



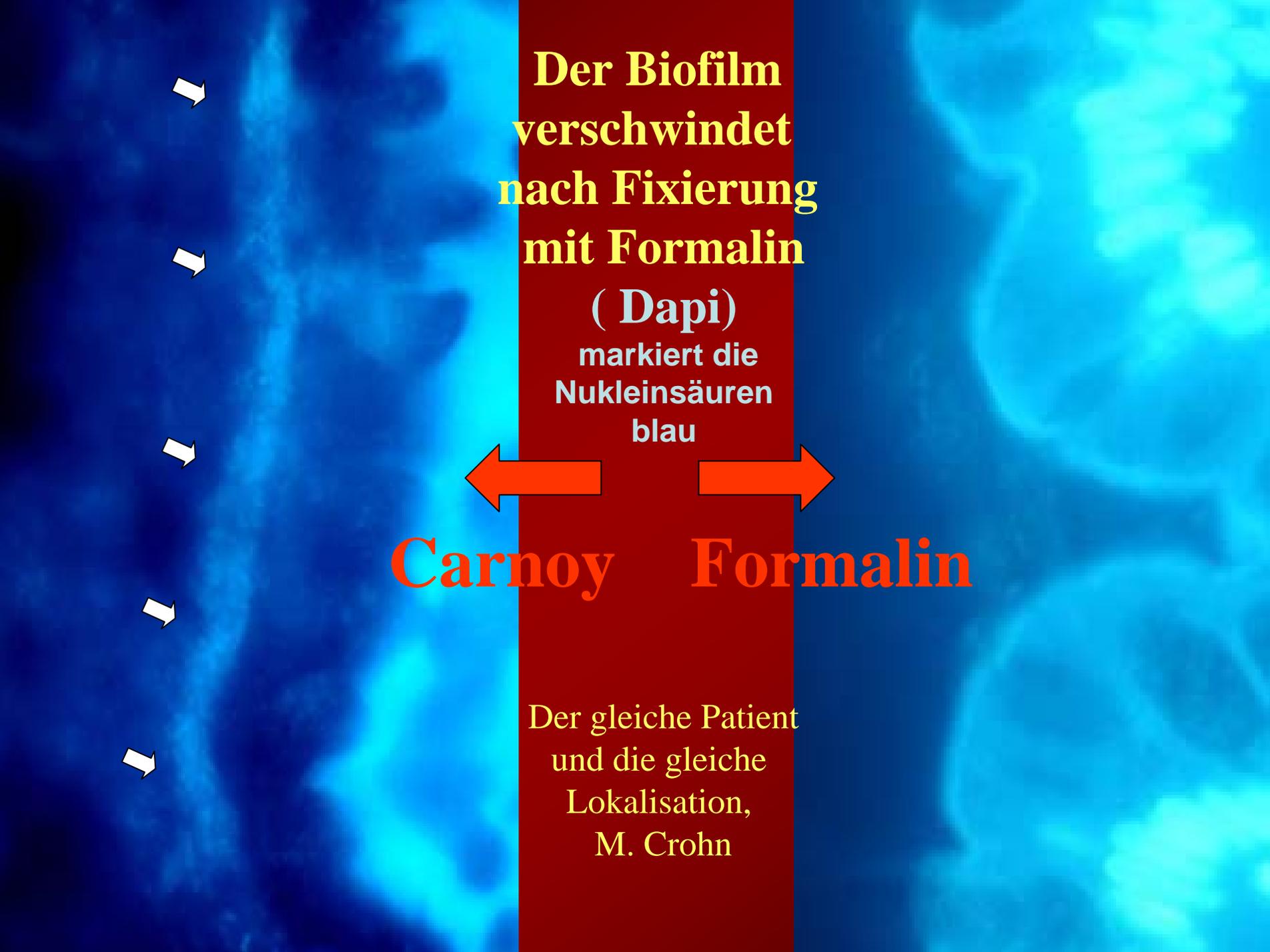
Polymikrobielle “Stromatolithe”  
im Salzsee von Australien

# FISH Analyse des mukosalen Biofilm



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

mit r-RNA komplementären Sonden



The image shows a side-by-side comparison of a tissue section from a Crohn's disease patient. The left side, labeled 'Carnoy', shows a well-defined, multi-layered biofilm structure. The right side, labeled 'Formalin', shows the same area after formalin fixation, where the biofilm has disappeared, leaving only individual cells. A vertical red bar is placed between the two images, containing text that explains the fixation process and the use of Dapi stain. Two orange arrows point from the text in the red bar towards the respective images. On the left image, five white arrows point to the biofilm structure.

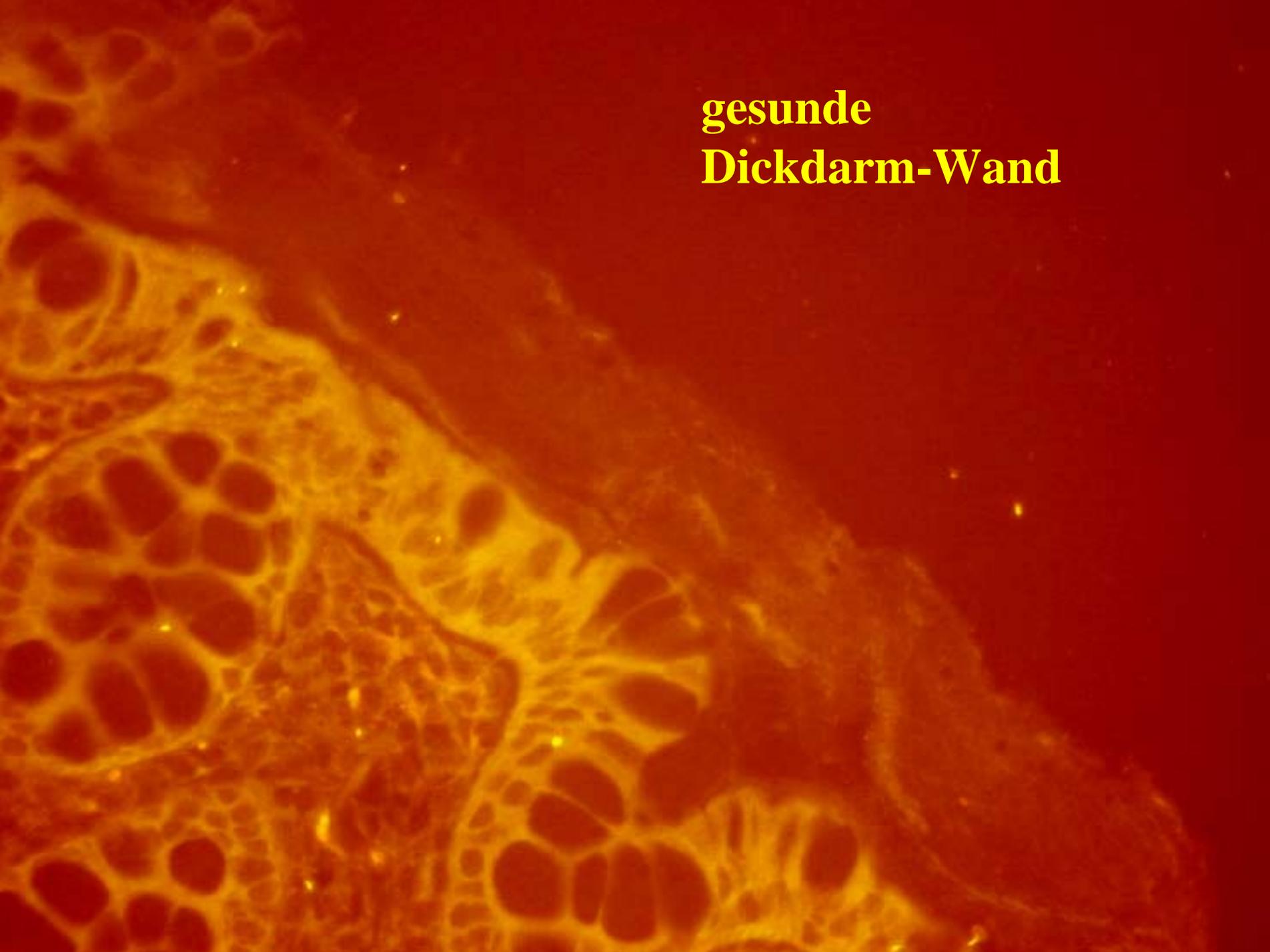
**Der Biofilm  
verschwindet  
nach Fixierung  
mit Formalin**

**( Dapi )**  
markiert die  
Nukleinsäuren  
blau

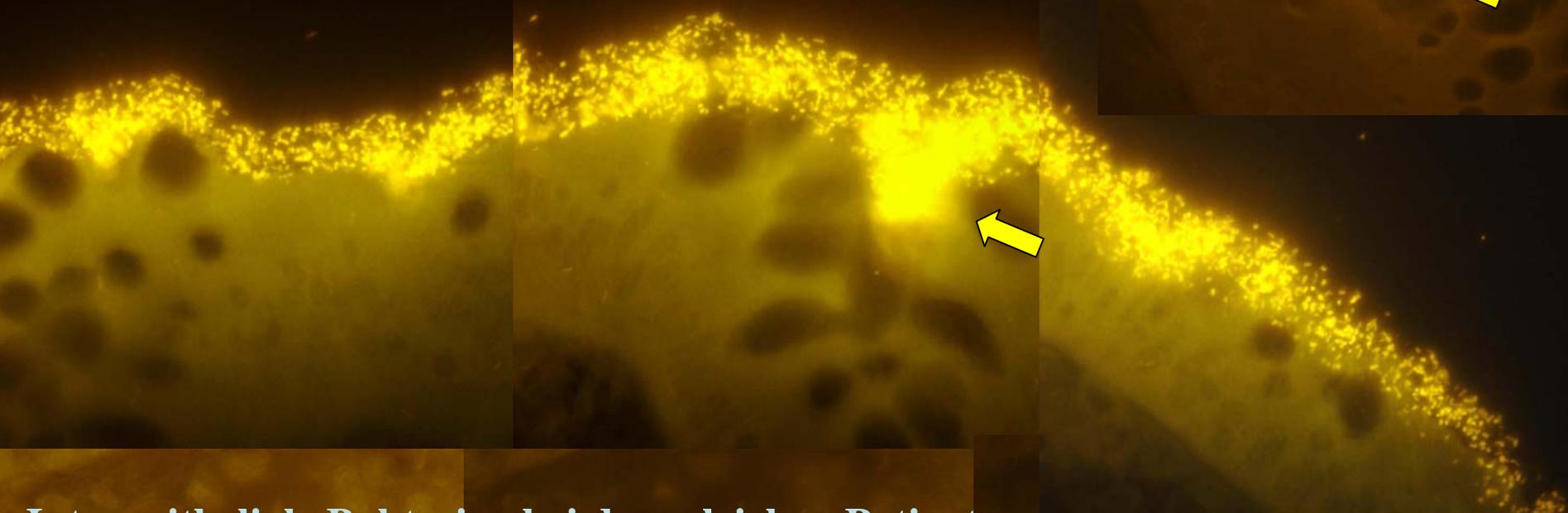
**Carnoy      Formalin**

Der gleiche Patient  
und die gleiche  
Lokalisation,  
M. Crohn

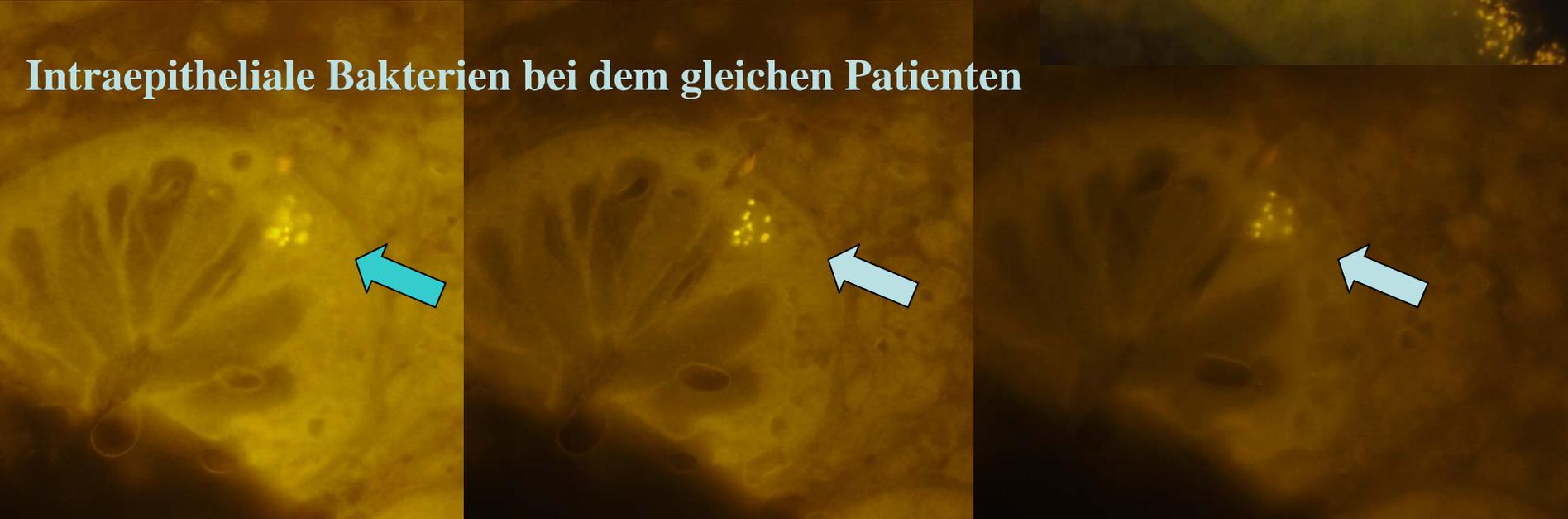
**gesunde  
Dickdarm-Wand**

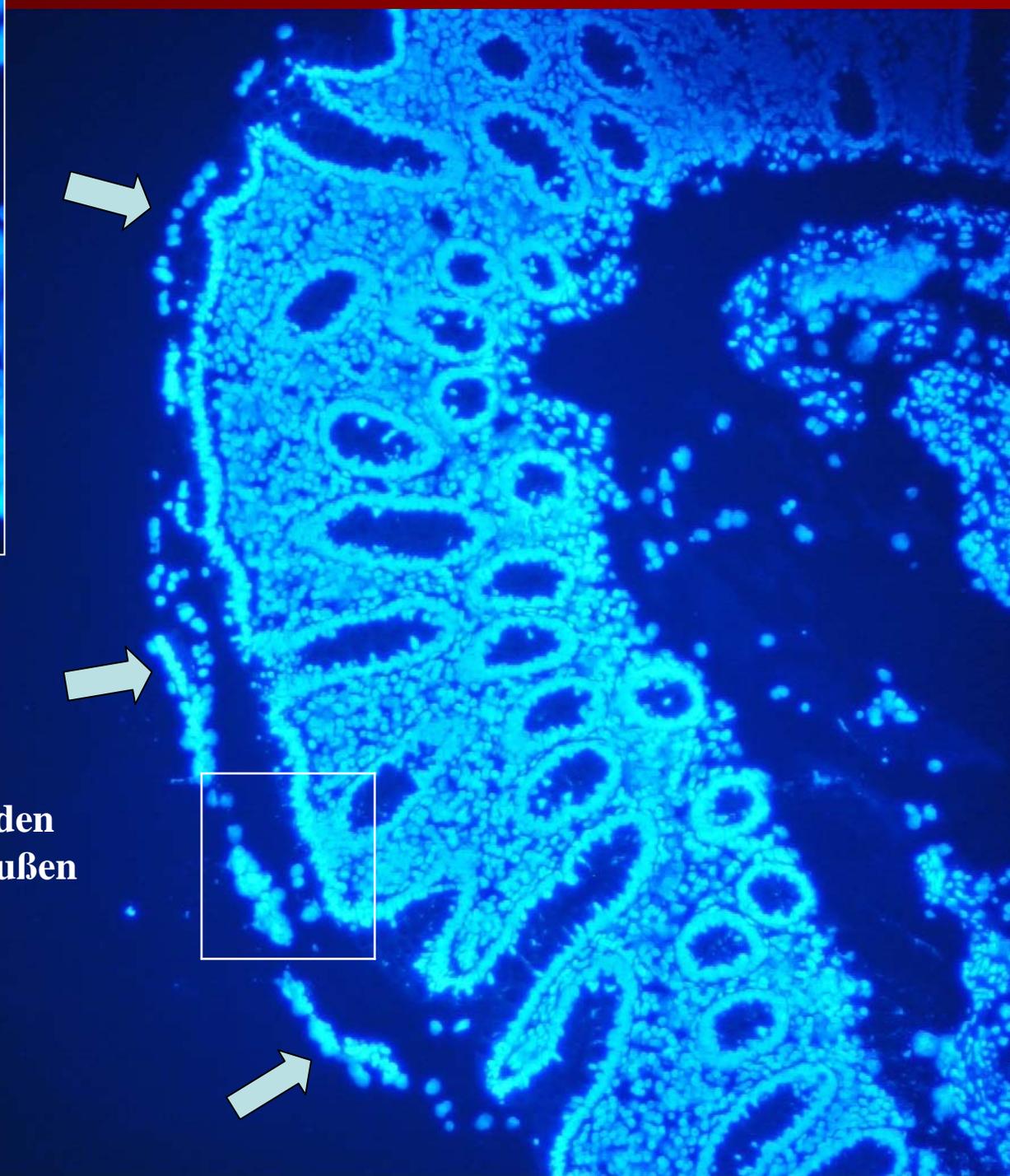
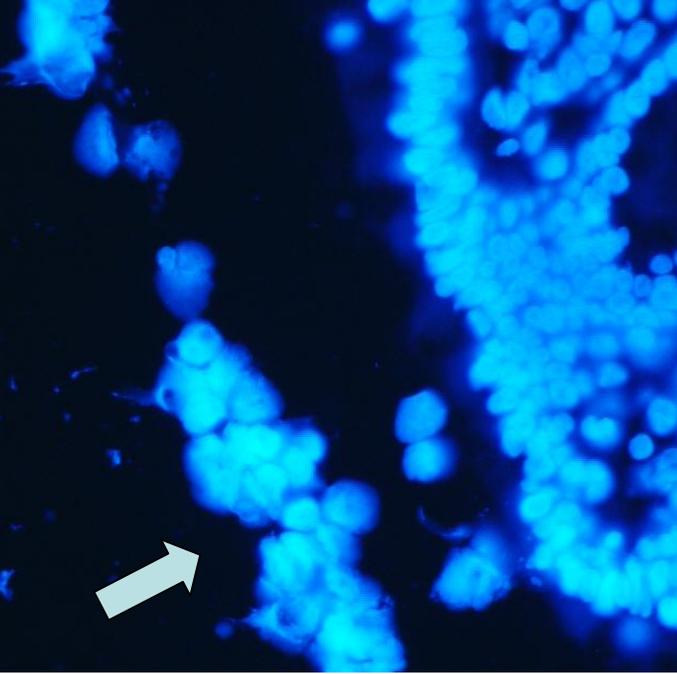


**Dichter *Bacteroides fragilis* Biofilm bedeckt die Mukosaoberfläche, Patient mit M. Crohn**



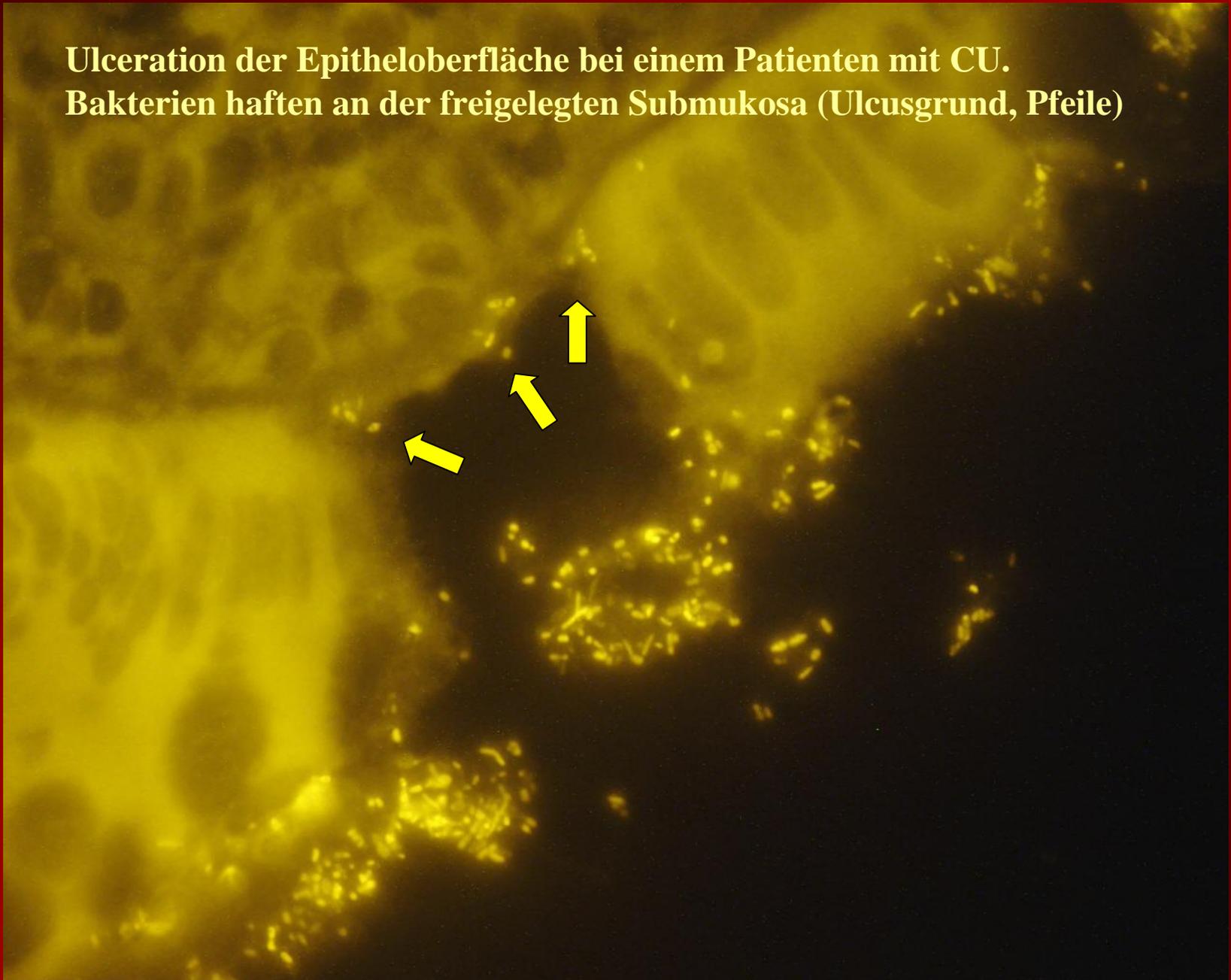
**Intraepitheliale Bakterien bei dem gleichen Patienten**

