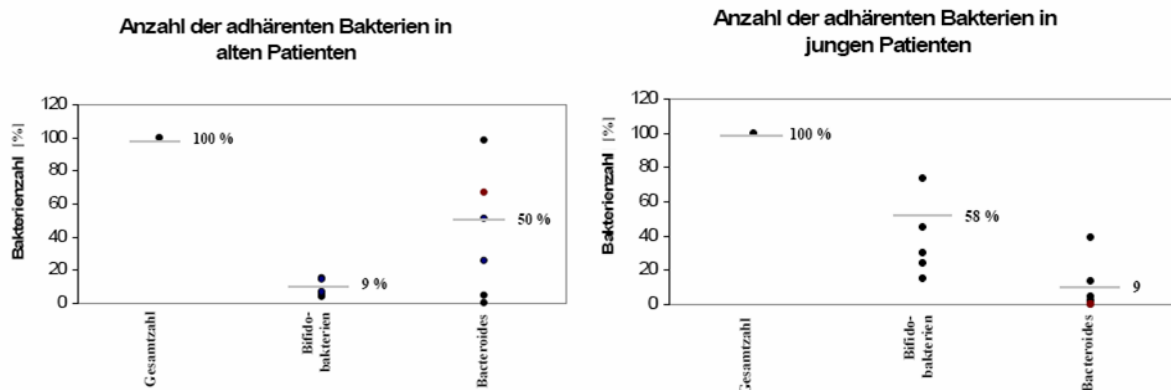


## Förderschwerpunkt 2005: Ernährung des älteren Menschen

### Medizinische Klinik und Poliklinik II der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

#### Analyse der sich im Laufe eines Lebens ändernden Mikroflora an der Kolonmukosa durch FISH

Der humane Gastrointestinaltrakt beherbergt eine Vielzahl von Mikroorganismen, welche eine entscheidende Rolle für die Gesundheit des Darms spielen. Die meist identifizierten Bakterien sind die anaeroben *Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Eubacterium* spp., und *Fusobacterium* spp.. Da für einen gesunden Darm im Alter besonders die beiden erst genannten Bakterienarten ausschlaggebend sind, wurden für die Quantifizierung (FISH und Real-Time-PCR) der **adhärenten** Mikroorganismen an frischen Kolonresektaten diese beiden Gattungen herausgegriffen.

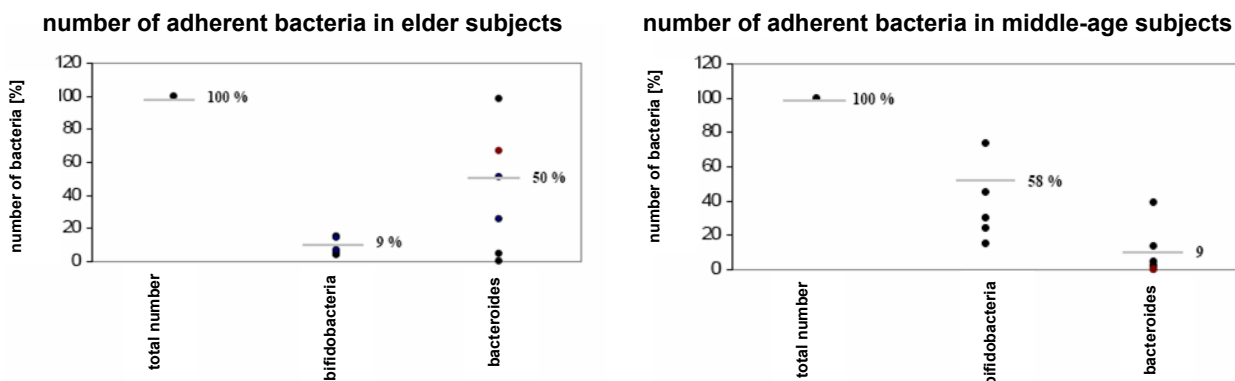


Bakterienanzahl im Kolonepithel berechnet auf die erhaltene Gesamtzahl aus Biopsien junger (n=7; Durchschnittsalter = 31,6 Jahre) und alter (n=6; Durchschnittsalter 66,4 Jahre) Probanden. Gesamt-RNA wurde isoliert. Die Transkriptmenge wurde nach reverser Transkription durch Real-Time PCR (Taqman) semiquantitativ bestimmt.  $P > 0,05$ .

Wie aus der Abbildung ersichtlich ist, kommt es im Laufe des Älterwerdens zu einer Verschiebung der prozentualen Mengen von *Bacteroides* spp. (9 % jung → 50 % alt) und Bifidobakterien (58 % jung → 9 % alt). Die Methode der Real-Time-PCR ist hierbei das quantitativste Mittel der Wahl, da man ein sehr großes Spektrum bei sehr hoher Spezifität abgreifen kann. Daher ist diese Methode für die Quantifizierung von Mikroorganismen besser geeignet als beispielsweise TGGE oder FISH.

## SUMMARY

The human colon harbours a total population of approximately  $10^{14}$  bacteria. The composition of the intestinal bacterial flora influences pathogenesis and immune response; a healthy micro flora is able to avoid colonisation of pathogens and to benefit the human immune system. The most frequent bacteria are *Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Eubacterium* spp., and *Fusobacterium* spp.. For quantification (FISH and Real-Time-PCR) of adherent bacteria on colonic biopsies the former group were picked out as these two genera are crucial for the benefit of the elderly.



The number of bacteria in epithelium was calculated on the total number of biopsies of middle-age (n=7; mean age = 31,6 years) and elder (n=6; mean age = 66,4 years) subjects. Total RNA was isolated and after reverse transcription the samples were analysed by real-time PCR using Taqman probes.  $P > 0,05$ .

In summary we showed scarcity of *bifidobacteria* in elderly subjects (decrease from 58 % to 9 %) in contrast to *bacteroides* that number is getting greater (9 % to 50 %) associated with aging in the host. Herby Real-Time-PCR analysis is – for quantification and distinguishing – the most useful method, cause of its high specificity and great spectrum in comparison with TGGE or FISH.

Autoren: Dr. rer.nat. Dorothee Rogoll; Prof. Dr. Wolfgang Scheppach