-rRNA sequenties van bacteriën kan worden bepaald welke en hoeveel bacteriën er precies in een monster voorkomen. Op deze manier wordt de diversiteit dus gewaarborgd. In onderzoekkringen wordt deze techniek aangeduid als de16S-rRNA sequentie. Afbeelding 3 illustreert een typisch testresultaat.



Afbeelding 3.
Testresultaat van de microbioom analyse. Het bacteriële DNA wordt uit het ontlastingsmonster van de patiënt geïsoleerd en vermenigvuldigd met PCR. De genfragmenten, die nu in hoge kopie-aantallen aanwezig zijn, worden vervolgens gesequentieerd, de grote hoeveelheid aan nieuwe gegevens wordt met speciale computerprogramma's geanalyseerd. De nucleotidesequenties worden in aangewezen databases vergeleken met referentiegenomen om de bacteriën juist in te delen. Diagram vrij naar Keller et al. (20).

Met de gegevens van de microbioomanalyse kunnen nu sequentievergelijkingen met de darmflora van gezonde individuen worden gedaan en kan het gesequentieerde gensegment aan een bepaalde bacteriesoort worden toegewezen (8). Dit wordt gedaan met behulp van referentiegenomen, die door de databases van de „Human Microbiome Project" beschikbaar zijn gesteld - een initiatief dat in 2008 werd gelanceerd om de menselijke microben op moleculair niveau te identificeren en catalogiseren (9).

De microbioomanalyse omvat meer dan 250 parameters. Door alle aantoonbare soorten en geslachten in aanmerking te nemen kan een uitspraak gedaan worden over de bacteriële diversiteit, of te wel de verscheidenheid aan bacteriën. Zo biedt een hoge bacteriële diversiteit een optimale bescherming tegen endogene infecties, vaak wordt deze echter ten gevolge van een behandeling met antibiotica of in het kader van verschillende ziektebeelden verlaagd - in dit geval kunnen opportunistische verwekkers, zoals pathogene bacteriën, schimmels en virussen zich gemakkelijk vermenigvuldigen (3,10).

Indeling van de enterotypen

Parallel wordt bij een microbioomanalyse van de darm het enterotype bepaald, één van de drie hoofdgroepen waarin de menselijke darmbacteriën worden ingedeeld. Enterotypen worden gedefinieerd door de in de dikke darm telkens overheersende soorten *Bacteroides, Prevotella* en *Ruminococcus* die voedselbestanddelen op verschillende manieren afbreken, wat weer gevolgen heeft voor de opname van vitaminen en mineralen. De enterotypen vormen stabiele, duidelijk te onderscheiden bacterieclusters met typische stofwisselingseigenschappen. Enterotype 1 wordt vooral gekenmerkt door hoge *Bacteroides* kiemgetallen, enterotype 2 door een sterke *Prevotella* kolonisatie. Enterotype 3 heeft een uitgesproken *Ruminococcus* flora (10).

Kwantificering van bacteriën

Om de gebruikelijke kweekmethoden aan te vullen en afzonderlijke parameters te identificeren, maakt men gebruik van een moleculair biologische methode die gebaseerd is op de qPCR (kwantitatieve PCR). De methode maakt nauwkeurige kwantificering van individuele bacteriën op basis van specifieke sonden mogelijk. Zo kunnen met de verkregen gegevens doelgerichte vragen beantwoord worden en kunnen therapeutische maatregelen uitgewerkt worden.

Uitslag

Voor de analyse van de samenstelling van het microbioom op het gebied van de bacteriële fyla worden *Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, Akkermansia muciniphila* en de moeilijk te vinden *Fusobacteriën* in aanmerking genomen. Al op dit hoogste taxonomisch niveau kunnen typische patronen worden herkend, zoals bijvoorbeeld een verhoogde Firmicutes / Bacteroidetes ratio of de bij verschillende ziektebeelden dominante Proteobacteria. De verdere bevindingen zijn inhoudelijk gestructureerd en vertegenwoordigen belangrijke geslachten en hun metabolisch actieve soorten – hiervan zijn de meest voorkomende samengevat in onderstaande tabel (tabel 1).