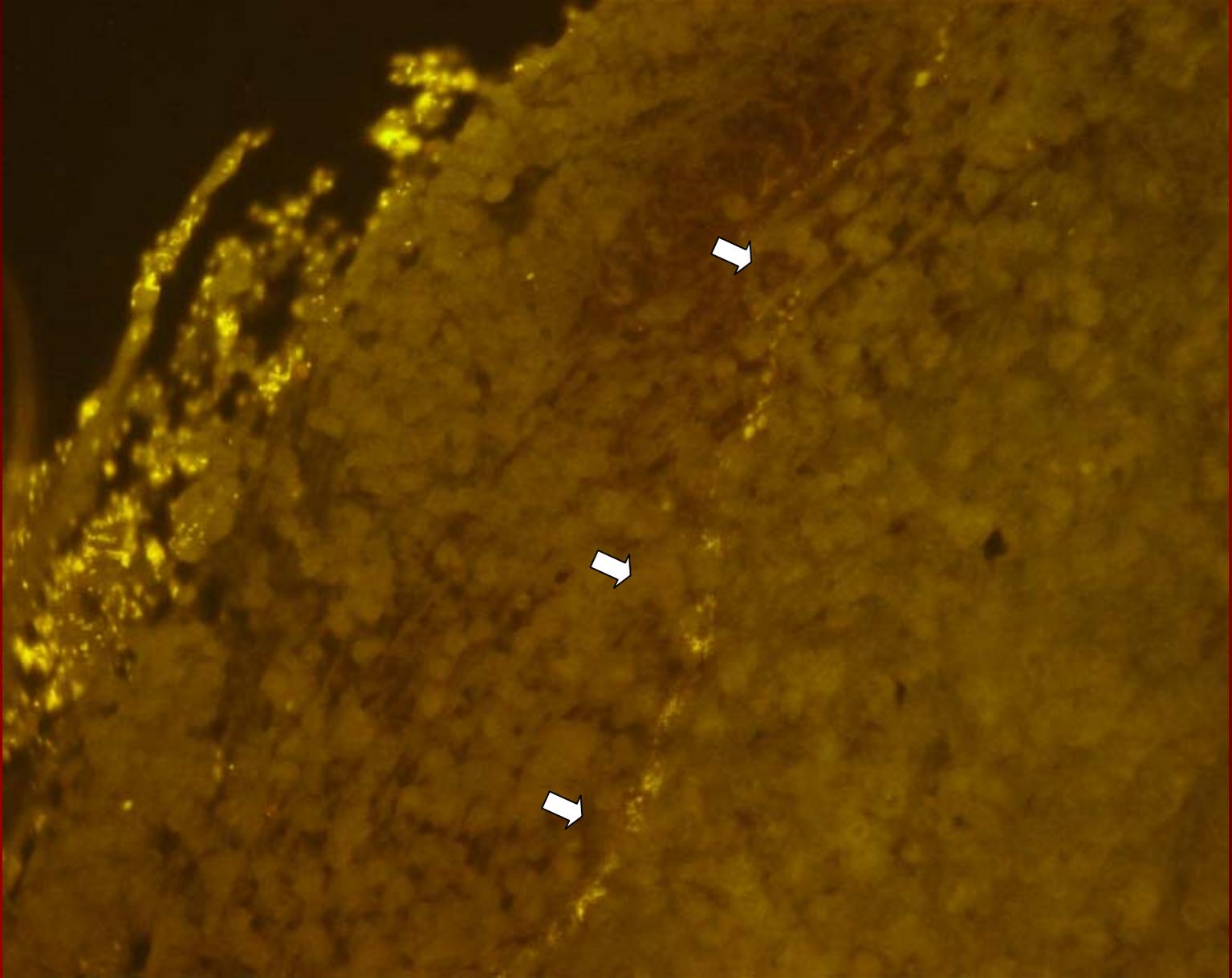




**Leukocyten wandern in den  
Mucus und bilden von außen  
einen Schutzwall.**

**Ulceration der Epitheloberfläche bei einem Patienten mit CU.  
Bakterien haften an der freigelegten Submukosa (Ulcusgrund, Pfeile)**





**Eine Straße von Bacteroides-Infiltration, MC**

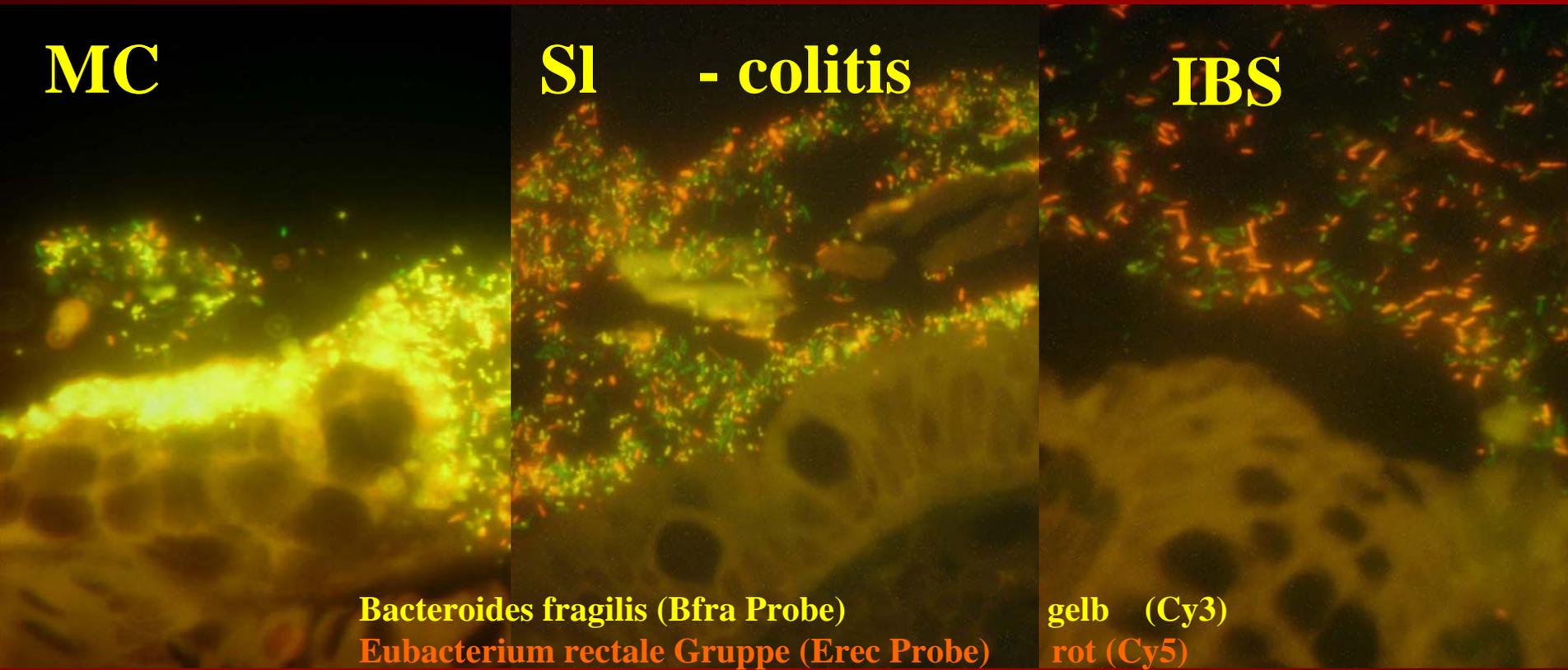
**10 Bakterien in einem Quadrat-Zentimeter  
entsprechen Konzentrationen von  $10^9$ /ml**



**MC**

**Sl - colitis**

**IBS**



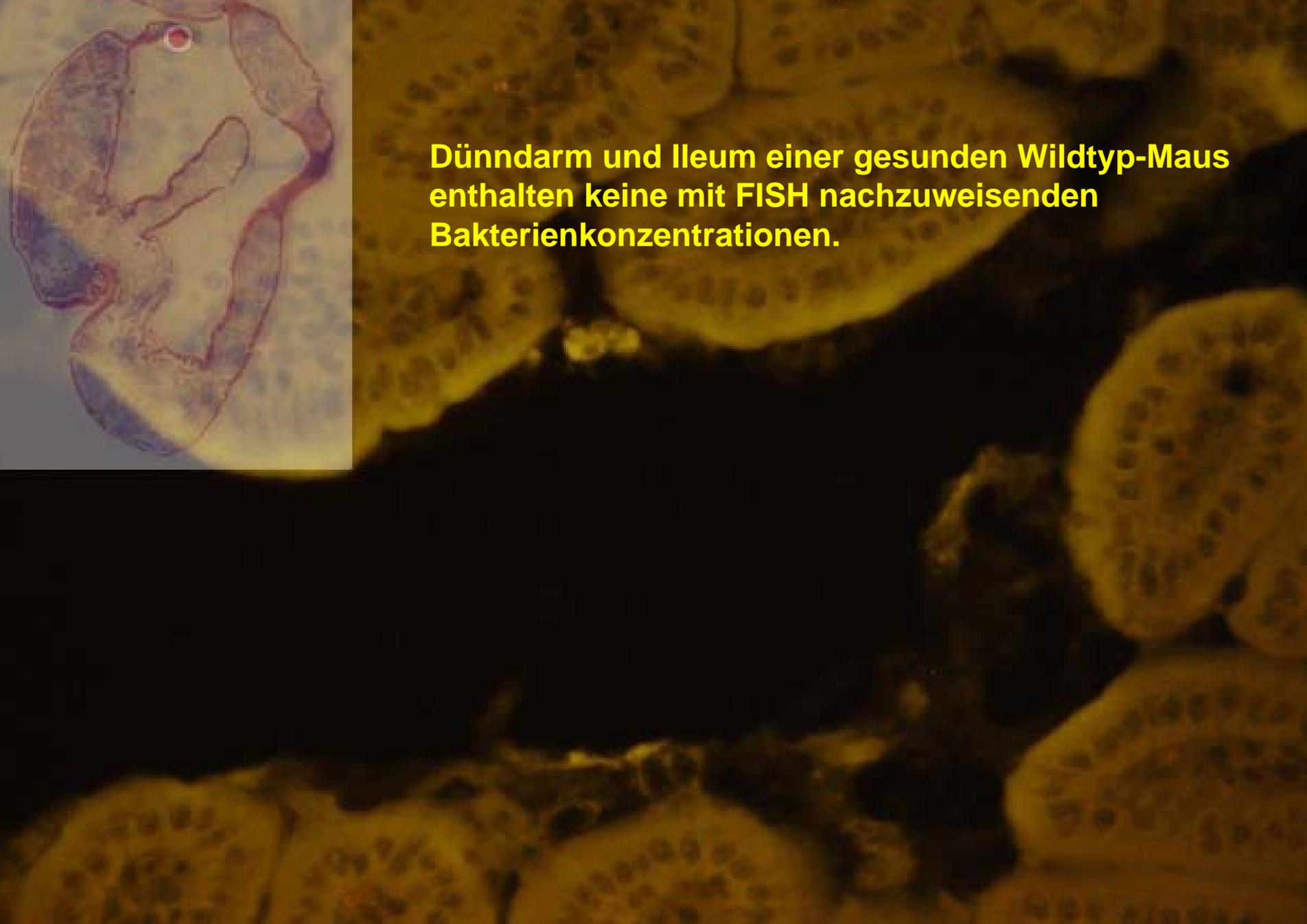
**Bacteroides fragilis (Bfra Probe)**  
**Eubacterium rectale Gruppe (Erec Probe)**  
**Alle anderen Bakterien (Eub338)**

**gelb (Cy3)**  
**rot (Cy5)**  
**grün (FITC)**

| Prozent von Patienten mit 10 <sup>9</sup> B/ml |             | <b>MC</b> | <b>UC</b> | <b>Slc</b> | <b>IBS</b> | <b>Kontr.</b> |
|--|-------------|-----------|-----------|------------|------------|---------------|
| Anteil am Biofilm                              | <b>Bfra</b> | 60%       | 30%       | 31%        | 14%        | 16%           |
|  | <b>Erec</b> | 10%       | 5%        | 18%        | 48%        | 32%           |



**Dünndarm und Ileum einer gesunden Wildtyp-Maus  
enthalten keine mit FISH nachzuweisenden  
Bakterienkonzentrationen.**



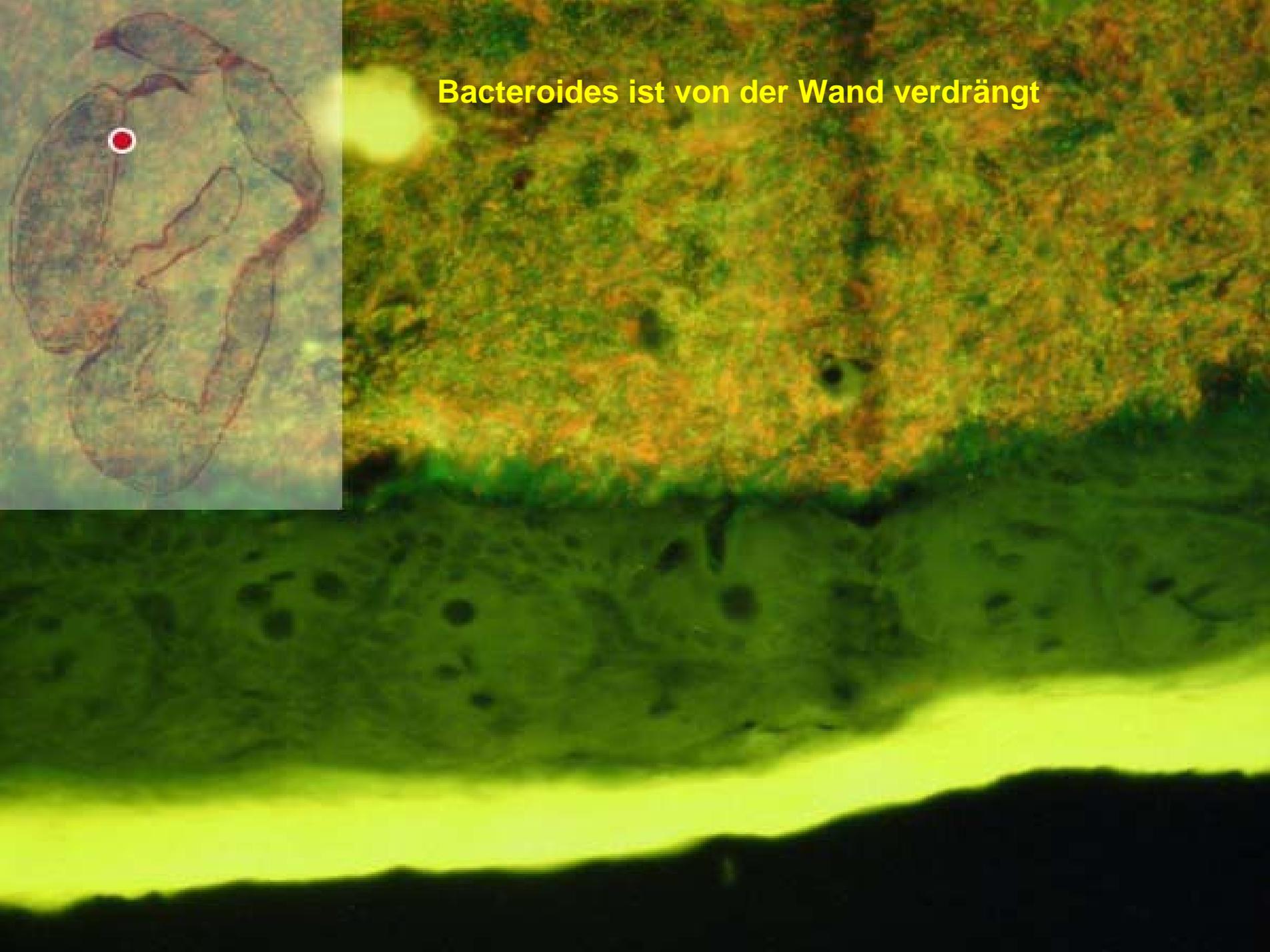
**Im Coecum explodiert die Keimzahl**

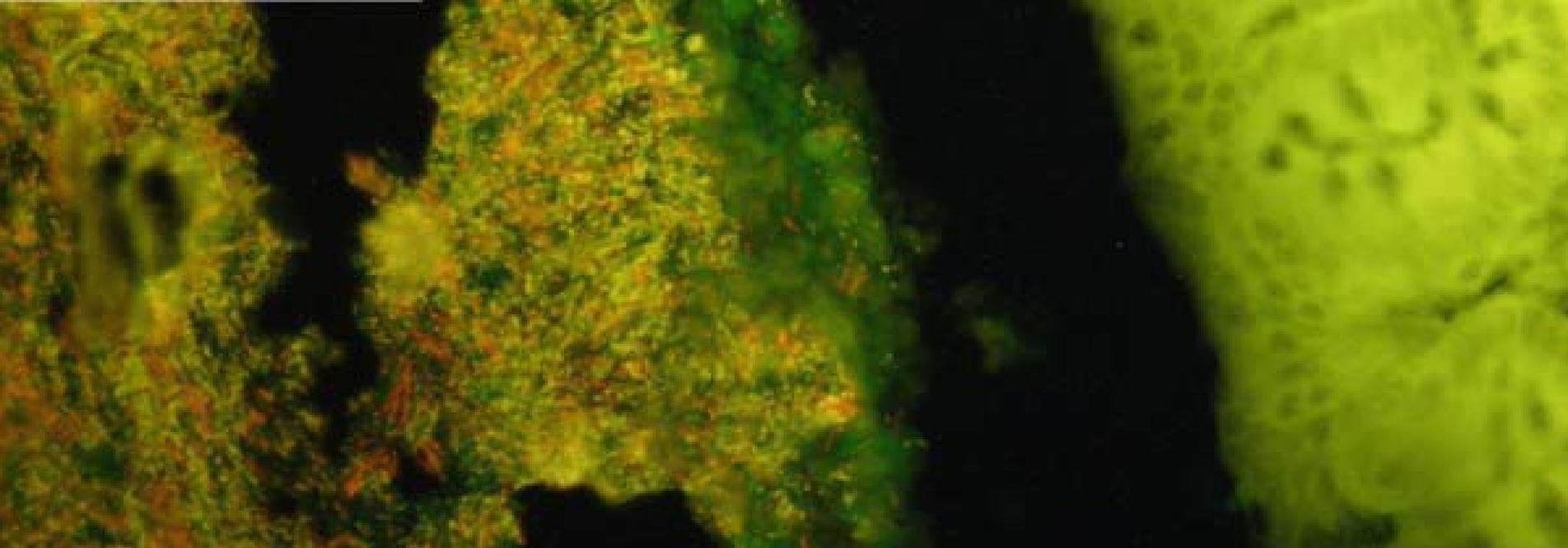


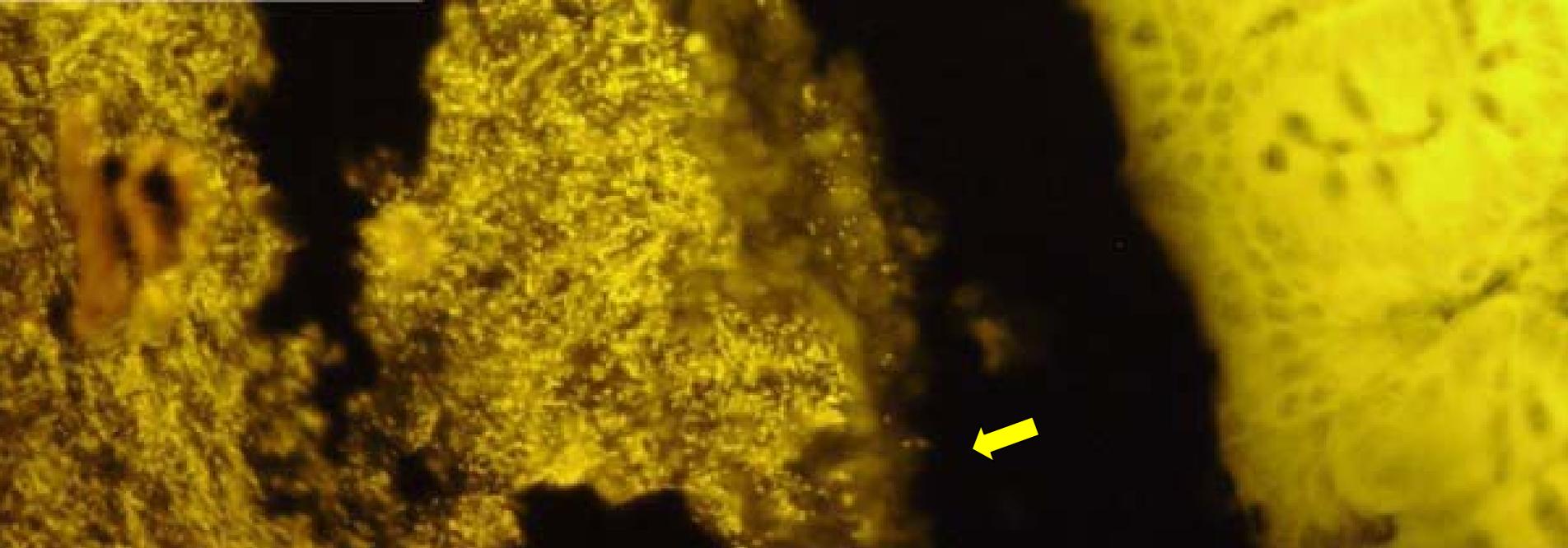
**Bakterien (mit Ausnahme von Bacteroides)  
sind in den Krypten**

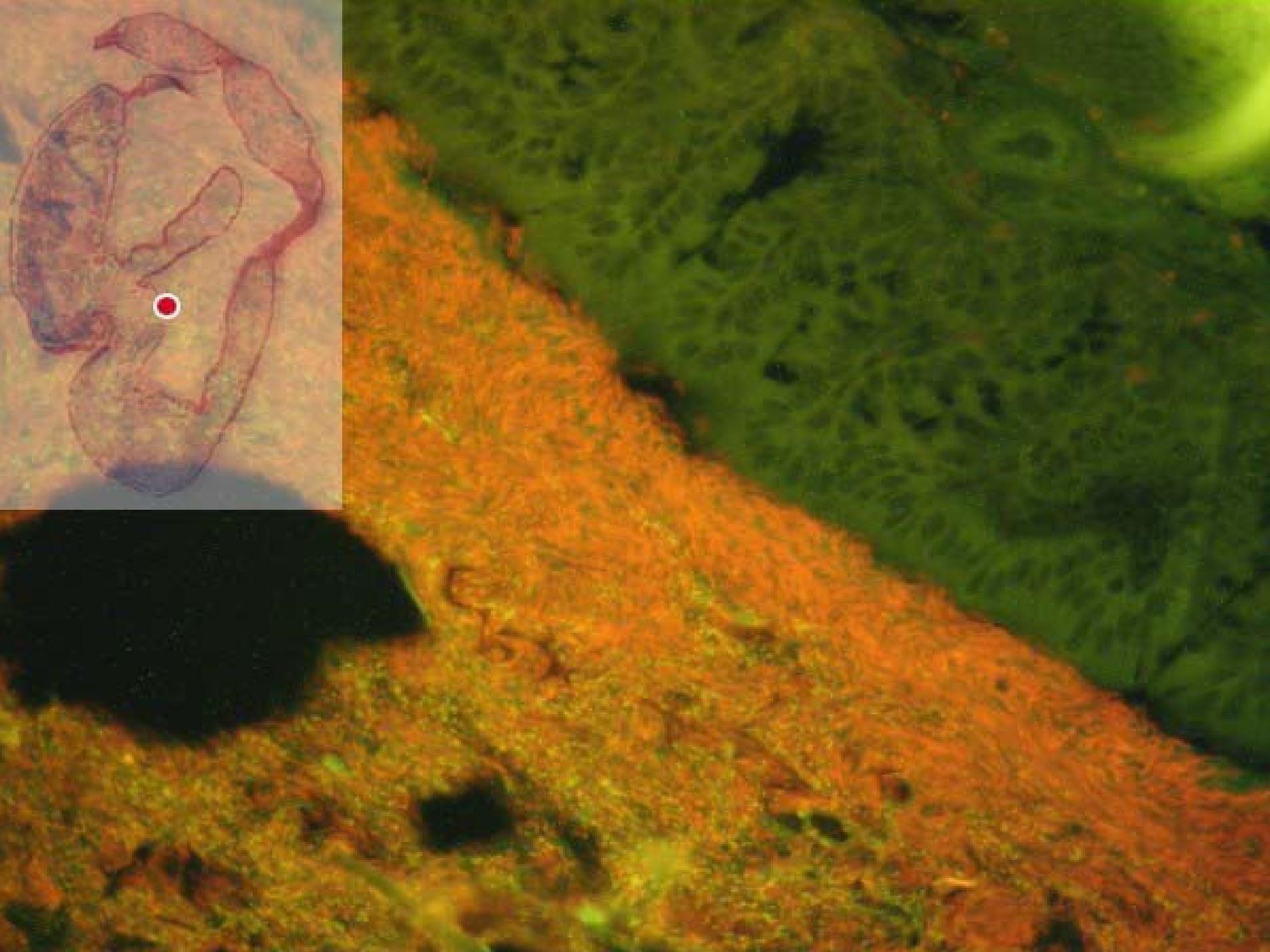


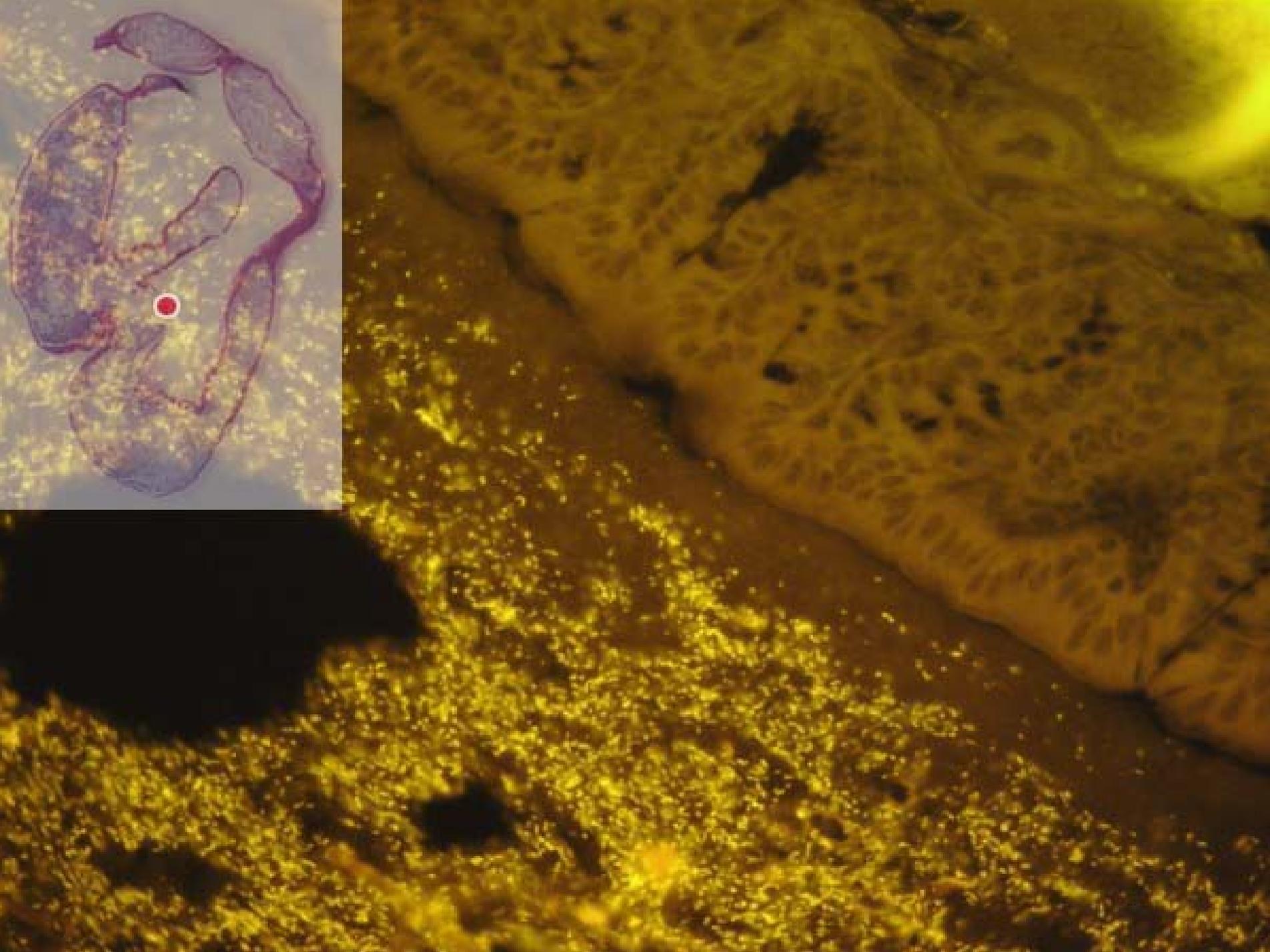
**Bacteroides ist von der Wand verdrängt**