Bacterie fyla	Bacteriegeslacht of- soort	Frequentie
Bacteroidetes	*Bacteroides*	++++
Afbraak oplosbare vezels en KH*	*Alistipes* *Parabacteroides* *Prevotella*	++ + ++
Firmicutes	*Faecalibacterium prausnitzii***	++ tot ++++
	*Eubacterium rectale*** *Eubacterium hallii***	++ tot +++ + tot +++
	Rominococcus bromii	+ tot ++
Afbraak onoplosbare vezels	*Clostridium clostridioforme*	+++
	Anaerostipes hadrus	++
	Lachnospiraceae	++
	*Roseburia sp.***	+ tot +++
Actinobacteria	*Bifidobacterium.* *Collinsella aerofaciens*	++tot +++ + tot +++
Proteobacteria	*Escherischia coli*	+
Verrucomicrobia	*Akkermansia muciniphila****	+

Tabel 1: **De belangrijkste bacteriën van het intestinale microbioom**

*KH = koolhydraten / ** = butyraat productie / *** = mucine vorming

Correlaties tussen dysbiose en klinische symptomen

Het intestinale microbioom is momenteel onderwerp van intensief **onderzoek** en heeft zeer interessante resultaten opgeleverd: de samenstelling van de menselijke, de darmen koloniserende bacteriële flora toont een significant verband met diens gezondheidstoestand. Daarom is het ook mogelijk om een zieke te behandelen door veranderingen in het intestinale microbioom te stimuleren, m.b.v. voedingsfactoren of prebiotica, om een evenwicht tussen stammen en

soorten te bereiken of doelgericht tekorten van belangrijke bacteriesoorten op te heffen. Hieronder vindt u een selectie van de **gezondheidsproblemen**, die gebaseerd zijn op schommelingen van de **enterale microflora**:

1. Obesitas

Bij obese, te zware patiënten treft men in het intestinale microbioom vaak verschoven verhoudingen tussen Firmicutes- en Bacteroidetes stammen aan. Gezonde mensen hebben meestal een Firmicutes / Bacteroidetes-ratio van 1 tot 3:1, terwijl men daarentegen bij mensen met overgewicht in 35% van de gevallen een duidelijk verschoven verhouding van 3 tot 25:1 aantreft in het voordeel van de Firmicutes (in extreme gevallen zelfs tot 200:1). Dominantie van Firmicutes maakt de afbraak van voedingsvezels en de productie van energie mogelijk. Zwaarlijvigheid is dan ook op de lange termijn het resultaat van een „aanvullende verzorging“ door een overmaat van Firmicutes (19).

Obesitas heeft echter ook vaak erg lage kiemgetallen van *Faecalibacterium prausnitzii*, een Firmicute, die behoort tot één van de drie meest voorkomende bacteriën in de darm. *F. prausnitzii* vormt **butyraat**, dat het darmslijmvlies verzorgt en tegelijkertijd beschermt tegen ontstekingen, daar het zout van boterzuur de activatie van de transcriptiefactor NF-κB inhibeert en het vrijkomen van het chemokine interleukine-8 tegenhoudt. Bij obese patiënten wijzen ten dele duidelijk verhoogde hsCRP en interleukine-6 spiegels op een ontstekingsproces dat bijna altijd gepaard gaat met lage *F. prausnitzii* kiemgetallen. Als het lukt om bij deze patiënten *F. prausnitzii* te verhogen, dan wordt het darmslijmvlies beschermd en worden lokale ontstekingsreacties minder (4).