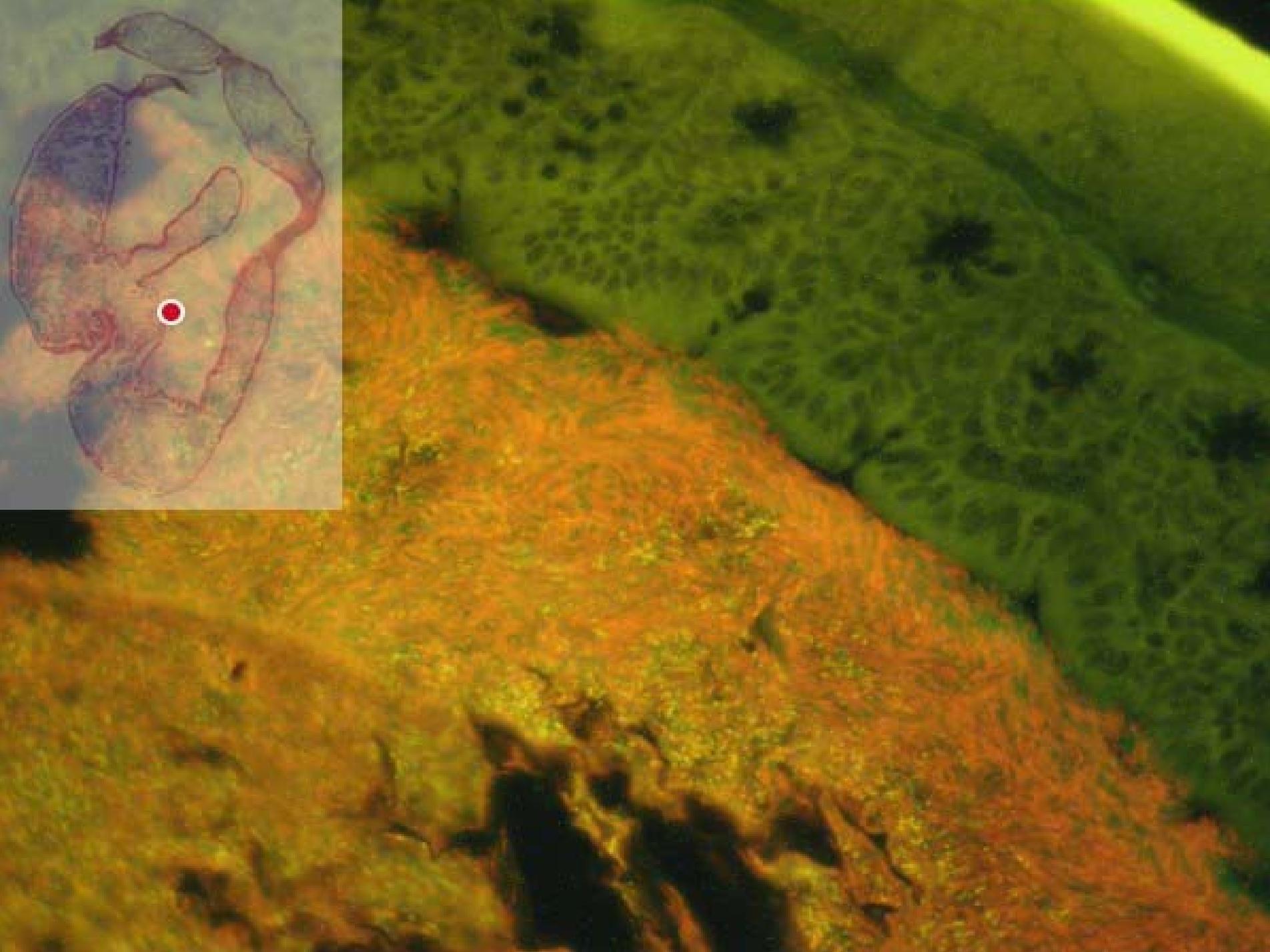


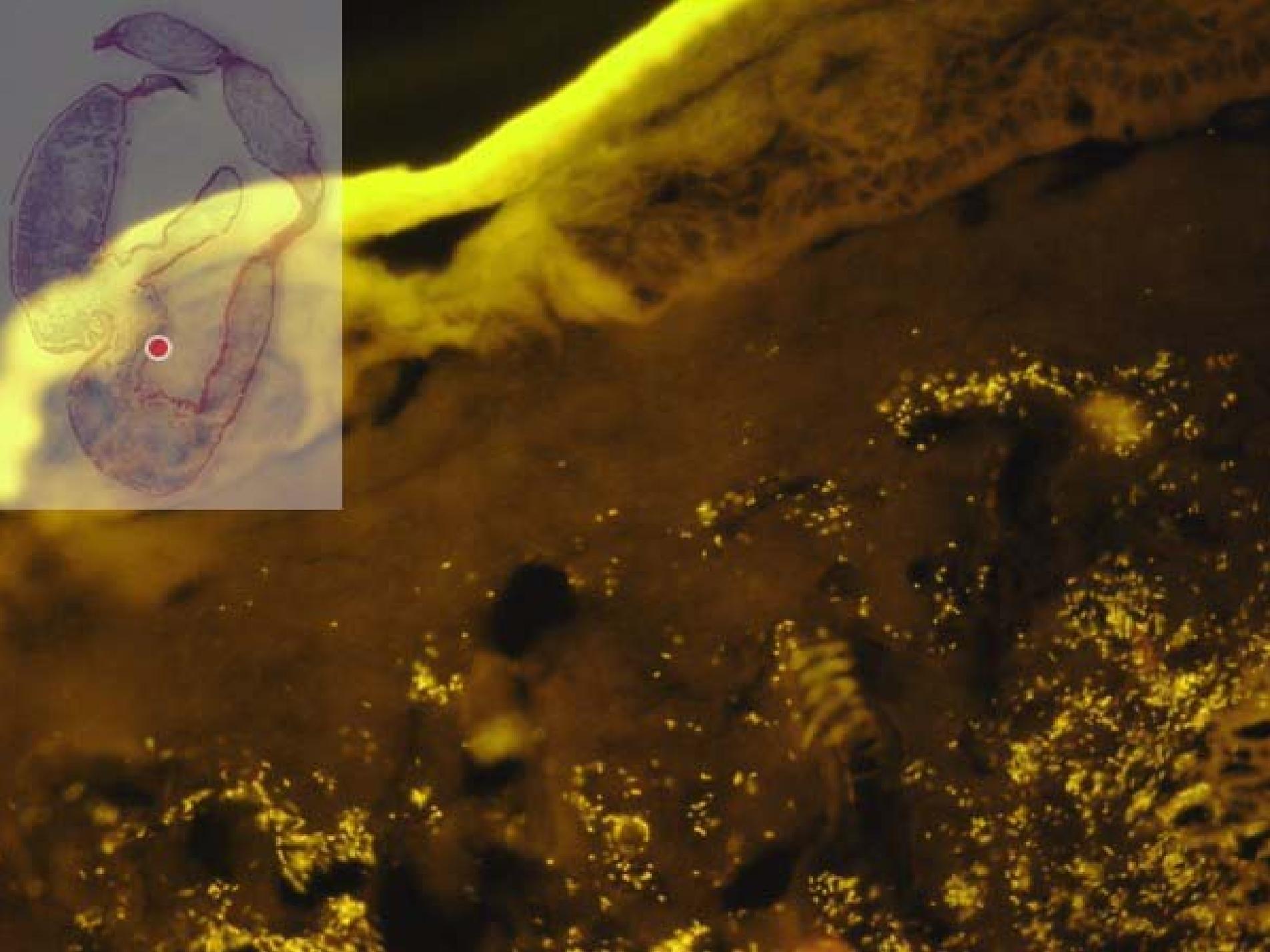


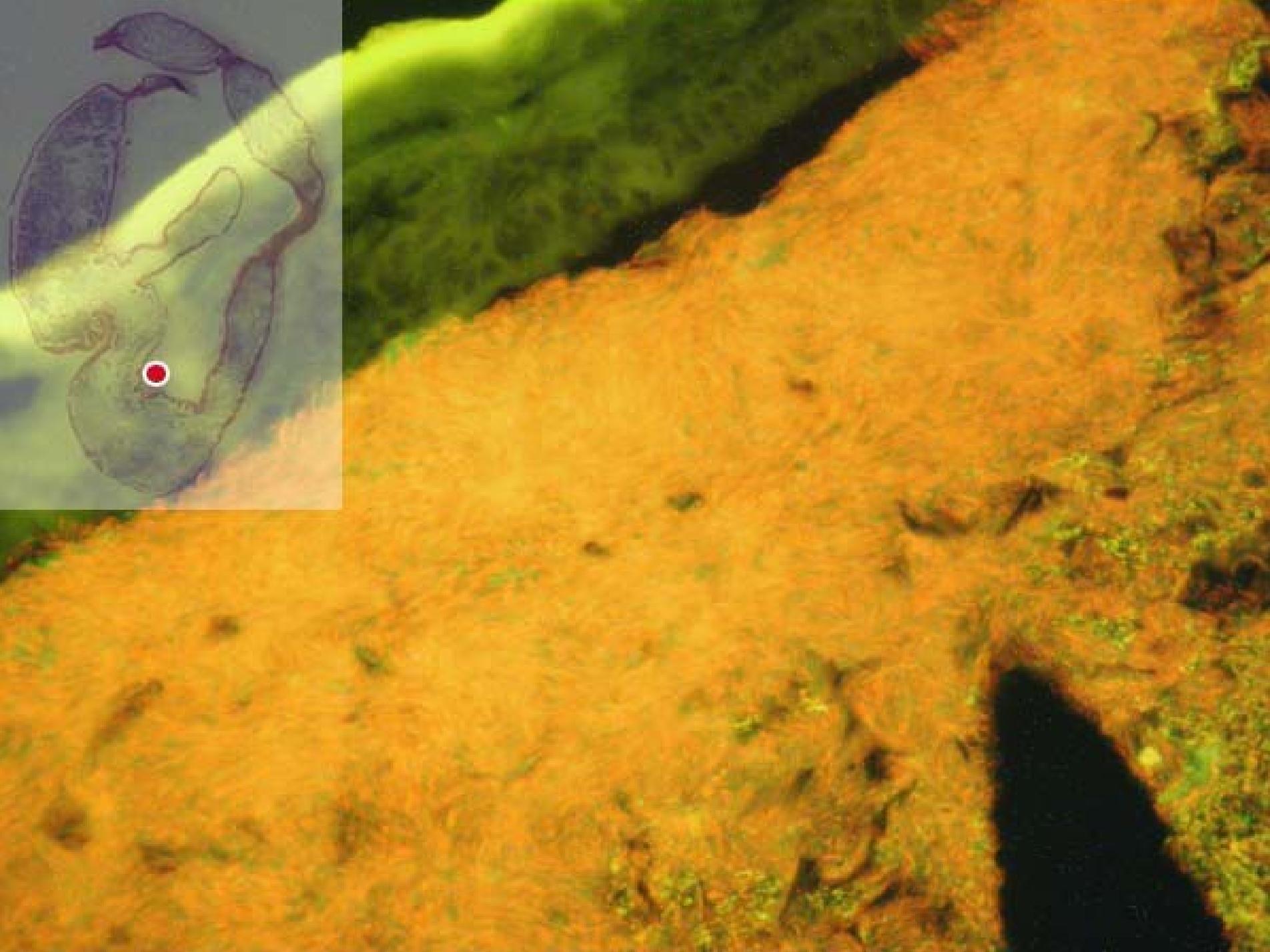


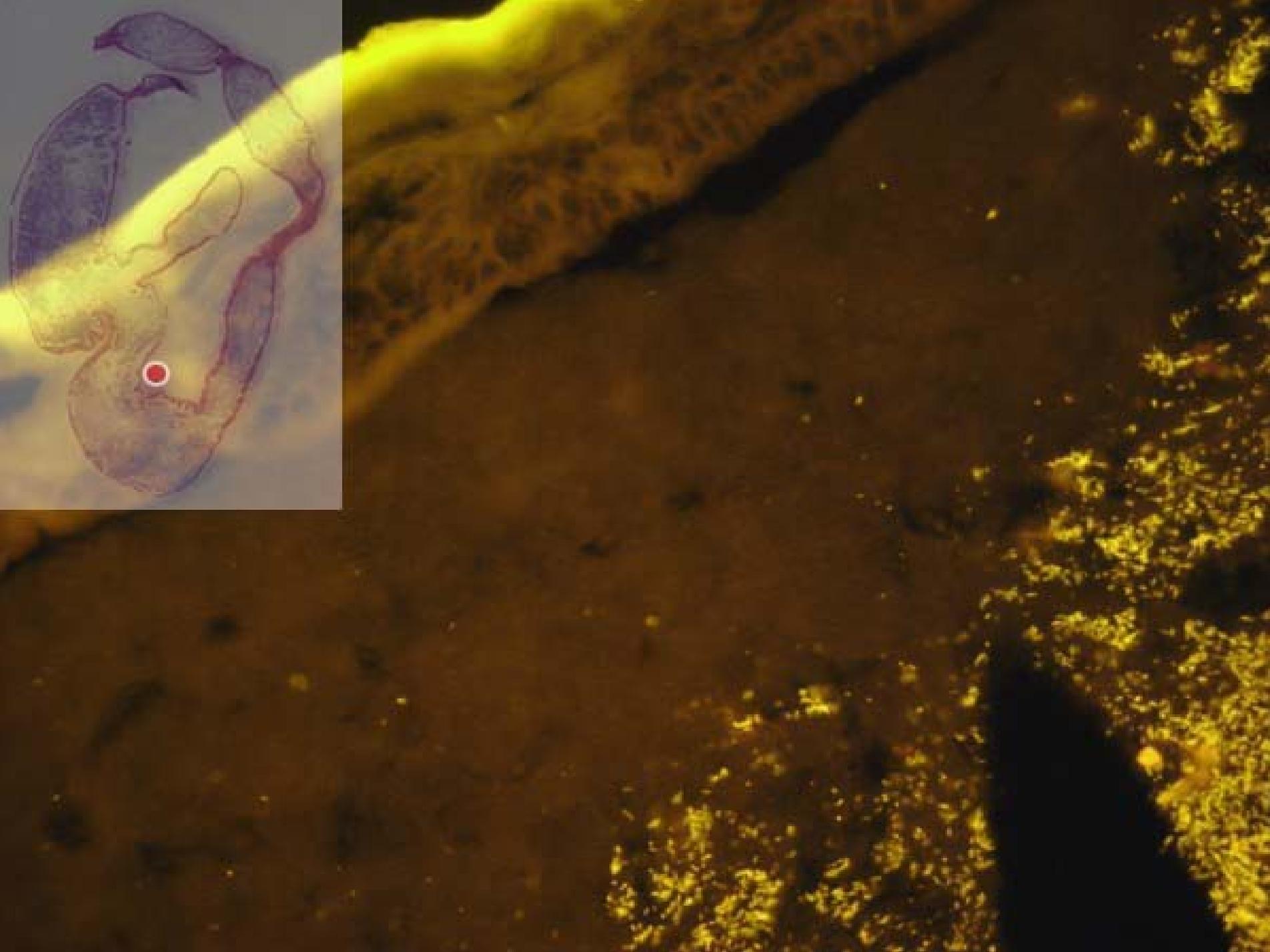








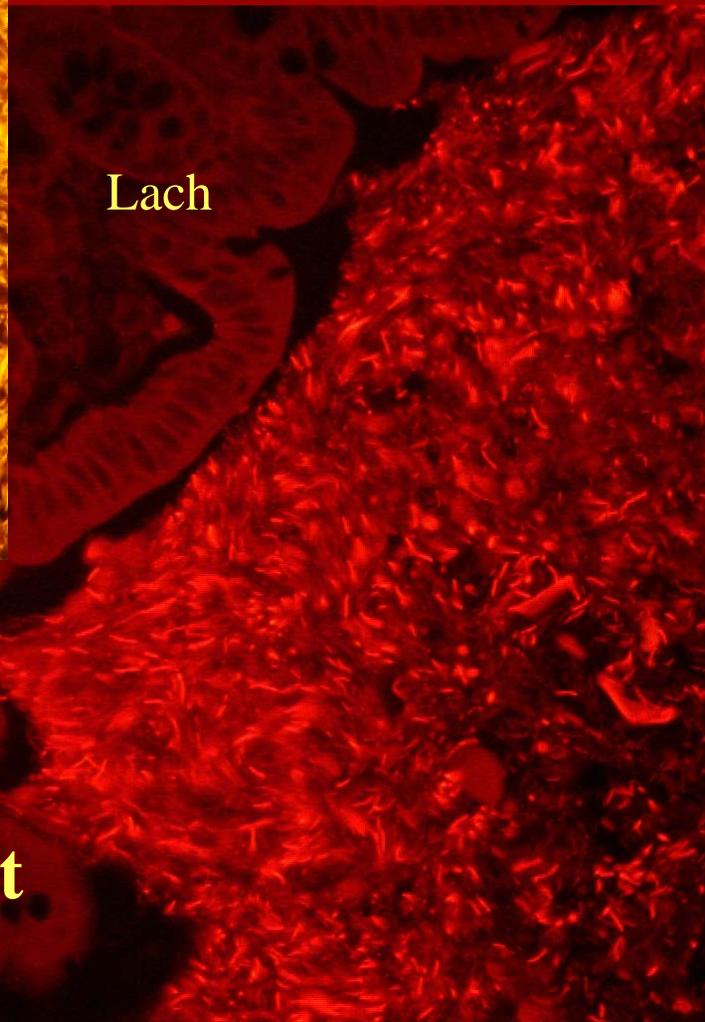






Phasco und EREC

EREC  
Lab,  
Bif,  
Phasco  
Lach

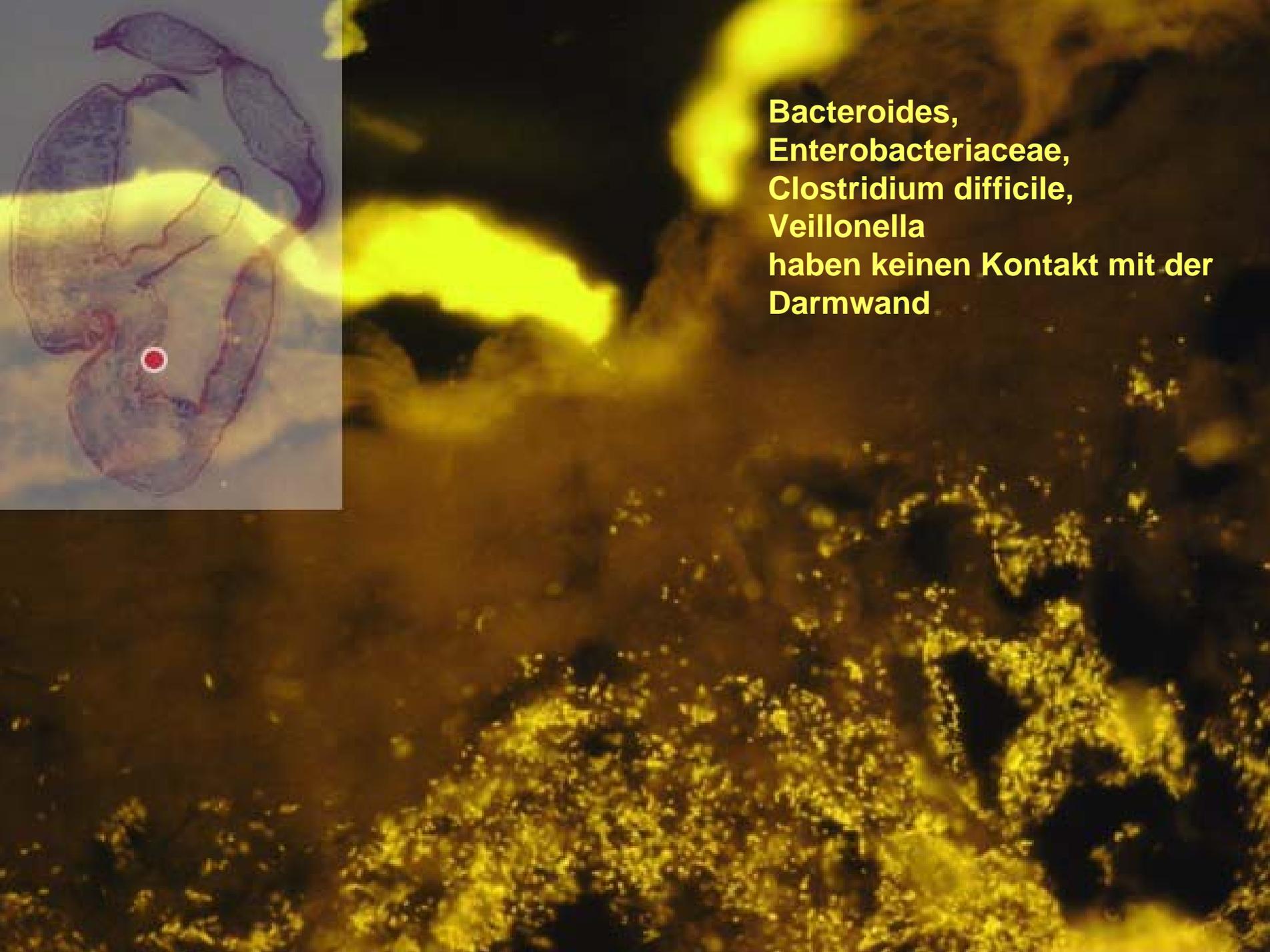


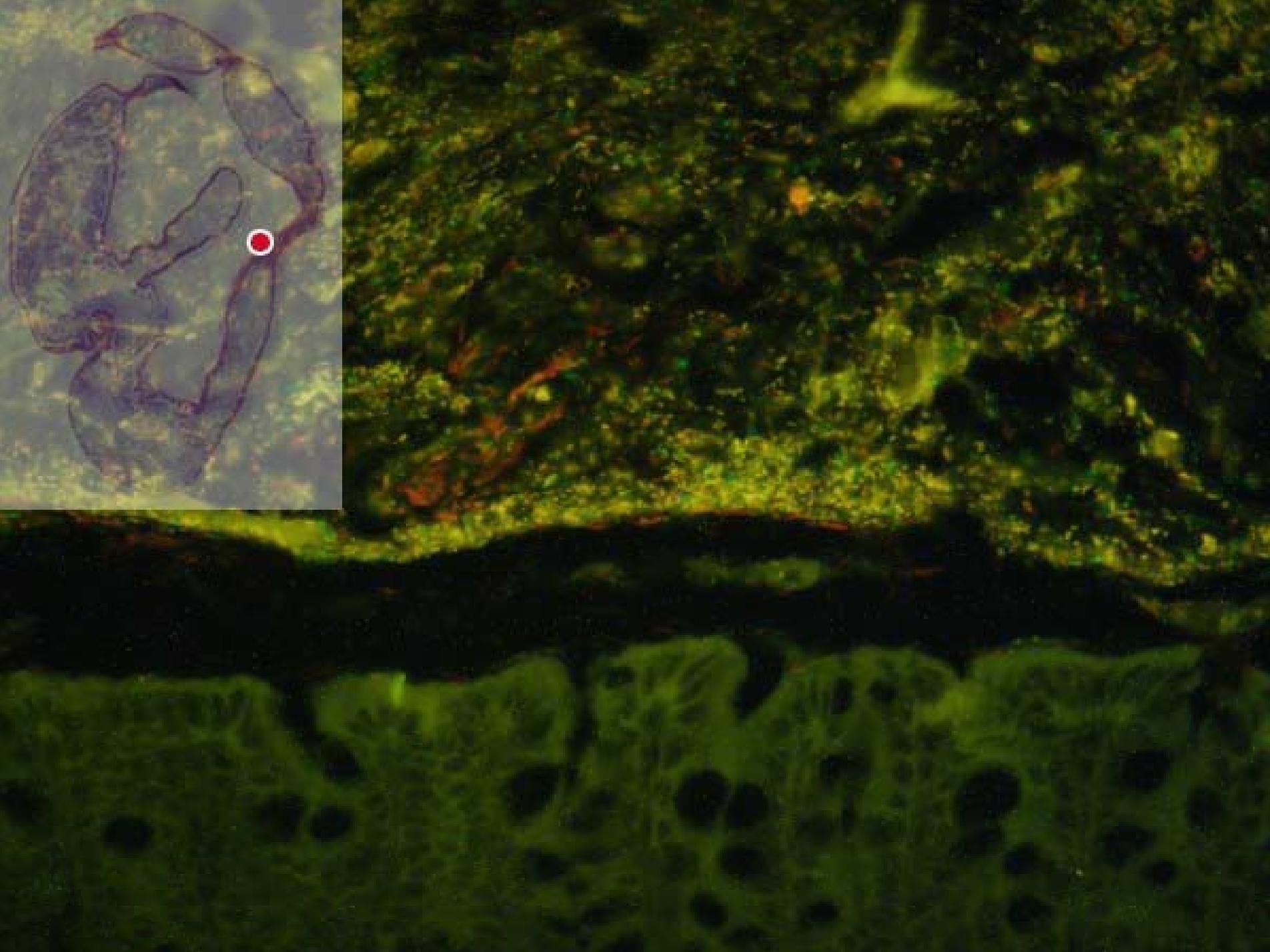
Lach

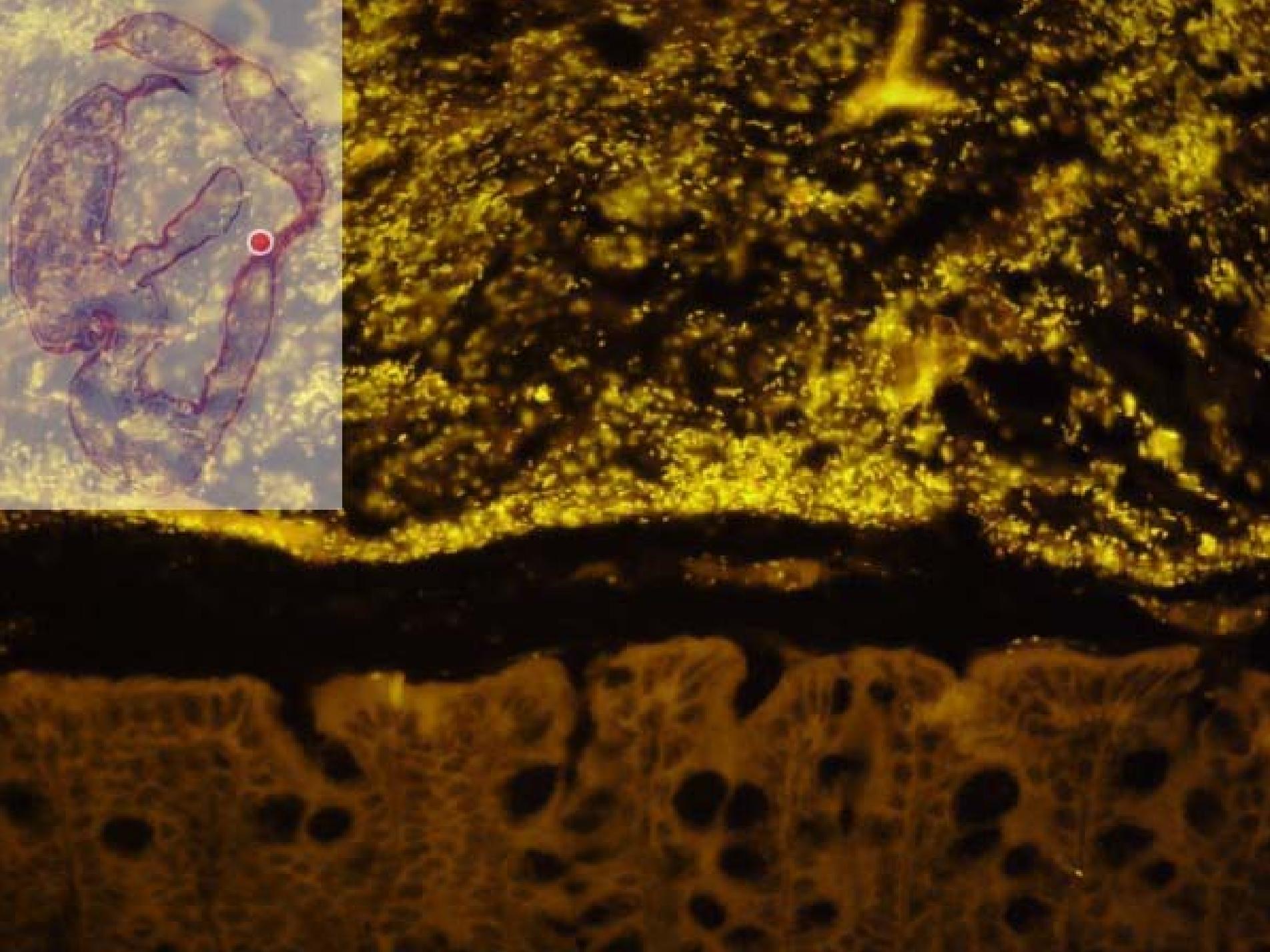
**Zusammensetzung der Sperrschicht**

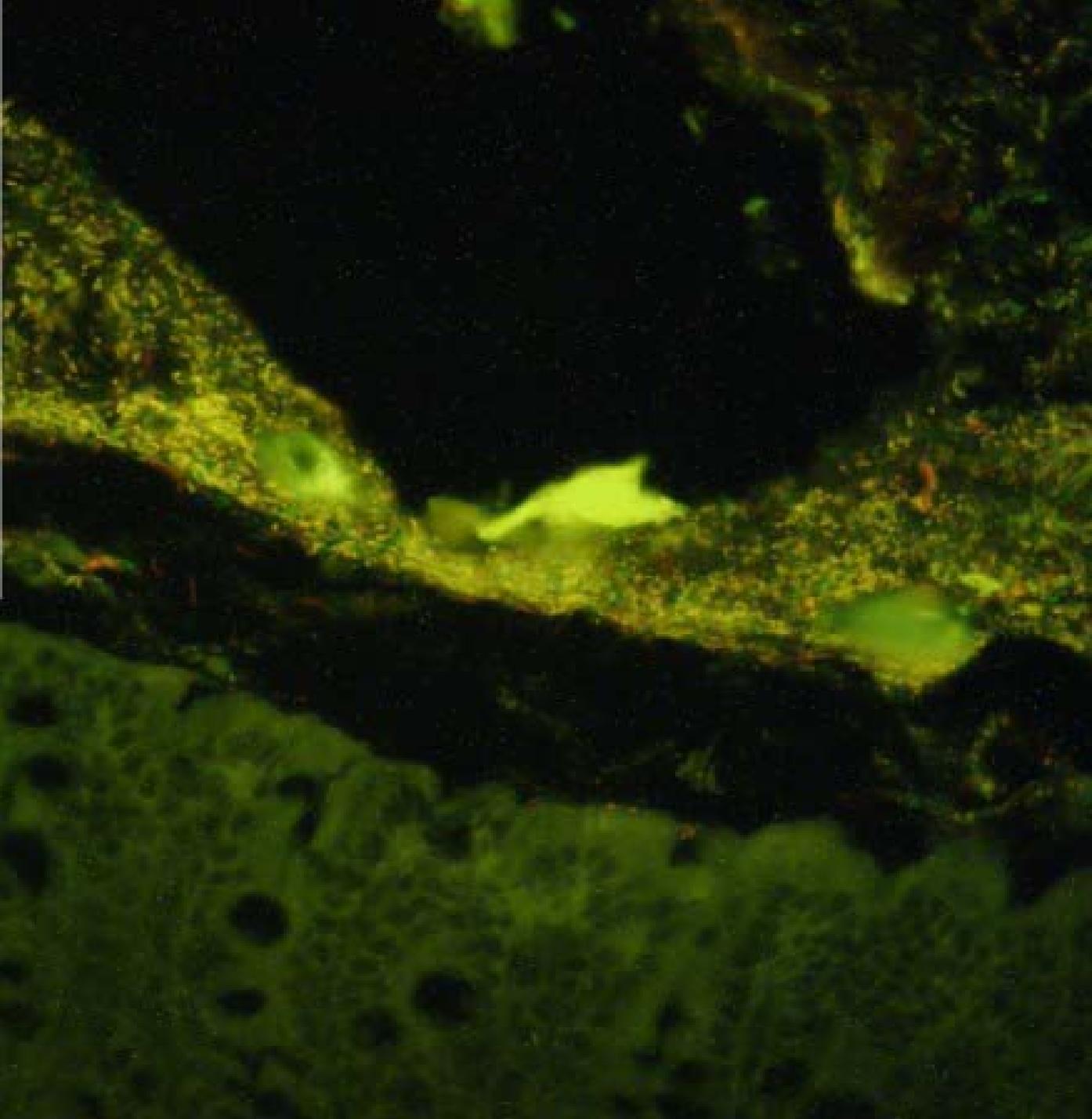


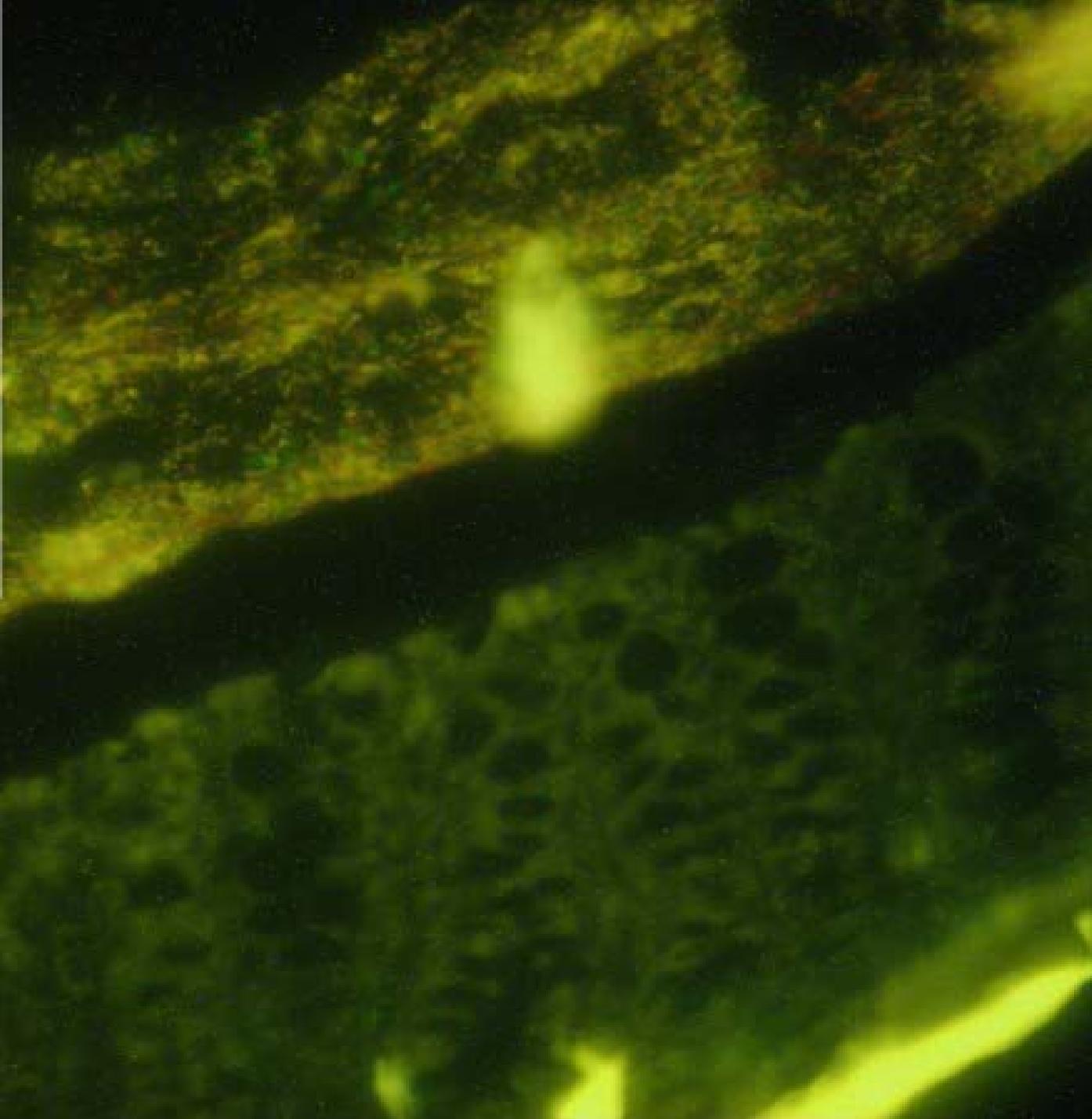
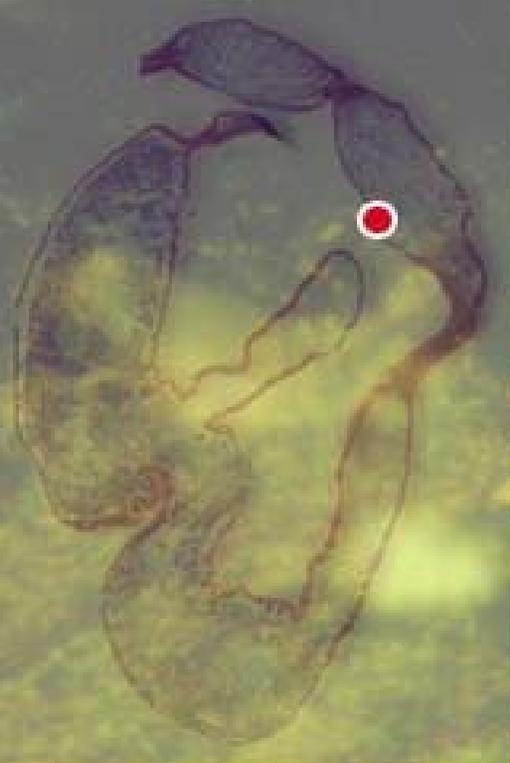
**Bacteroides,  
Enterobacteriaceae,  
Clostridium difficile,  
Veillonella  
haben keinen Kontakt mit der  
Darmwand**

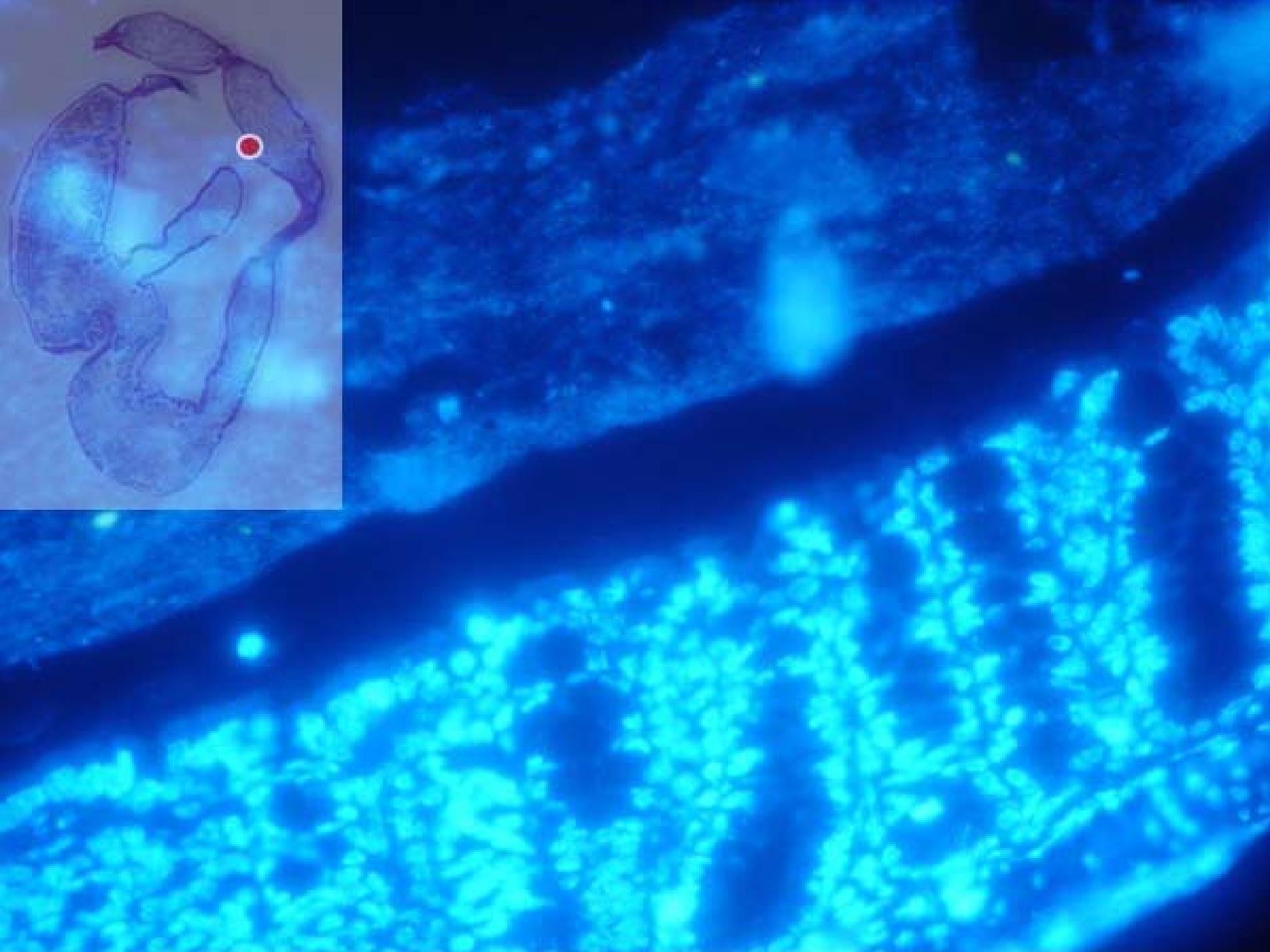


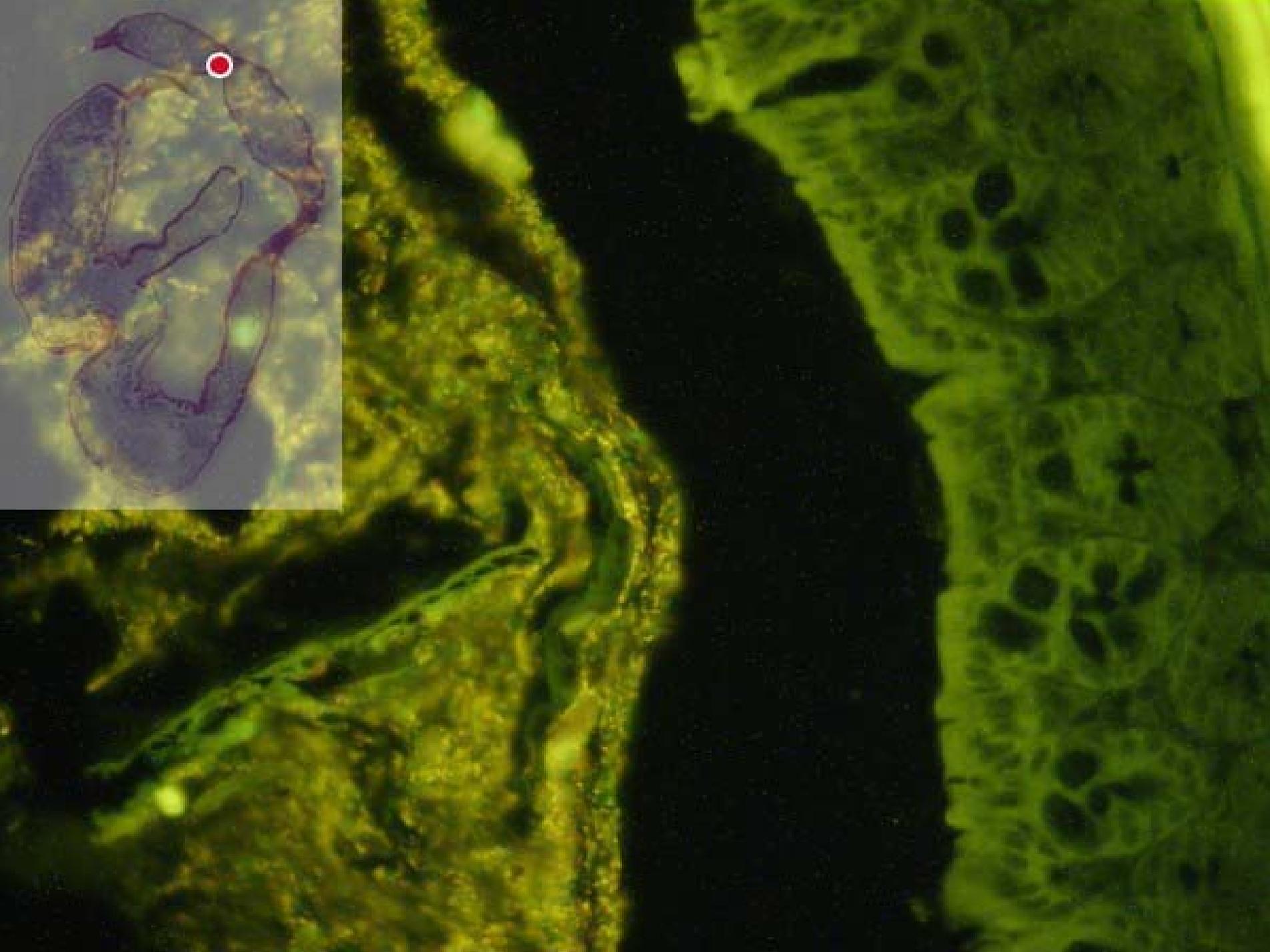


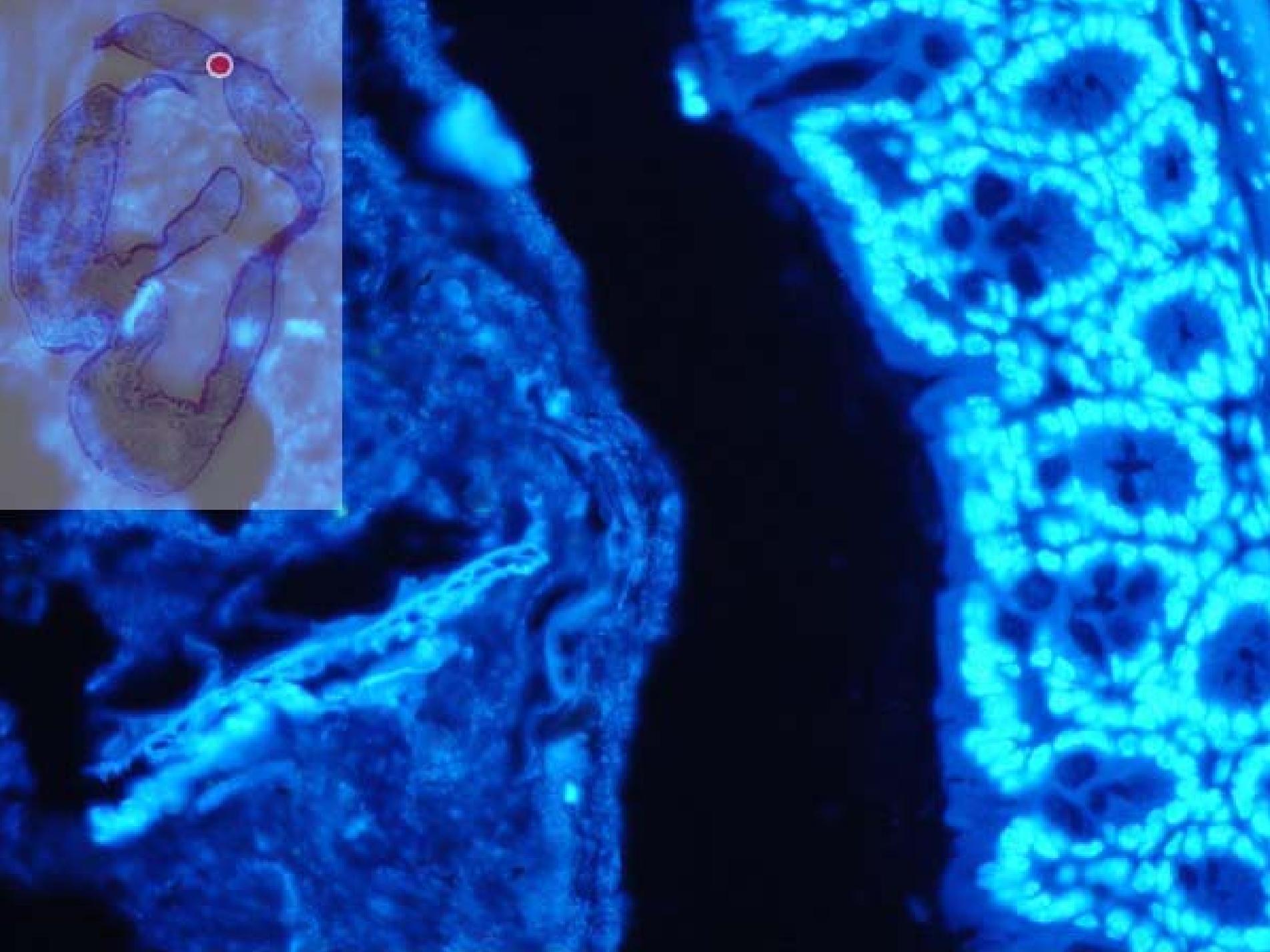
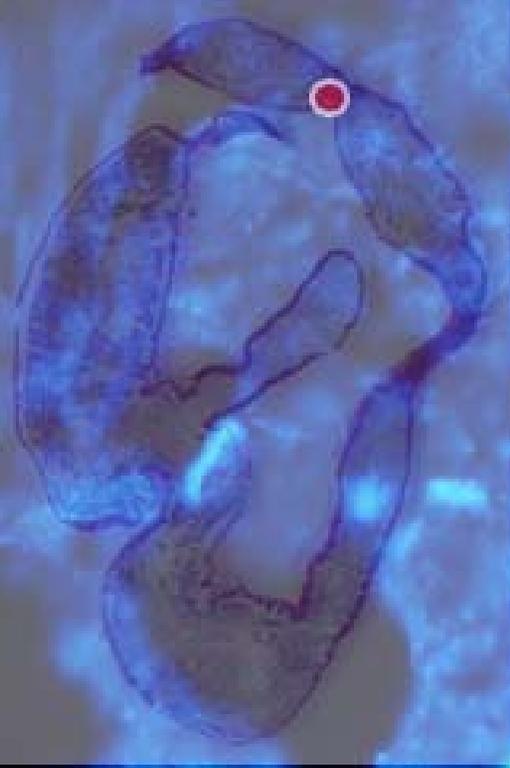






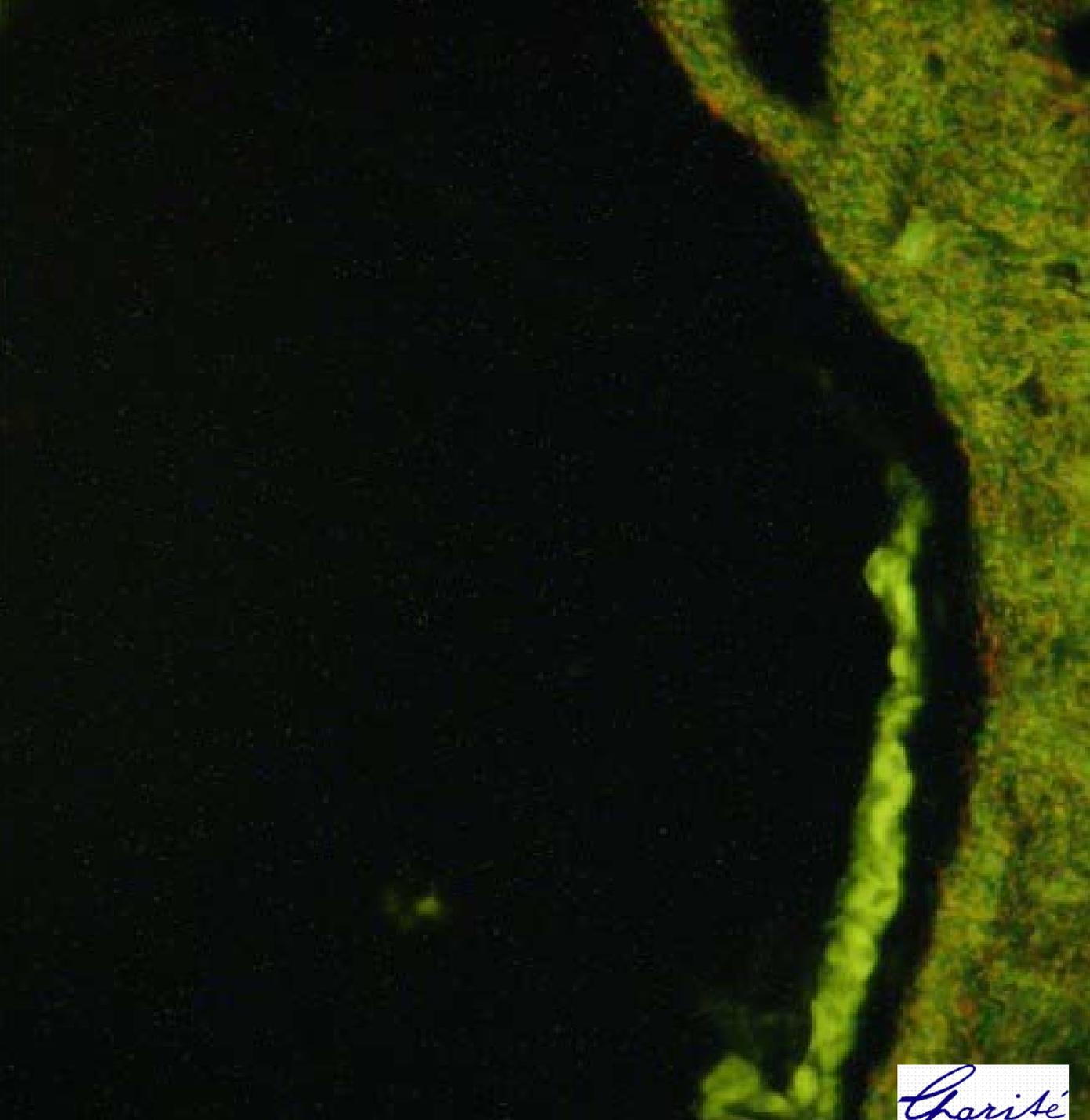
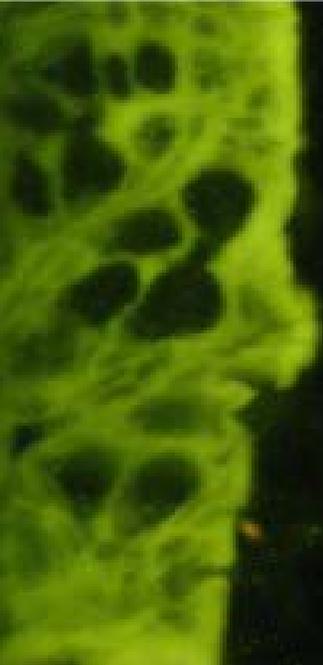