Vetcellen, 3D-illustratie

Ook de kiemgetallen van *Akkermansia muciniphila* zijn bij obese patiënten gedecimeerd. De bacterie kan **mucus**, een slijmlaag die de epitheelcellen bedekt, afbreken. Hierbij vindt echter geen afname van de dikte van de mucinelaag plaats. In plaats daarvan worden de bekercellen gestimuleerd om meer slijm te vormen, waarbij het slijmvlies een beschermende barrière krijgt en beschermd wordt tegen chemische, mechanische of inflammatoire stimuli. Terwijl vetrijk voedsel leidt tot een opmerkelijke afname van *Akkermansia*, veroorzaakt de toevoer van oligosacchariden (bijvoorbeeld in de vorm van prebiotica) gedeeltelijk voor een duidelijke verhoging van het aantal kiemen. Bij dierproeven leidde dit fenomeen tot gewichtsverlies, de groei van de mucinelaag, een stabilisatie van de slijmvliesbarrière en het positieve effect op nuchtere glucose en insuline resistentie. De huidige beschikbare gegevens suggereren dat ook bij de mens een soortgelijk gunstig effect onder invloed van *A. muciniphila* bereikt wordt (11).

2. Metabool syndroom

Ook bij patiënten met het metabool syndroom treffen we steeds weer veranderingen in het intestinale microbioom aan, het gaat hier dan vooral om lage *Akkermansia muciniphila* kiemgetallen. Slaagt men erin het *A. muciniphila*-kiemgetal te verhogen, dan worden insulineresistentie en nuchtere bloedglucosewaarden positief beïnvloed (12).

3. Darmontstekingen

Ziekte van Crohn, 3D-illustratie

Het prikkelbare darmsyndroom is een vaak voorkomende uitsluitingsdiagnose bij onduidelijke, langdurige en terugkerende darmklachten. Er bestaan allang aanwijzingen dat behandeling met probiotica een groot deel van de symptomen kan verlichten. Recente studies tonen aan dat de kiemgetallen van *F. prausnitzii* bij patiënten met een prikkelbare darm met ongeveer 30% gedecimeerd zijn. Patiënten met de ziekte van Crohn hebben nog lagere kiemgetallen. Aangezien *F. prausnitzii* de belangrijkste producent van het anti-inflammatoire butyraat is, hebben verminderde kiemgetallen van de bacteriën een dubbel negatief effect: het remmende effect van F. prausnitzii op NF-κB en interleukine-8 en het slijmvliesstabiliserende, ontstekingsremmende en beschermende effect van boterzuur zijn in dit geval niet meer aanwezig (4,6).

Bij kinderen waarbij bij de eerste diagnose de **ziekte van Crohn** werd vastgesteld, konden in tot 70% van de gevallen *Campylobacter*-soorten worden geïsoleerd. Er wordt steeds weer discussie gevoerd over een causale invloed. Wanneer er *Campylobacter*-soorten waargenomen worden in patiëntmonsters, dan kan probiotica worden toegediend, aangezien deze een sterk tegenwicht tegen pathogenen vormen (13).

Darmkranker, 3D-illustratie

Het **leaky-gut syndroom** is een ander ziektebeeld dat nauw verbonden is met het intestinale microbioom. Ontlastingsonderzoeken tonen een lage aanwezigheid van mucine afbrekende A. muciniphila aan in de darm van de betrokken personen die lijden aan een permeabiliteitsdefect van de tight-junctions (14).

3. Darmtumoren en darmkanker

Naast andere bekende factoren bevordert **zwavelwaterstof** door slijmvliesprikkels de vorming van atypische cellen, en zo de ontwikkeling van colorectale carcinomen. Verantwoordelijk voor de vorming van H_2S zijn sulfaat reducerende

bacteriën (SRB) zoals Desulfomonas piger en Desulfovibrio piger en H2S-producerende Clostridia. Wanneer een verhoogd aantal kiemen van SRB's aanwezig is, dan moet d.m.v. voedingsmaatregelen en darmmilieu veranderende pro- of prebiotica (bijvoorbeeld resistent zetmeel) een verdere toename van H2S-producerende bacteriën worden tegengegaan.