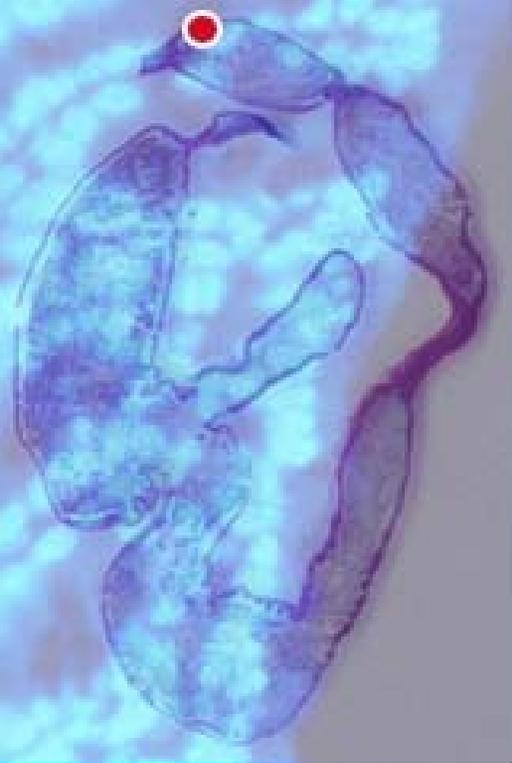




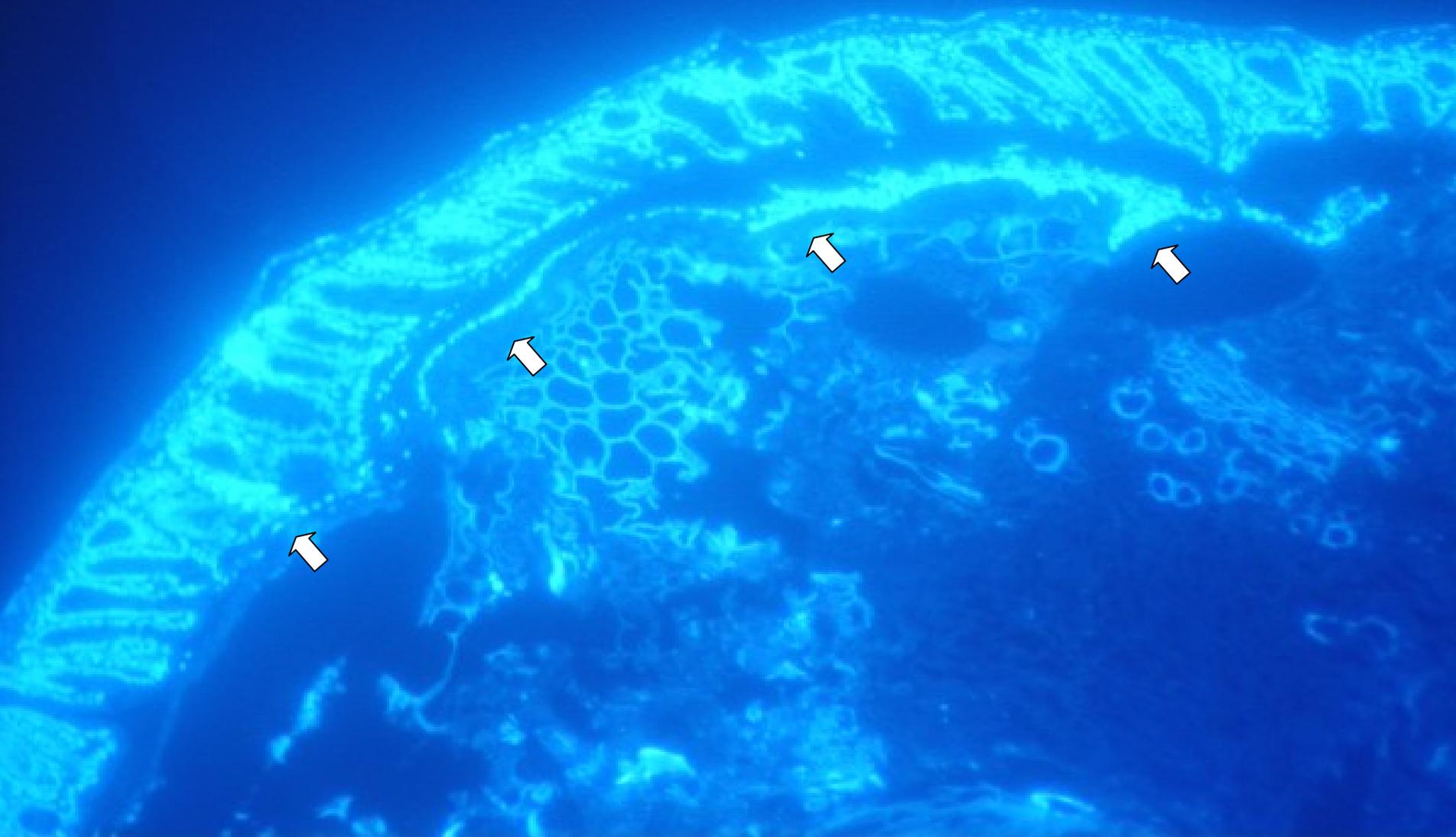


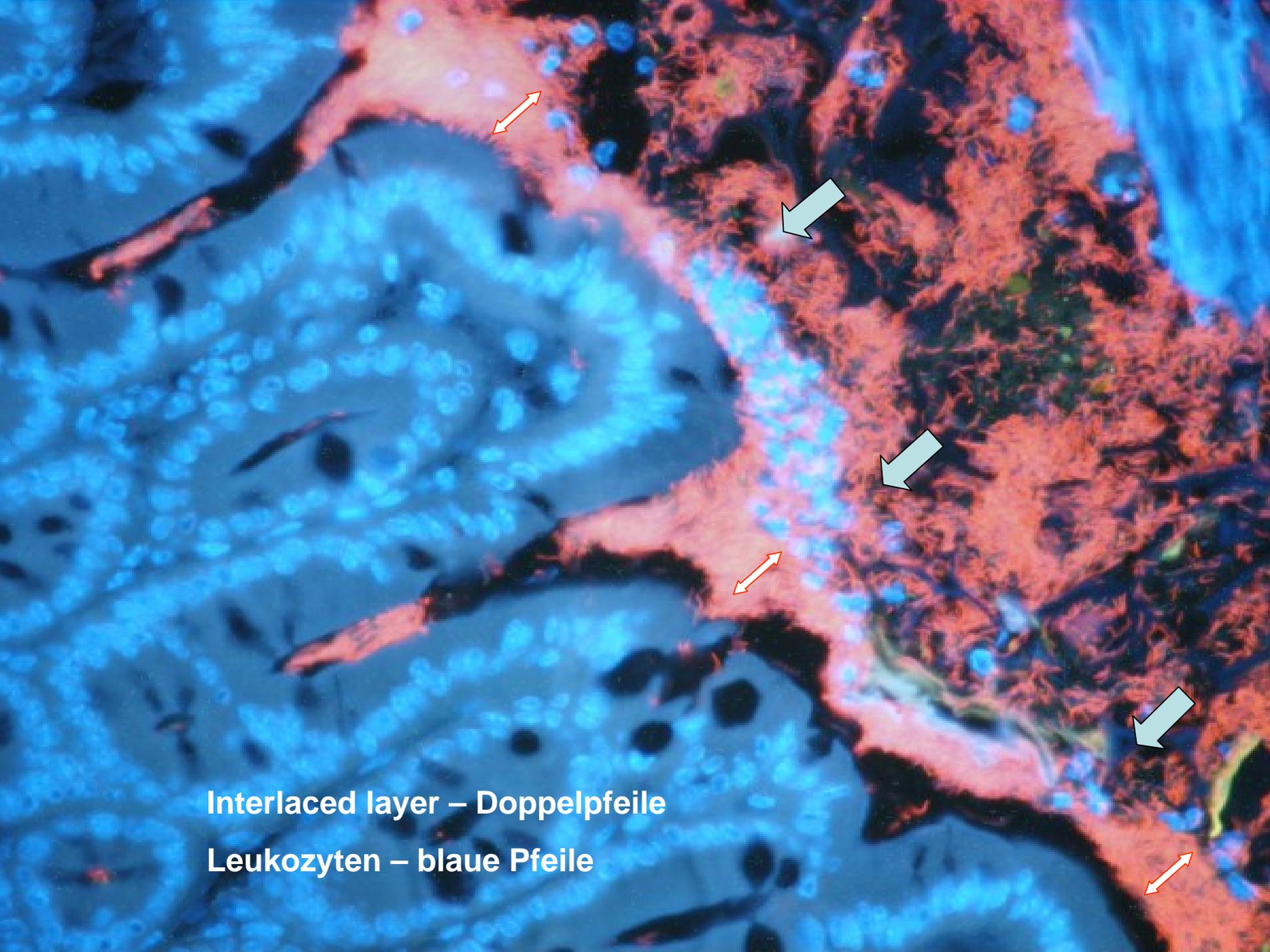
**Der Pfeil zeigt die Breite der Mukusschicht**





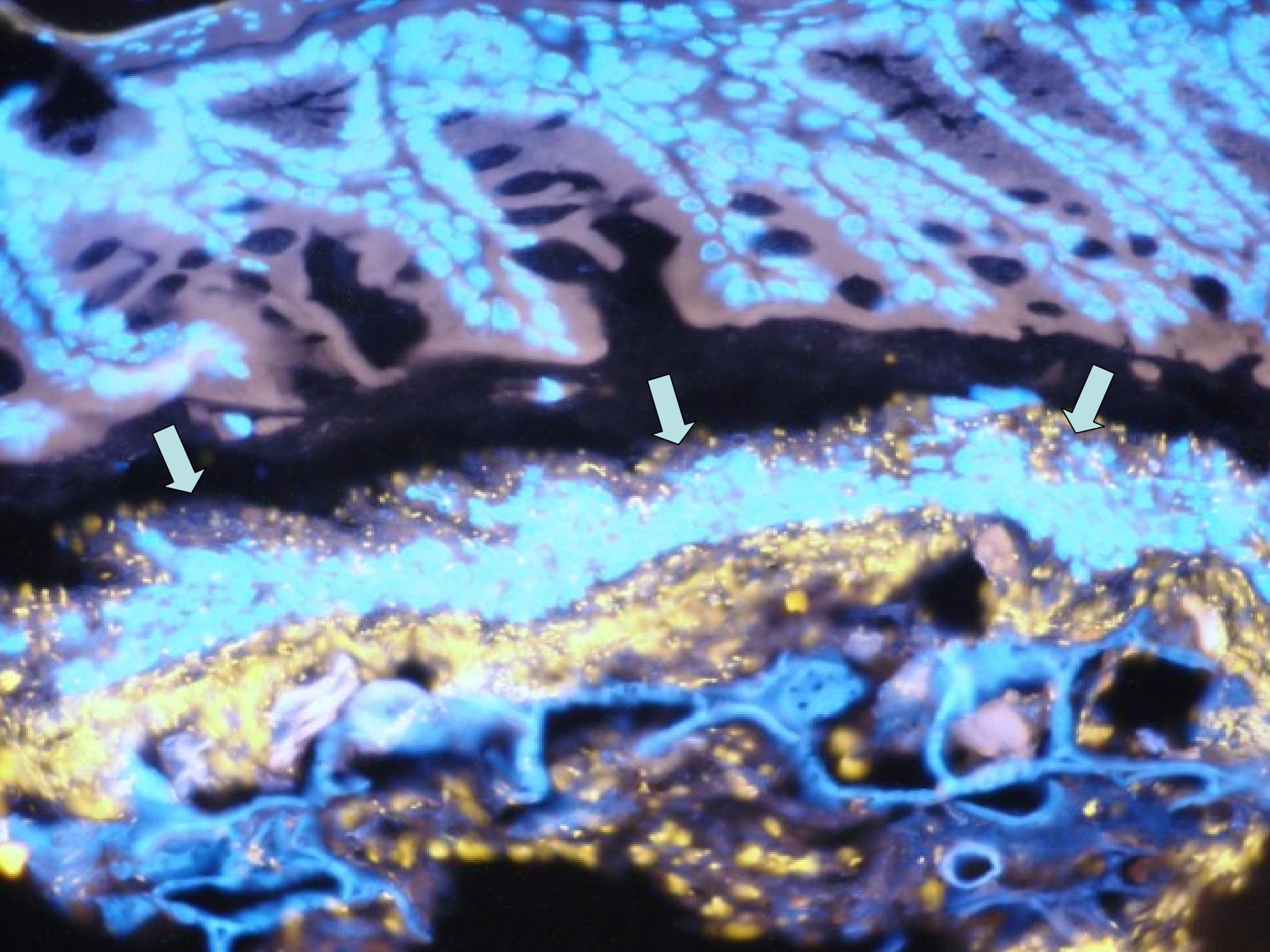
**Leukozyten wandern vermehrt  
in den Mukus**

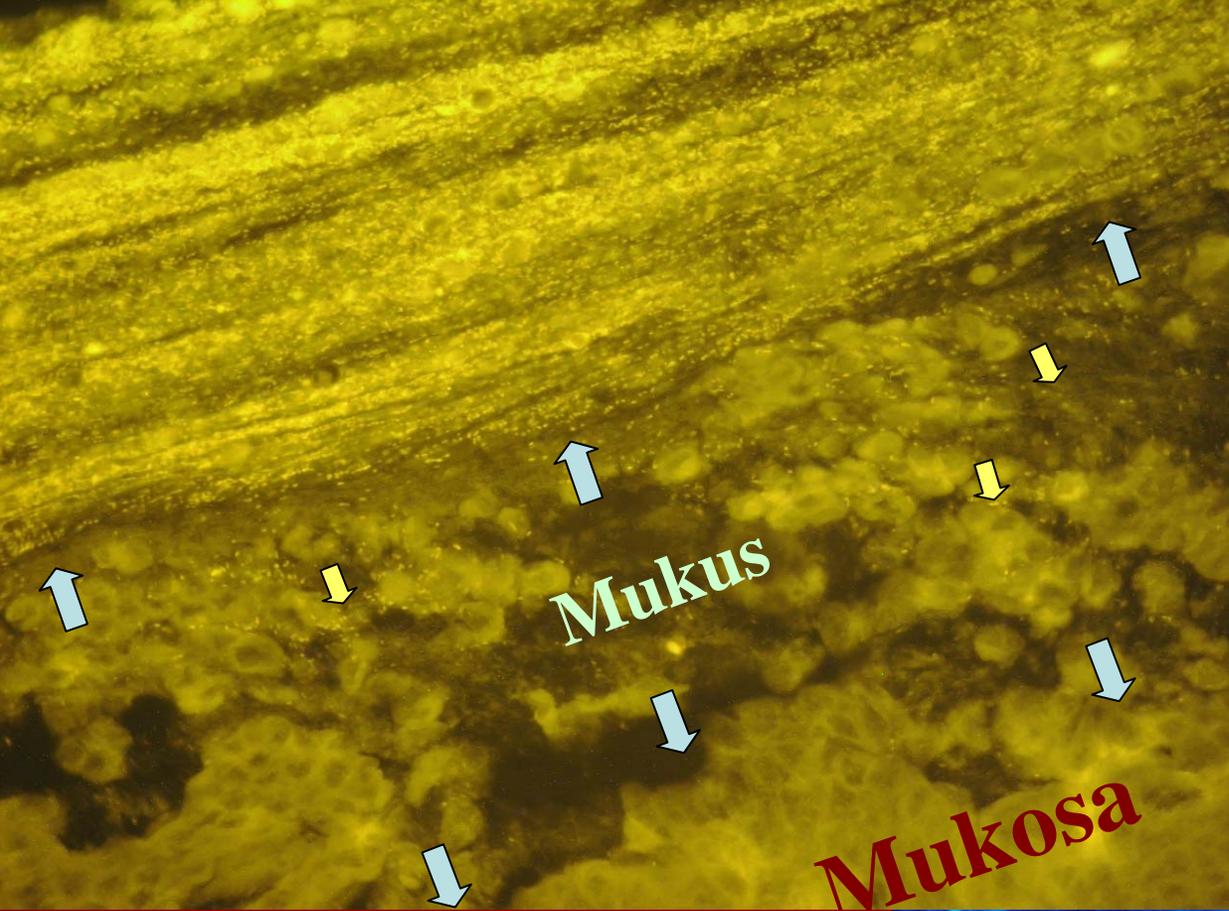




Interlaced layer – Doppelpfeile

Leukozyten – blaue Pfeile

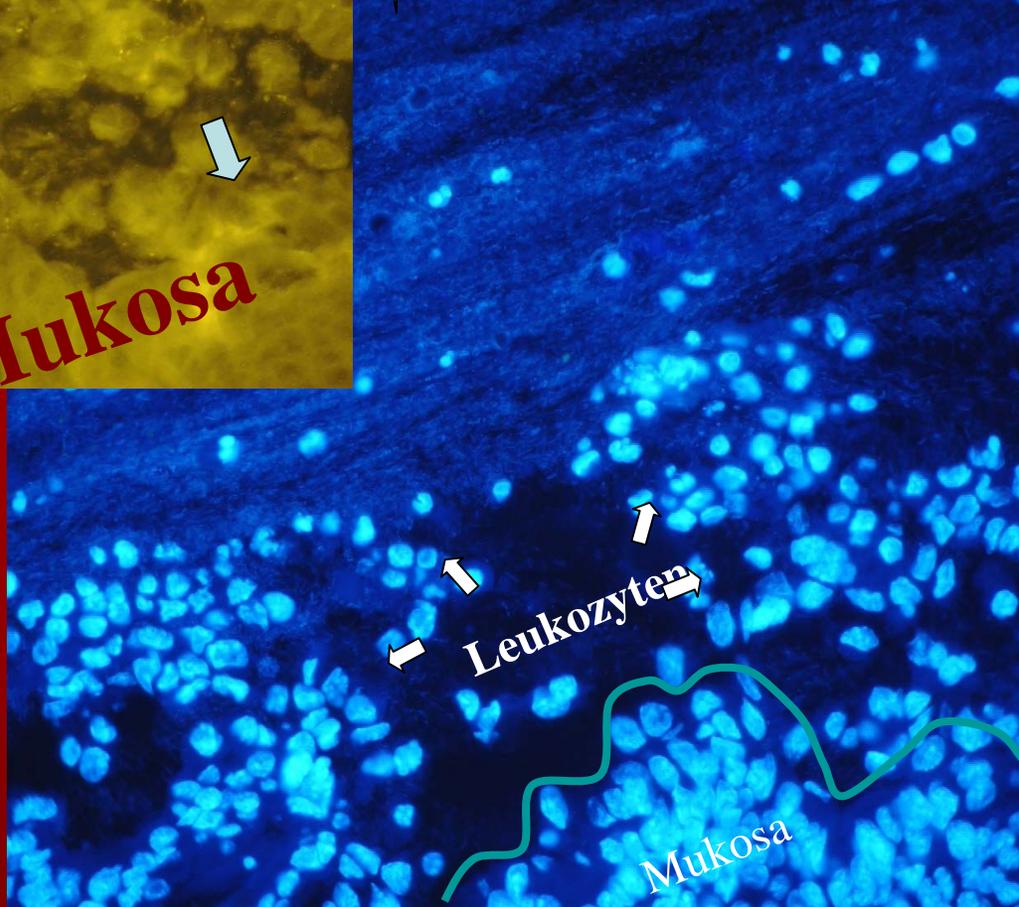


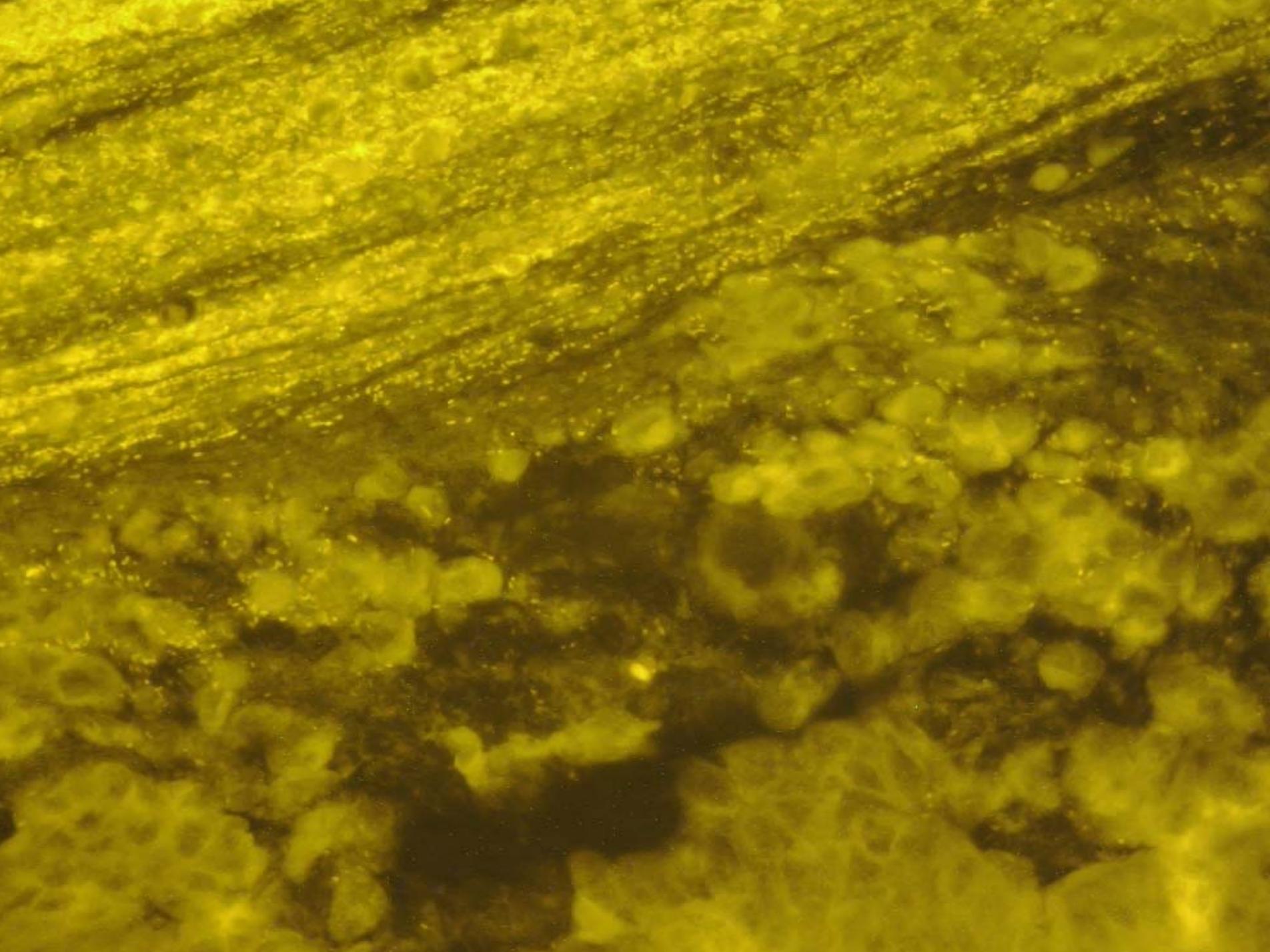


*Bacteroides*  
durchdringt  
Mucus

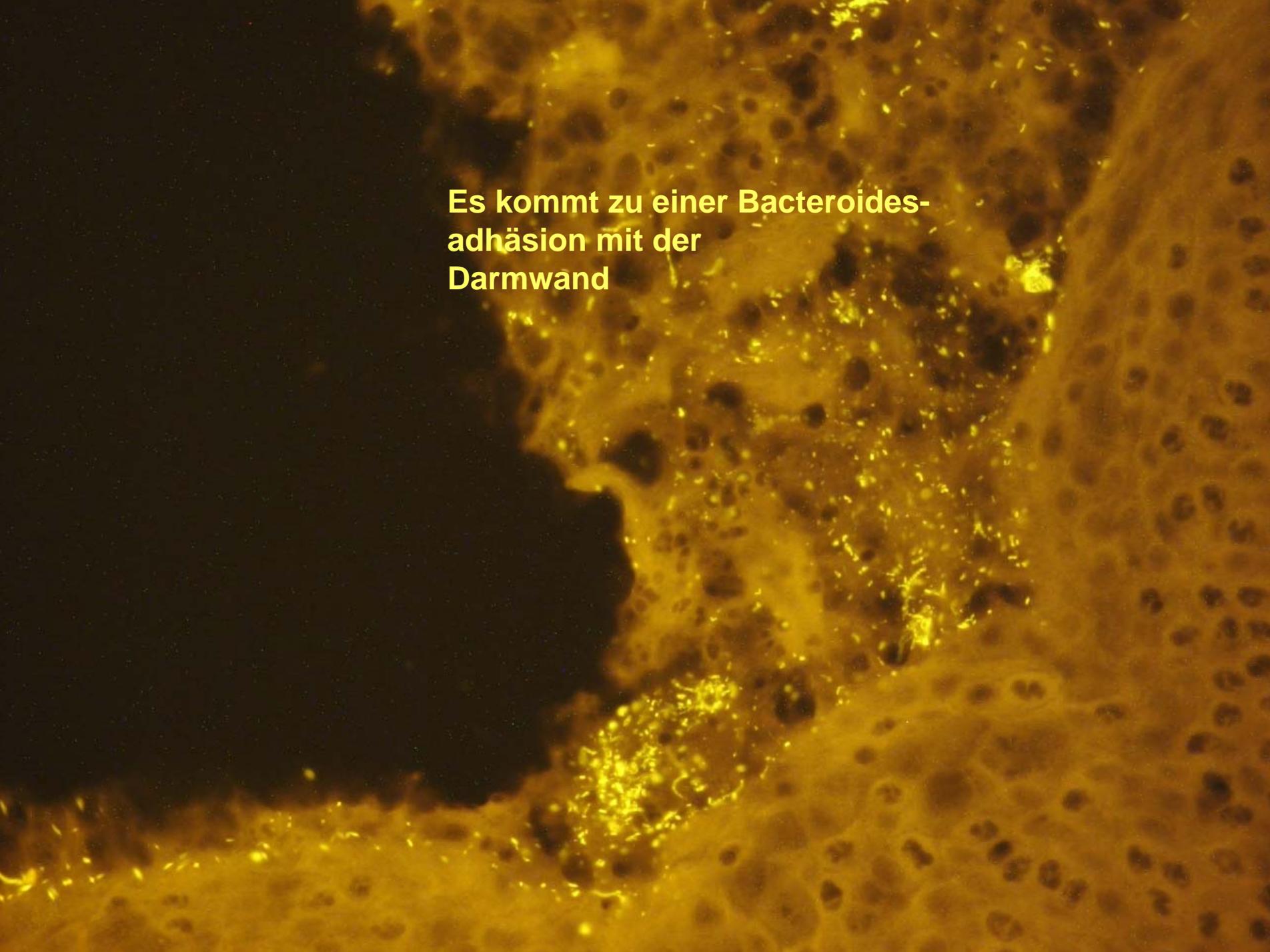
A large yellow arrow points from the text towards the left, indicating the direction of Bacteroides penetration.

Gleiches Bild in Cy3 (Bacteroides)  
und Dapi Fluoreszenz zeigt getrennt  
Bakterien und Leukozyten



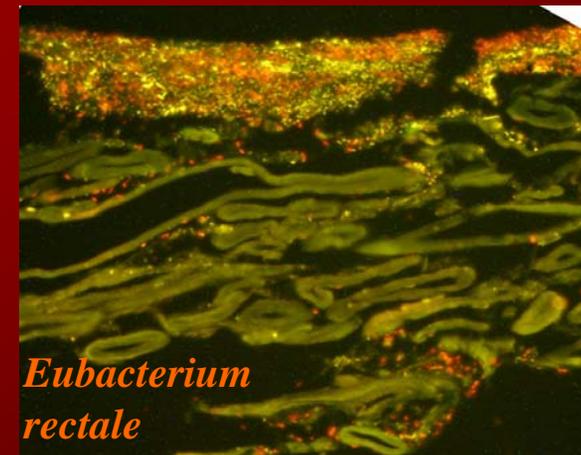
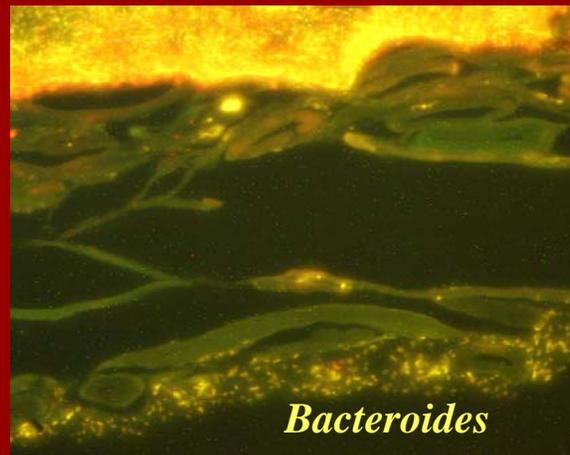
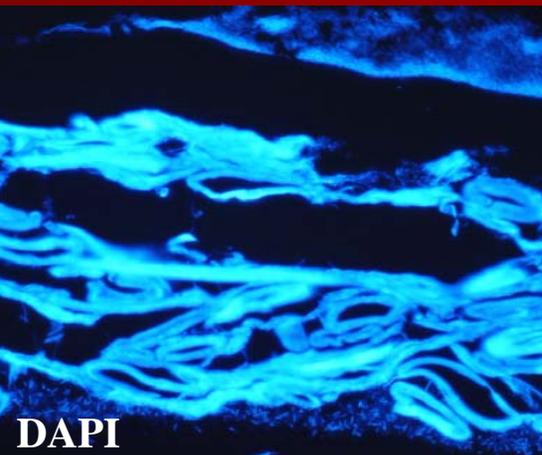
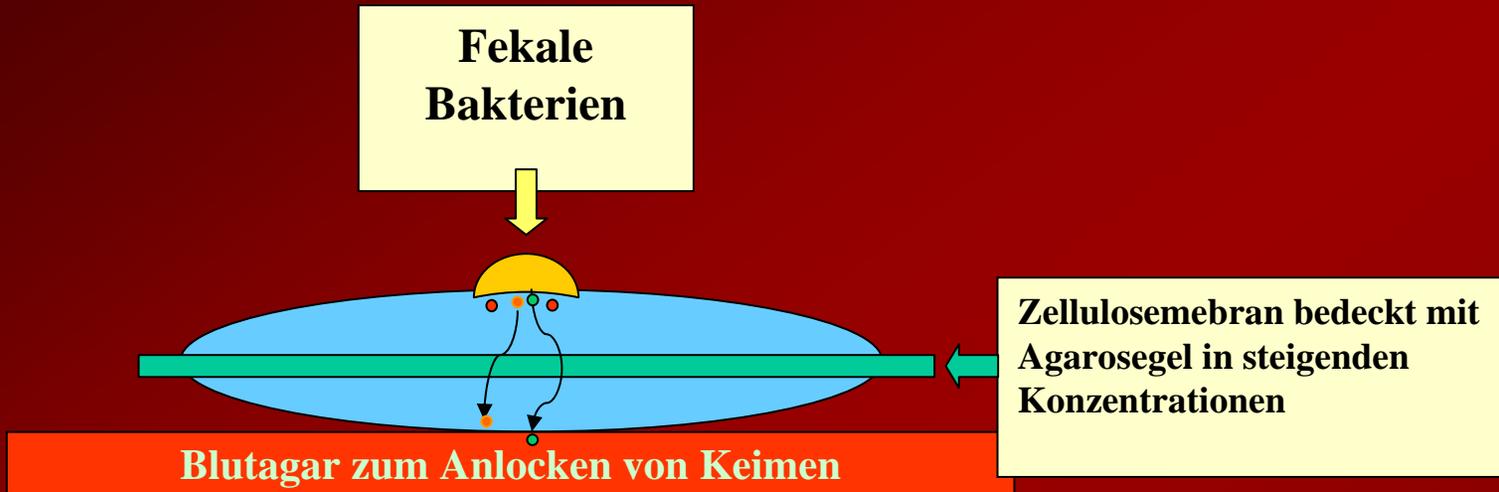


**Es kommt zu einer Bacteroides-  
adhäsion mit der  
Darmwand**



**Bacteroides infiltriert  
tief das Gewebe**

# Mucus-Simulation in vitro



Beispiele der Mobilität

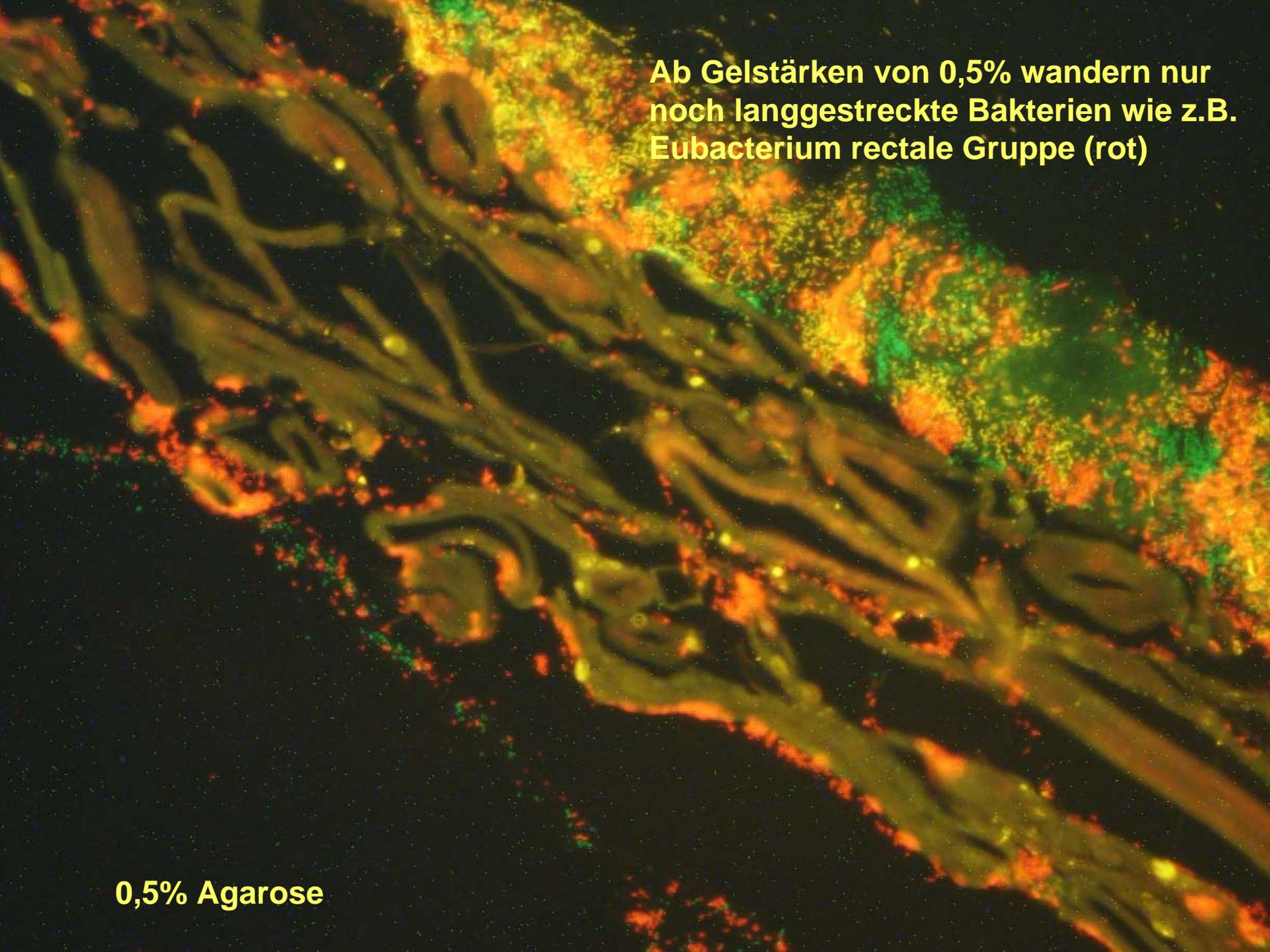
**Die Bakterienbeweglichkeit durch Gele war speziesspezifisch und von der Viskosität abhängig.**



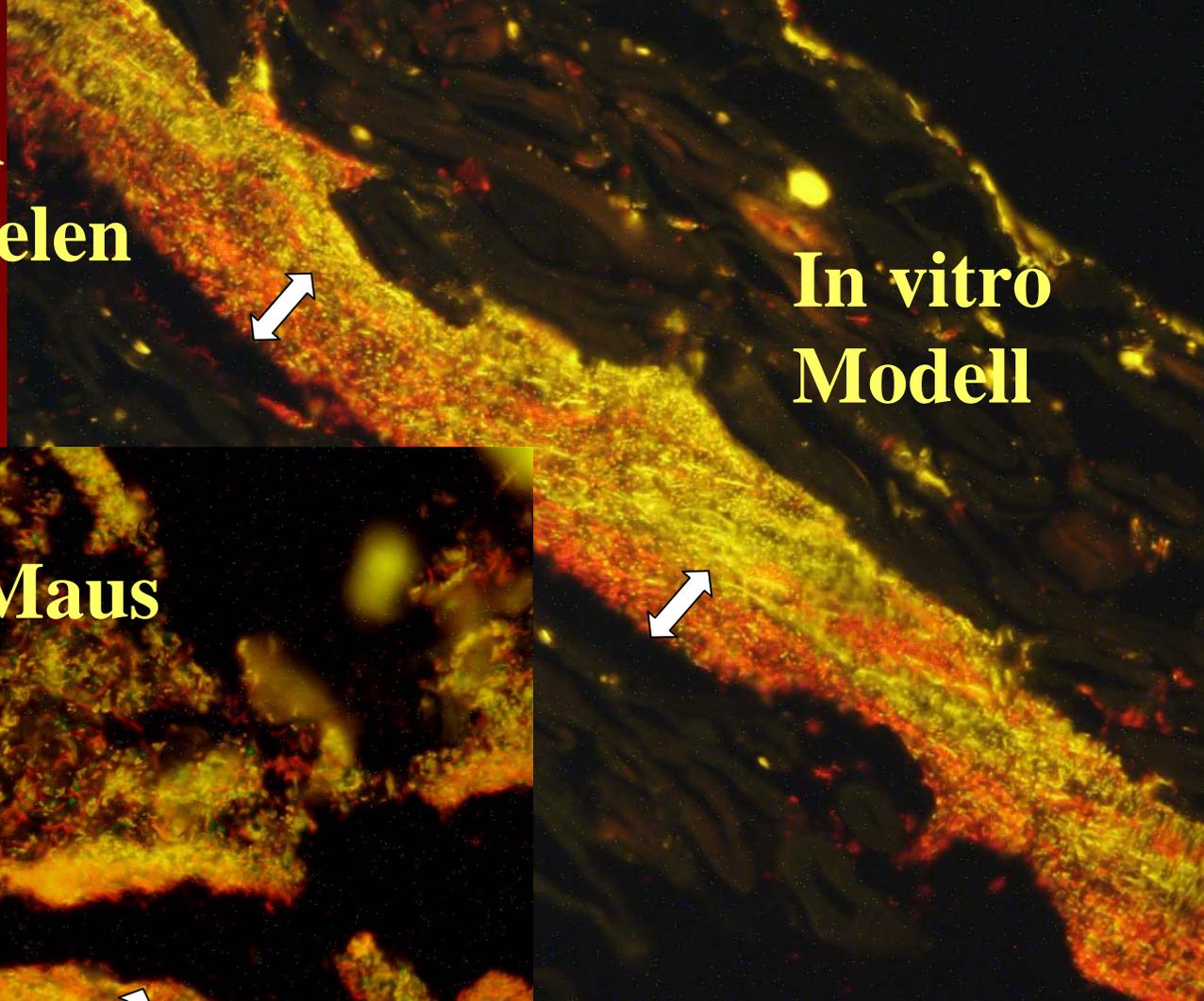
**0,2% Agarose**

Ab Gelstärken von 0,5% wandern nur noch langgestreckte Bakterien wie z.B. Eubacterium rectale Gruppe (rot)