Tumoren in de darm wijzen ook op belangrijke **verschuivingen van het microbioom**: vaak is er een vermindering van *F. prausnitzii* tot onder de aantoonbare drempel. Dientengevolge komt het ontstekingsremmende butyraat slechts in te geringe mate voor (15).

4. Artritis

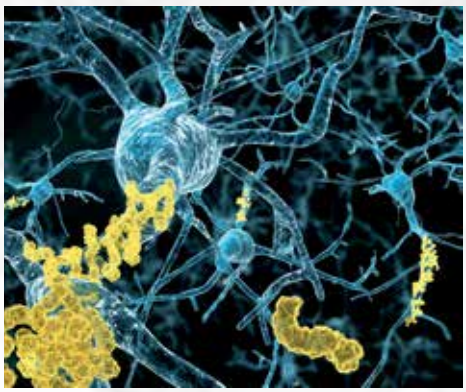
Artritis, gedegenereerde handen

Ook bij reumatoïde artritis kan onderzoek van het intestinale microbioom een abnormale kolonisatie aantonen, die mogelijk met het ontstaan of de progressie van de ziekte in verbinding staat. Een mogelijk gevolg van de abnormale kolonisatie treft men aan bij het voorbeeld van de darmbacterie *Prevotella copri*: wanneer deze de menselijke darm met gezonde aantallen koloniseert, dan profiteren hier zowel het immuunsysteem als het spijsverteringssysteem van. Bij patiënten die lijden aan reumatoïde artritis, zijn *Prevotella copri* en *Prevotella sp.* vaak in hoge concentraties aanwezig. Wetenschappers vermoeden dat een enorm aantal *P. copri* de groei en functie van andere darmbacteriën onderdrukt (16).

5. Autisme

Bij het ontstaan van autisme spelen genetische factoren een belangrijke rol. Bovendien bepalen ook andere factoren het verloop van de ontwikkelingsstoornis. Kinderen met stoornissen in het autistisch spectrum hebben erg vaak gastrointestinale klachten. Studies hebben aangetoond dat een dosis antibiotica niet alleen maagdarmklachten verminderde, maar ook invloed op andere autismegeassocieerde symptomen had. Volgens sommige studies kunnen veranderingen in de darmmicroflora de hersenontwikkeling en het gedrag beïnvloeden (hersen-darm-as). Daarom lijkt het waarschijnlijk dat een verminderde diversiteit in de darm eveneens aan de uitbraak en het verloop van autisme gekoppeld kan worden (17).

Daadwerkelijk zijn in de ontlastingsmonsters van zieke kinderen zeer vaak verhoogde kiemgetallen aan toxine-producerende Clostridia terug te vinden. Hier werden zelfs Clostridiasoorten gevonden die alleen bij autisten worden aangetroffen, maar niet in de neurotypische controlegroep. Het is nog steeds onduidelijk hoe Clostridia de uitbraak en het verloop binnen het autisme spectrum precies beïnvloeden. Wanneer er in de ontlasting van patiënten toxineproducerend Clostridia aangetroffen worden (Cluster I Clostridia), kan de toxineproductie door toediening van geschikte probiotica worden verminderd (7).



Ziekte van Alzheimer
Neuronen met amyloïde-plaques, 3D-illustratie

6. Alzheimer

Ook bij Alzheimerpatiënten zijn duidelijke veranderingen in het intestinale microbioom aantoonbaar. Uit een recente studie bleek bijna 100% van de onderzochte Alzheimerpatiënten (n = 52) een tekort aan *F. prausnitzii* te hebben. Bovendien werden in 87,5% van de onderzochte personen verhoogde markers van een ontsteking van het darmslijmvlies (calprotectine of antitrypsine) aangetroffen. Bij 91% van de patiënten konden met behulp van hsCRP aanwijzingen voor systemische ontstekingen in het lichaam gevonden worden (20).

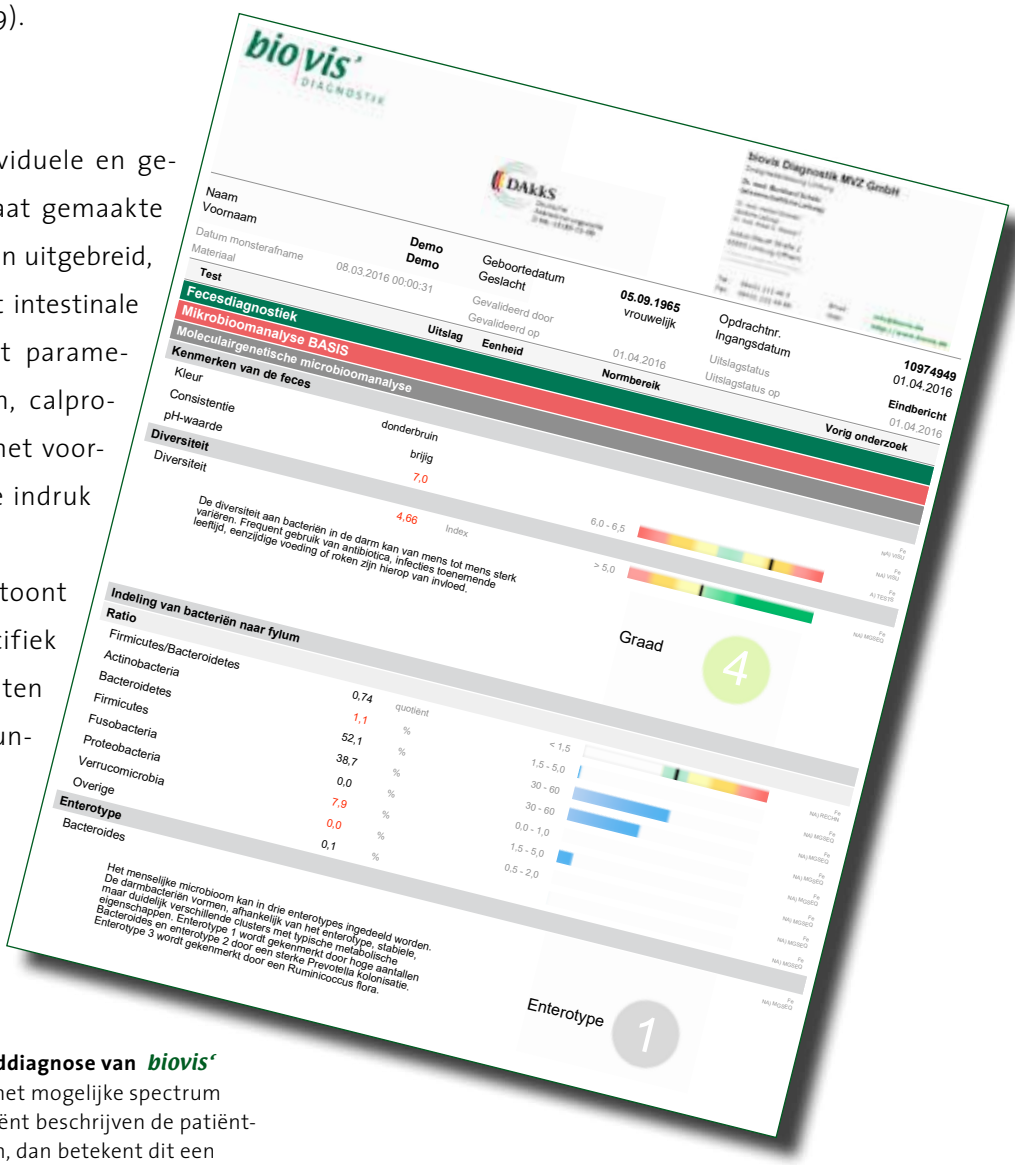
Een tekort aan *F. prausnitzii* bevordert ontstekingen van het darmslijmvlies. Wanneer het mogelijk is om met behulp van prebiotica het bacteriekiemgetal van vitale soorten zoals A. muciniphila en F. prausnitzii duidelijk te verhogen, dan treedt een anti-inflammatoire en slijmvliesbeschermend effect op. Behandeling met **prebiotica en probiotica voor vermeerdering van de soorten**, is daarom ook bij Alzheimerpatiënten nuttig.