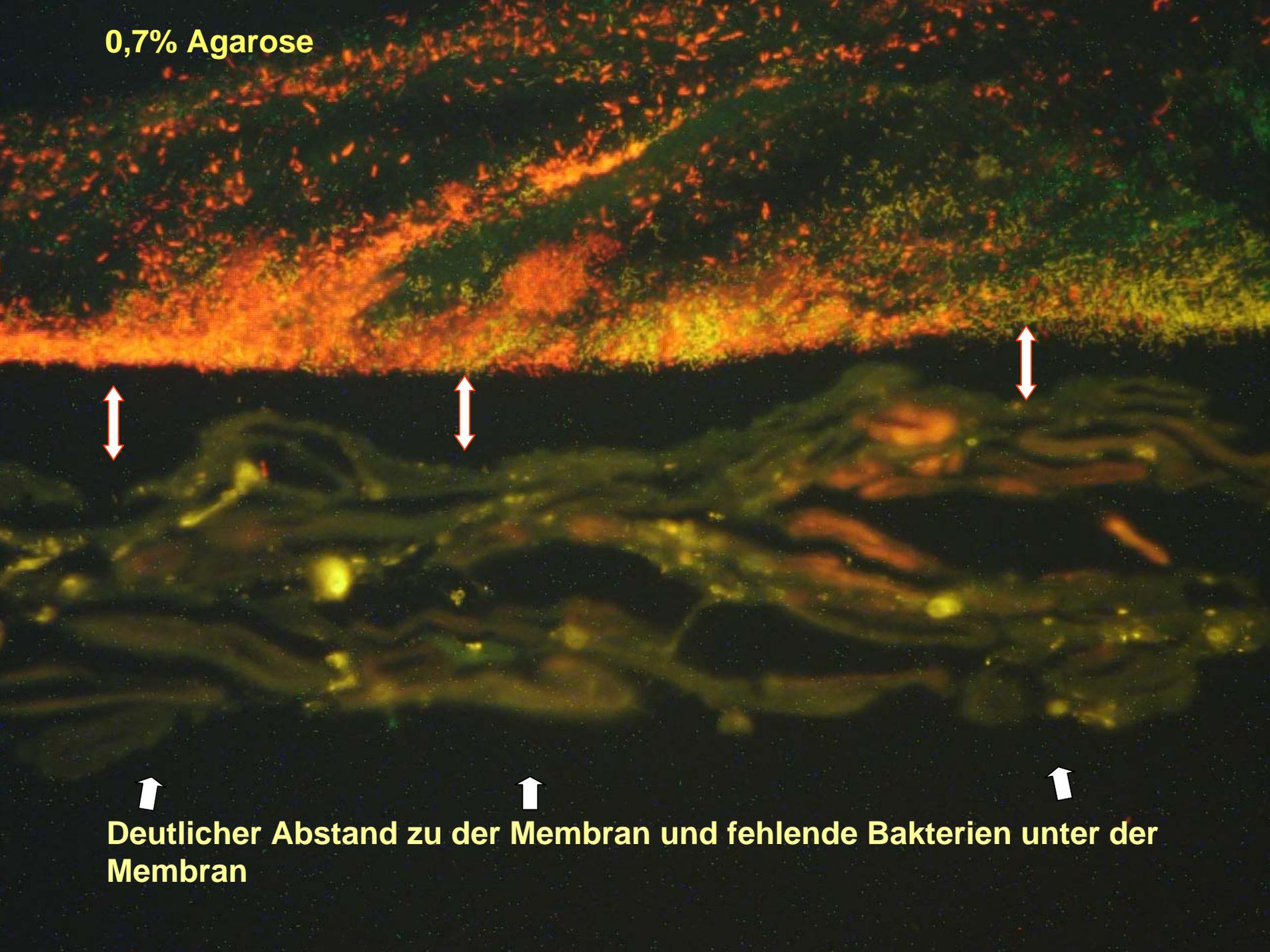
0,5% Agarose



**Separation von  
Bakterien in Gelen  
um 0,4-0,5%**



**0,7% Agarose**



**Deutlicher Abstand zu der Membran und fehlende Bakterien unter der Membran**

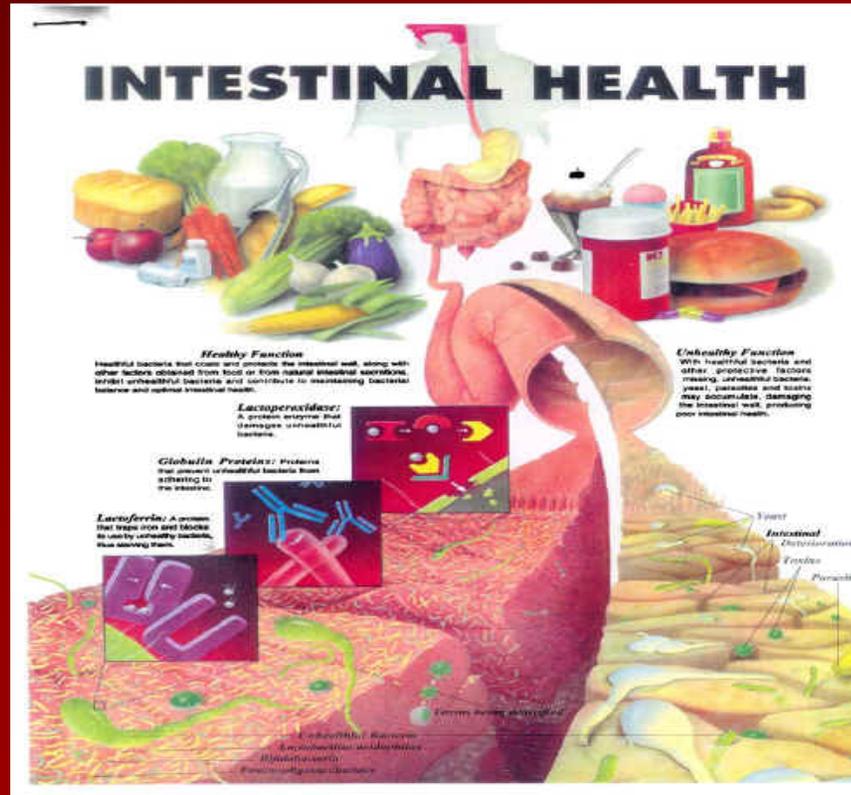
Die Zugabe von DSS zum Gel führt zum Enhancement der Wanderung von Bakterien auch durch Gele mit einer Agarosedichte über 0,7% (bis 1,0%) Eine ähnliche, wenn auch schwächere Wirkung zeigt die Zugabe von mukuslösendem DTT zum Stuhl.



# Toleranz

# Immunantwort

Physiologische  
Flora



Enterale  
Pathogene



E. coli

Bacteroides

Clostridium difficile

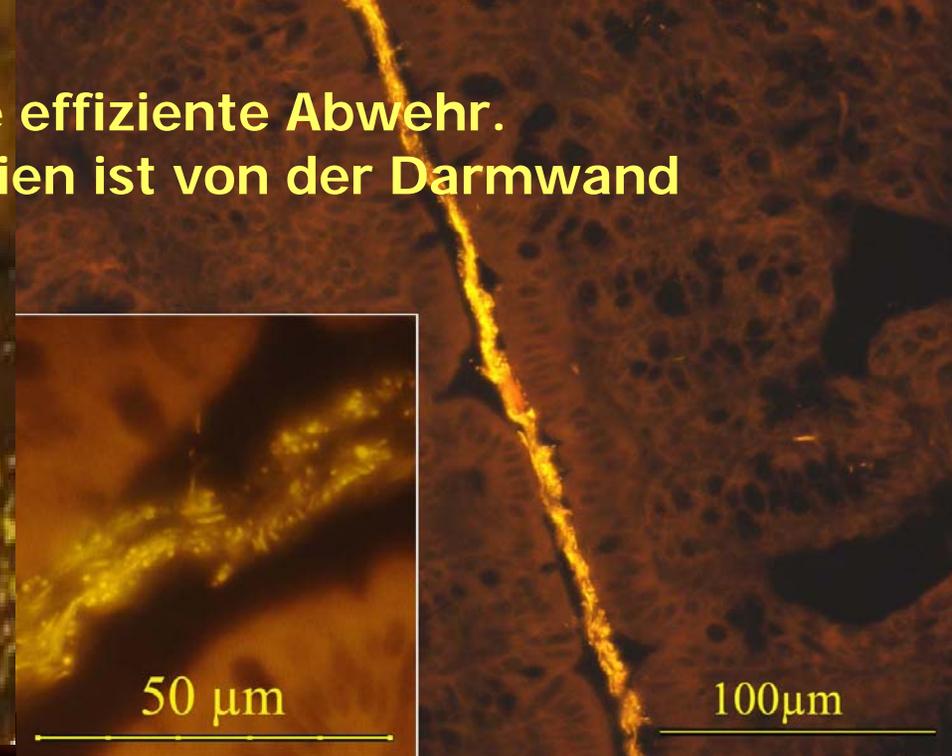
Enterokokken

Salmonellen

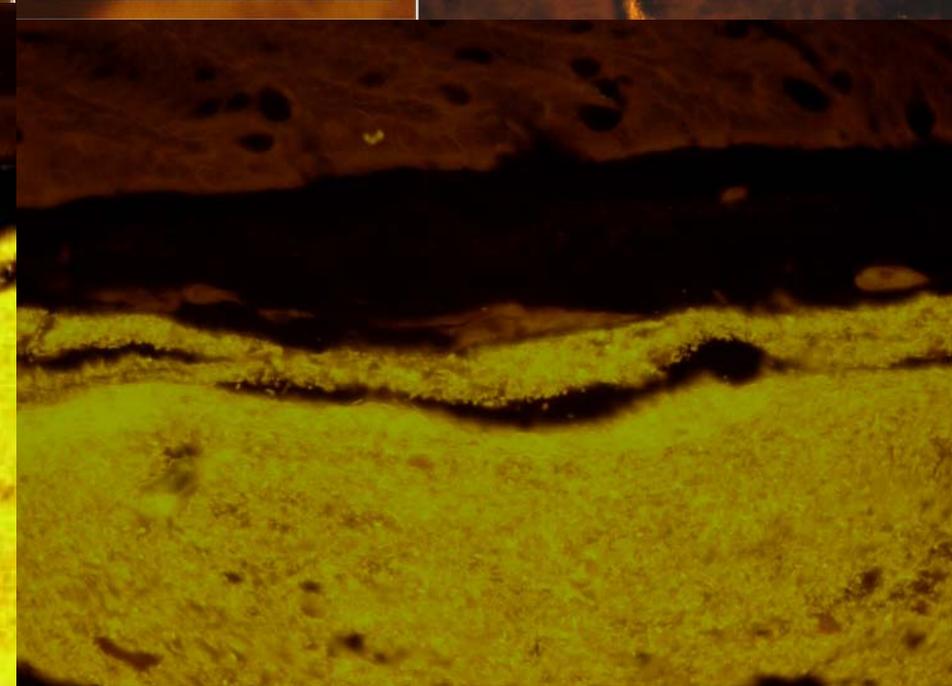
Shigellen

# Überreaktion?

Der Grund für "Toleranz" ist eine effiziente Abwehr.  
Die Mehrzahl pathogener Bakterien ist von der Darmwand  
getrennt



Viskosität des Mukus  
Defensine  
Bakterielle Separation/Probiotika  
Leukozyten  
Antikörper



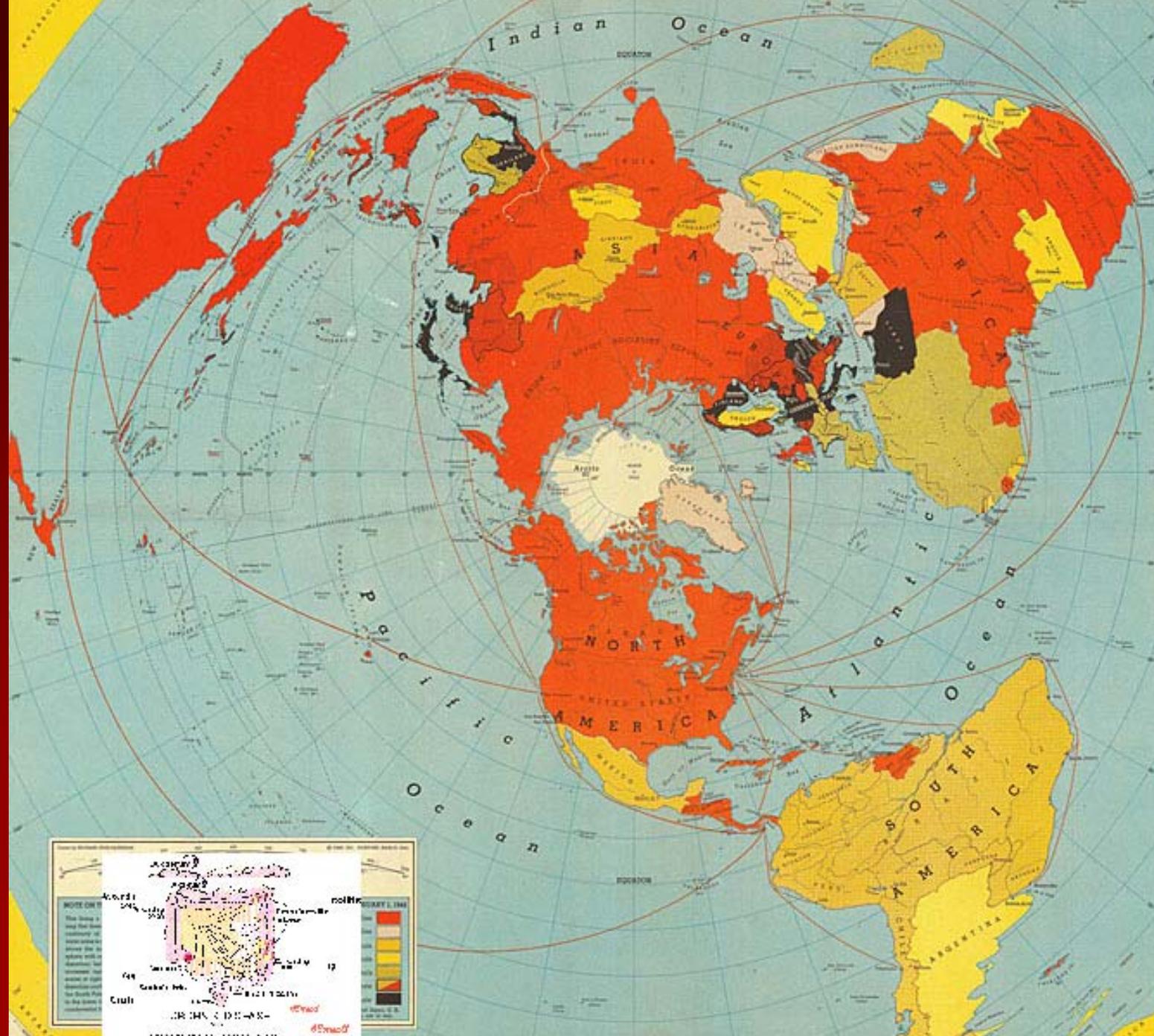
# ONE WORLD ONE WAR Two diseases



Three life lines connect America with the battle for three continents: (1) across the North Atlantic to the British Isles; (2) through the west of the Atlantic to West Africa; (3) around South Africa to the Red Sea and the Persian Gulf. Unless Germany succeeds in breaking through the circle that reaches from England to the White Sea, along the Russian coast to the Middle East, and across North Africa back to the Atlantic, the United Nations can secure time and space to organize and deploy their presently growing resources. If Japan and Germany are allowed to take hold in India, the Axis will have the advantages of "the lower tier" — on a world scale. Disintegrated Axis control of Eurasia's huge land masses, from Le Havre to Shanghai, would transform the New World into an island and the two surrounding oceans into highways of invasion.



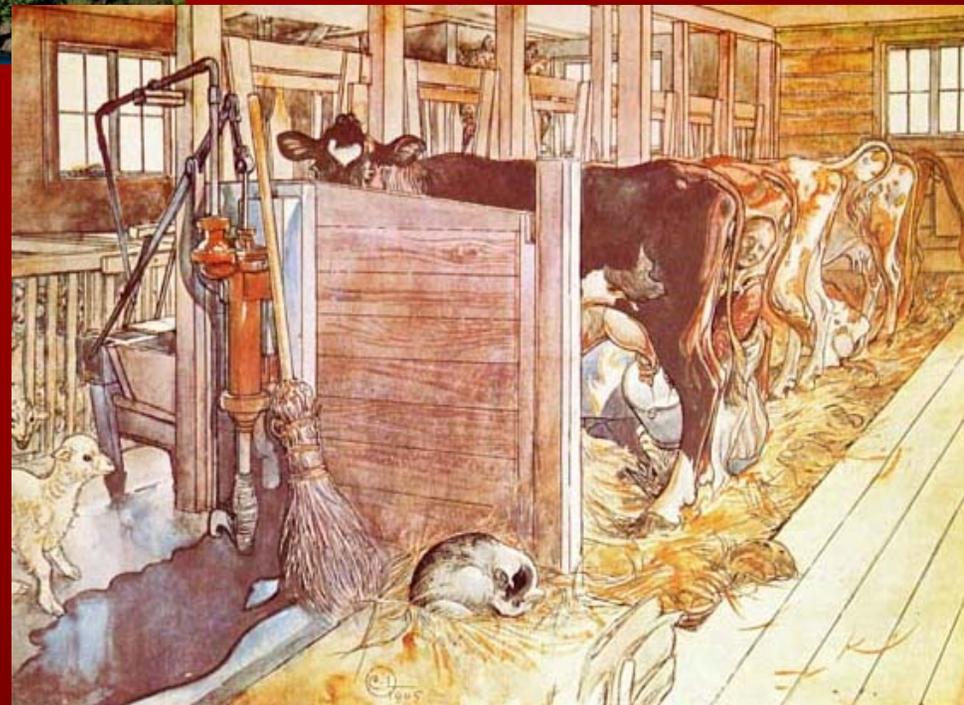
The tremendous distances in the Pacific, only yesterday appraised as an element of American security, have become the toughest of war problems. While across the relatively narrow Atlantic America has to support Allies who are entrenched on established battle grounds, across the Pacific we must create and supply, new fronts in areas that are thousands of miles from industrial centers and safe distribution points. Unless Soviet Russia, by taking her "sift" over eastern Japan, permits the full use of the most promising line of trans-seasack (Rinkai - Alaskan Islands - Kamchatka - Vladivostok), the Japanese will enjoy for a long time the greater strategic advantages that Germany ever had in Europe. Even the most distant objective of the Japanese drive is many times nearer to Japan than to the nearest American base. With the China Sea closed to us by the Japanese, American supplies and armed forces will reach South America and the Indian coast over a route that is longer than a journey half-circled the world. Yet in these very regions, contacting us India, the United Nations, if prepared through they are, will have to fight one of the great decisive battles of history: The Battle for Asia.

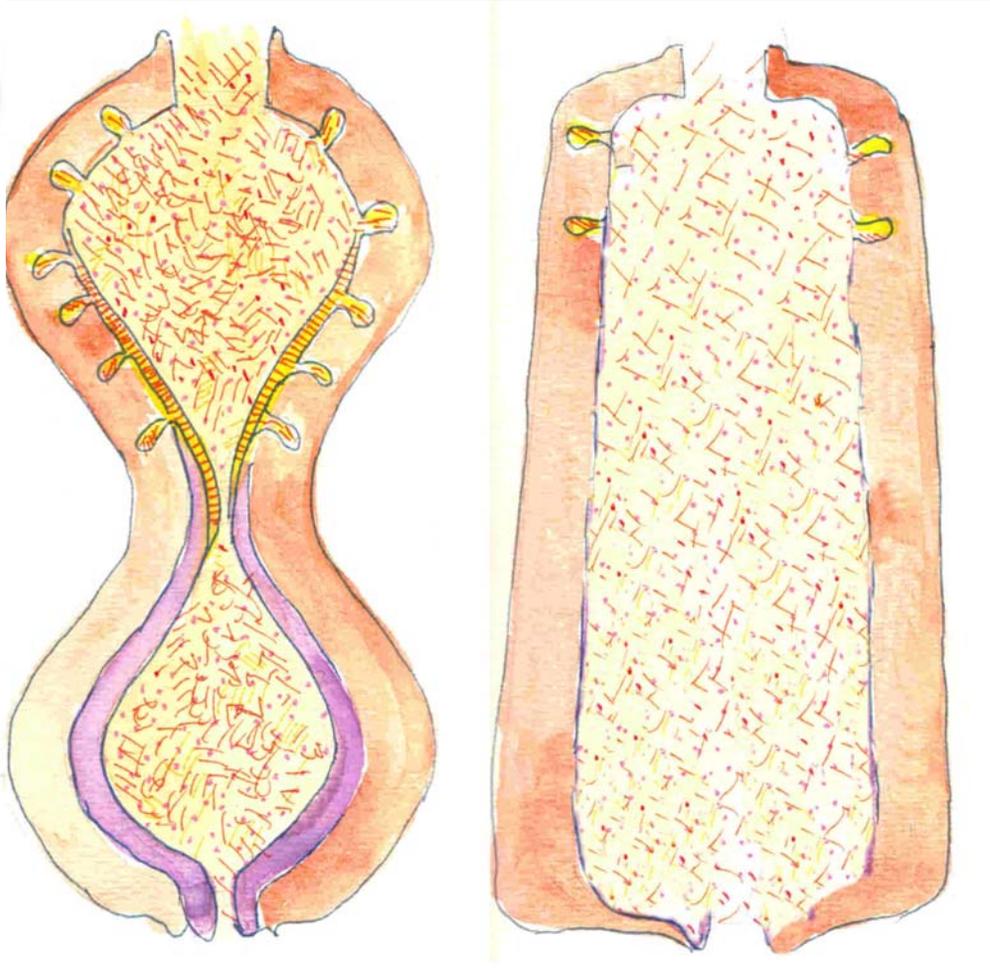




**Haben wir zu wenig  
Bakterien in unserer  
Umgebung?**

**GO  
BACK!**





**Detergenzien halten unsere Umgebung sauber, könnten aber beim Menschen die gleiche Wirkung auf den Mukus wie DSS bei der Maus haben.**

## Faktoren mit potentiell Einfluss auf die Mukusbarriere

### Exogen:

#### Detergenzien:

#### Bakterielle Virulenz:

Glutene sind natürliche Emulgatoren. Ihre pathogene Wirkung bedarf einer bakteriellen Komponente. Da der Dünndarm wenig Bakterien enthält, sind nur wenige Patienten von einer Fehlbesiedlung betroffen.

#### Rauchen

### Endogen:

Gallensäuren sind körpereigene Emulgatoren. Sie wirken im Dünndarm, wo Bakterien fehlen und werden im Ileum resorbiert. Bei unvollständiger Resorption von Gallensäuren kommt es zum Durchfall.

#### Defensine

#### Probiotika, Prebiotika,

#### Nukleinsäurenderivate

#### Entz. Mediatoren der Leukozyten

### Genetische

#### NOD 2 Mutationen

[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](#), Propylenglycolster von Speisefetten

[E479](#), Thermooxidiertes Sojaöl mit Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren

[E481 bis E483](#), Natriumstearoyl-2-lactylat, Calciumstearoyl-2-lactylat, Stearyltartrat

[E491 bis E495](#), Stearin- und Palmitatverbindungen

[E491](#), Saccharosemonostearat

**Mit der Industrialisierung ist die Belastung des Menschen durch diverse enterale Bakterien nicht gesunken, sondern gestiegen.**

**Der Anstieg der Häufigkeit chronisch entzündlicher Darmerkrankungen seit Anfang des vorherigen Jahrhunderts kann eine direkte Folge davon sein.**

**Nicht die Mukosa, sondern der anliegende Mukus ist der Ort der primären Auseinandersetzung mit enteralen Pathogenen. Der gesunde Wirt ist nicht „tolerant“, sondern „ignorant“ den enteralen Bakterien gegenüber.**

**Die Störung der Mukusbarriere begleitet von bakteriellen Adhärenz und Biofilmbildung ist der Grund für die Entzündung.**

**Solange der Mukus durchlässig für Bakterien bleibt, hat die Entzündung keinen Sinn, kann aber nicht erfolgreich beendet werden.**

**Die Dichte der Mukusbarriere hängt von vielen exogenen und endogenen Faktoren ab. Wir können diese nunmehr schrittweise identifizieren um später zu kontrollieren.**

**Morbus Crohn und Colitis sind polymikrobielle Infektionen und heilbar.**

Bilder zum Vortrag

- **[www.charite.de/arbmk1](http://www.charite.de/arbmk1)**

1