Diagnostische verandering: de toekomst is begonnen

Met behulp van moleculair-genetische ontlastingsdiagnostiek is het nu mogelijk om veranderingen in het intestinale microbioom aan te tonen en voorwaarden voor een pro- en prebiotische behandeling op te stellen. Wanneer er door de juiste diagnostiek bekend is welke veranderingen zich in het intestinale microbioom van de patiënt afspelen, kan er doelgericht ingegrepen worden. Hiervoor beschikt men over combinaties van verschillende probiotica en prebiotica waarmee zeer goede resultaten bij patiënten met darmziekten (ziekte van Crohn, colitis ulcerosa, leaky-gut syndroom e.a.), obesitas en antibiotica geassocieerde diarree behaald zijn (18,19).

De diagnostiek van ***biovis'*** biedt individuele en gedetailleerde testresultaten met op maat gemaakte therapieaanbevelingen op basis van een uitgebreid, moleculair-genetisch onderzoek van het intestinale microbioom, eventueel aangevuld met parameters zoals pancreas elastase, galzuren, calprotectine, alfa-1-antitrypsine en sIgA – het voorbeeld in afbeelding 4 geeft een eerste indruk weer.

De volgende samenstelling (tabel 2) toont diverse behandelingsopties, die specifiek afgestemd op de laboratoriumresultaten en de voortgang van de behandeling kunnen worden ingezet.


biovis' DIAGNOSTIK

biovis Diagnostik MVZ GmbH

DAKKS

Naam Demo
Voornaam Demo
Geboortedatum 05.09.1965
Geslacht vrouwelijk
Opdrachtnr. 10974949
Ingangsdatum 01.04.2016
Datum monsterafname 08.03.2016 00:00:31
Materiaal
Gevalideerd door
Gevalideerd op 01.04.2016
Uitslagstatus Eindbericht
Uitslagstatus op 01.04.2016

Test	Uitslag	Eenheid	Normbereik	Vorig onderzoek
Fecesdiagnostiek				
Mikrobioomanalyse BASIS				
Moleculairgenetische microbioomanalyse				
Kenmerken van de feces				
Kleur	donderbruin			
Consistentie	brijig			
pH-waarde	7,0			
Diversiteit				
Diversiteit	4,66	Index	6,0 - 6,5 / > 5,0	

De diversiteit aan bacteriën in de darm kan van mens tot mens sterk variëren. Frequent gebruik van antibiotica, infecties toenemende leeftijd, eenzijdige voeding of roken zijn hierop van invloed.

Graad 4

Indeling van bacteriën naar fylum			
Ratio			
Firmicutes/Bacteroidetes	0,74	quotiënt	< 1,5
Actinobacteria	1,1	%	1,5 - 5,0
Bacteroidetes	52,1	%	30 - 60
Firmicutes	38,7	%	30 - 60
Fusobacteria	0,0	%	0,0 - 1,0
Proteobacteria	7,9	%	1,5 - 5,0
Verrucomicrobia	0,0	%	0,5 - 2,0
Overige	0,1	%	
Enterotype			
Bacteroides			

Het menselijke microbioom kan in drie enterotypes ingedeeld worden. De darmbacteriën vormen, afhankelijk van het enterotype, stabiele, maar duidelijk verschillende clusters met typische metabolische eigenschappen. Enterotype 1 wordt gekenmerkt door hoge aantallen Bacteroides en enterotype 2 door een sterke Prevotella kolonisatie. Enterotype 3 wordt gekenmerkt door een Ruminicoccus flora.

Enterotype 1

Afbeelding 4. **De eerste pagina van een voorbeelddiagnose van *biovis'***
De gekleurde balken geven de labresultaten met het mogelijke spectrum van de vastgestelde waarden aan. Index en quotiënt beschrijven de patiëntwaarden: als deze in het rood worden aangegeven, dan betekent dit een tekort aan de relevante parameter. Zwart staat voor waarden binnen het normbereik.

Probiotica	• Bescherming tegen pathogenen door vorming van ß-defensine of sIgA • Reductie van toxine door Clostridia • Reductie van inflammatoire darmaandoeningen • Reductie van TNF-α-vorming • Reductie α-1-antitrypsine • Verbetering van de slijmvliesbarrière (Leaky Gut) • Bevordering van een gezond intestinaal microbioom tijdens antibiotica-inname en darminfecties	
Prebiotica	**Bevordering** ↑	**Remming**
Zetmeel	*R. bromii* *E. rectale / Roseburia spp.* *Bifidobacterien*	Sulfaatreducerende bacteriën
Inuline	*F. prausnitzii* *Bifidobacterium spp.* *Lactobacillus spp.*	*Bacteroides spp.* *Prevotella sp.* *Clostridium sp.* Sulfaatreducerende bacteriën
Pectine	*Bacteroides*	
Fructo-oligosaccharide (FOS)	*F. prausnitzii* *A. muciniphila*	*Bacteroides spp.*
Galacto-oligosaccharide (GOS)	*Bifidobacterium spp.*	*Prevotella spp.*
Low-Carb-voeding		*R. bromii* *E. rectale / Roseburia spp.* *Bifidobaccerium spp.* *Faecalibacterium prausnitzii*
Vetrijke voeding		*A. muciniphila*
Vet-en eiwitrijke voeding	Sulfaatreducerende bacteriën	
Vetrijke voeding + FOS	*A. muciniphila* *F. prausnitzii*	
Aanvulling	**Glutamine** verbetert slijmvlieskwaliteit, -regeneratie en barrièrefunctie.	

Tabel 2: Therapie op maat: Opties met pre-en probiotica

Genoom-Sequencing

De genoom-sequencing is de gouden standaard methode in het wetenschappelijk onderzoek en omvat meer dan 250 verschillende soorten en geslachten – en dus aanzienlijk meer dan elke andere methode. De op sequencing gebaseerde microbioomanalyse biedt een eenvoudig gebruik en een **kosteneffectieve verwerking van de patiëntmonsters**. Voor het nauwkeurige onderzoek van het intesti-

nale microbioom met behulp van moleculair-genetische methoden gaat ***biovis‘*** steeds uit van de laatste wetenschappelijke onderzoeken en heeft met haar op de toekomst gerichte ontslastingsdiagnostiek een grote medische relevantie. Permanente optimalisatie door betere ontsluitings- en opsporingsmethoden en het gebruik van alternatieve, meer relevante indicatorkiemen met steeds nieuw toegevoegde herkenningssequenties van belangrijke darmbacteriën zullen een vaste plaats in de moderne, functionele ontlastingsdiagnostiek innemen.

Bronnen

1. Qin, J. et al.: A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. In: *Nature 464, S. 59-65, 2010*

2. Jandhyala, S. M. et al: Role of the normal gut microbiota. In: *World J Gastroenterol 21(29), S. 8787-8803, 2015*

3. Bull M.J., Plummer N.T.. Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease. In: *Integrative Medicine: A Clinician's Journal 13(6), S. 17-22, 2014*

4. Miquel, S. et al.: Faecalibacterium prausnitzii and human intestinal health. In: *Curr Opin Microbiol. 16(3), S. 255–261, 2013*

5. Everard A., et al.: Cross-talk between Akkermansia muciniphila and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. In: *PNAS 110(22), S. 9066-9071, 2013*

6. Ramezani, A. et al.: The Gut Microbiome, Kidney Disease, and Targeted Interventions. In: *JASN 25(4), S. 657-670, 2014*

7. Song, Y. et al.: Real-Time PCR Quantitation of Clostridia in Feces of Autistic Children. In: *AEM 70, S. 6459-6465, 2004*

8. Mandal, S. et al.: Analysis of composition of microbiomes: a novel method for studying microbial composition. In: *MEHD 26, S. 27663-27670, 2015*

9. The NIH HMP Working Group et al.: *The NIH Human Microbiome Project. In: Genome Res. 19, S. 2317-2323, 2009.*

10. Arumugam, M. et al.: Enterotypes of the human gut microbiome. In: *Nature 473(7346), S. 174-180, 2011*

11. Everard, A. et al.: Cross-Talk between Akkermansia muciniphila and Intestinal Epithelium Controls Diet-Induced Obesity. In: *PNAS 110(22), S. 9066–9071, 2013*

12. Hansen, C. H. F. et al.: Early life treatment with vancomycin propagates Akkermansia muciniphila and reduces diabetes incidence in the NOD mouse. In: *Diabetologia 55, S. 2285-2294, 2012*

13. Deshpande, N. P. et al.: Comparative genomics of Campylobacter concisus isolates reveals genetic diversity and provides insights into disease association. In: *BMC Genomics 14, 585, 2013*

14. Michielan, A. et al.: Intestinal Permeability in Inflammatory Bowel Disease: Pathogenesis, Clinical Evaluation, and Therapy of Leaky Gut. In: *Mediators of Inflammation, 2015, 628157*

15. Nava G.M. et al.: Abundance and diversity of mucosa-associated hydrogenotrophic microbes in the healthy human colon. In: *The ISME Journal 6(1), S. 57-70, 2012*

16. Scher, J. U. et al.: Expansion of intestinal Prevotella copri correlates with enhanced susceptibility to arthritis. In: *eLife, 2, e01202, 2013*

17. Smith, P.A.: Brain, meet gut. In: *Nature 526, S. 312-314, 2015*

18. Scott, K. P. et al. Manipulating the gut microbiota to maintain health and treat disease. In: *Microbial Ecology in Health and Disease, 26, S. 25877-25977, 2015*

19. Keller, P.M. et al.: 16S-rRNA-Gen-basierte Identifikation bakterieller Infektionen. *BIOspektrum S. 755-759, 2010*

20. Leblhuber, F. et al.: Elevated fecal calprotectin in patients with Alzheimer's dementia indicates leaky gut. *J Neural Transm (Vienna) 122(9) S. 1319-1322, 2015*

21. Flint, H. J. et al.: The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 9(10), S. 577-589, 2012*

Alle afbeeldingen: © fotolia

- **Heeft u hier nog vragen over?**
- **Bent u geïnteresseerd in de nieuwe mogelijkheden van de diagnostiek van *biovis*‘?**
- **Wilt u ontlastingsmonsters laten onderzoeken?**
- **Bel of mail ons - we zijn er voor u!**

***biovis*‘** Diagnostiek
Computerweg 8
3542 DR Utrecht
Tel.: +31/88/10 10 88 0
Fax: +31/3 46/57 52 60
nazan.vangelderen@biovis-diagnostik.de
www.biovis.nl

***biovis*‘** Diagnostik GmbH
Justus-Staudt-Str. 2
65555 Limburg
Tel.: +49/6431/212 48-0
Fax: +49/6431/212 48-66
info@biovis.de
www.biovis.de

biovis'
Diagnostiek

Computerweg 8
3542 DR Utrecht
Tel.: +31/88/10 10 88 0
Fax: +31/3 46/57 52 60
nazan.vangelderen@biovis-diagnostik.de
www.biovis.nl

biovis'
Diagnostik MVZ GmbH

Justus-Staudt-Straße 2
65555 Limburg
Tel.: +49/64 31/2 12 48-0
Fax: +49/64 31/2 12 48-66
info@biovis.de
www.biovis.de

© biovis 2016