

Konferensrapport – Symposium om mikrobiotans betydelse för hälsa och sjukdom hos djur och människa, 6-7 maj 2019 i Uppsala

Sveriges Veterinärförbunds försöksdjurssektion arrangerar årligen ett symposium som huvudsakligen riktar sig till försöksdjursveterinärer och där relevanta försöksdjursfrågor tas upp. Årets konferens handlade om mikrobiotans betydelse för hälsa och sjukdom och hur den kan påverka forskningsresultat. En sund bakteriesammansättning i mag-tarm-kanalen (mikrobiota) kan förhindra uppkomst av sjukdomar medan störningar kan ha långtgående följder för hälsan. Gällande vissa sjukdomar är det dock delvis oklart om förändringar i mikrobiotan är en orsak till sjukdomen eller en följd av den. Intresset för området växer och frågan om huruvida större hänsyn bör tas till mikrobiota, i användning av sjukdomsmodeller och i standardiseringen av försöksdjursanläggningarnas hälsoövervakning, har väckts på seminariet. Andra frågor som diskuterades under symposiet var bedömning av försökens svårhetsgrad och specialistutbildningen för veterinärer inom försöksdjursmedicin.

Det var ca. 50 deltagare på symposiet. Från Sveriges 3R-center deltog Karen Erlbacher.

Sammanfattning av presentationerna

Symposiet behandlade endast mikrobiotan i mag-tarm-kanalen trots att det finns mikroorganismer även på andra ställen i eller på kroppen som kan ha betydelse för djurs och människans hälsa.

En historisk tillbakablick på kunskapen om mikrofloras betydelse för djur

Föreläsningarna började med en historisk tillbakablick på mikrofloras betydelse i tarmen för olika djurslag i samband med vissa sjukdomar. Det påpekades att ”mikroflora” egentligen är ett felaktigt begrepp eftersom det inte handlar om mikroskopiska växter, vilket ”mikroflora” ordagrant betyder, utan om bakterier och andra mikroorganismer. Rekommendationen är därför att använda uttrycket mikrobiota för sammansättningen av alla mikroorganismer eller mikrobiom för mikroorganismernas samlade arvsmassa (genom). Redan i början av 1900-talet såg veterinärer ett samband mellan förändringar i mikrobiotans sammansättning hos hästar och sjukdomarna kolik och laminit, och hos nötkreatur med sjukdomen tympani, vilka behandlades framgångsrikt genom tillförsel av mikrobiota från friska djur. Mikrobiotans betydelse har traditionellt studerats med hjälp av bakteriefria djur, genom odling av mikroorganismer från mag-tarm-kanalen och genom undersökning av bakteriernas biologiska förmågor, såsom fermentering av socker. I viss mån har den ”normala” bakteriesammansättningen i tarmen kunnat utnyttjas för att aktivt förhindra kolonisering med sjukdomsframkallande bakterier.

Mikrobiotans inflytande i olika sjukdomsmodeller

Den andra presentationen fokuserade på aktuell kunskap om mikrobiotan hos det vanligaste försöksdjuret, musen, och betydelsen för standardisering i försöksdjursanläggningar. Redan för tio år sedan fann forskare att mikrobiotan har betydelse för utveckling och funktion av immunsystemet och därmed påverkar inflammatoriska sjukdomar och sjukdomsmodeller för sådana sjukdomar. Nyare forskning visar även att mikrobiotan har inflytande på inlärningsförmåga och minne hos möss,

genom "brain derived neurotropic factor", ett protein som är inblandat i olika biologiska processer, bland annat utveckling av nervceller och neurologiska signalvägar.

Nyligen har bakterier som kan ha en stor påverkan på forskningsresultat men som inte rutinmässigt ingår i hälsoövervakningen för gnagare upptäckts. Bland dessa nämndes *Bifidobacterium spp.* som har en stark antiinflammatorisk effekt och *Akkermansia muciniphila* som kan minska uppkomsten av typ1 diabetes hos NOD (Non obese diabetic)-möss, en modell som vanligen lätt utvecklar diabetes utan fetma. En annan bakterie som har fått mer uppmärksamhet är *Faecalibacterium prausnitzii* vilken ofta ses minska hos patienter med tarmsjukdom, såsom inflammatorisk tarmsjukdom och tjocktarmscancer, och därför diskuteras som en möjlig biomarkör för sådana sjukdomar.

Hantering av mikrobiologiska utmaningar vid försök på djur

Nästa föreläsning behandlade frågan om hur kunskap om mikrobiotans betydelse kan inkluderas i rutiner på försöksdjursanläggningarna. Den traditionella hälsoövervakningen görs fortfarande delvis via odling av bakterier, vilket tar lång tid och kräver välutbildad personal. Nuförtiden är det enklare och snabbare att påvisa förekomst eller frånvaro av vissa mikroorganismer med hjälp av PCR.

Sammansättningen av mikrobiotan i mag-tarm-kanalen är bland annat beroende av fodret. Eftersom fodret i Europa ofta baseras på vete och råg medan det i Amerika ofta används majs, en naturlig glutenfri diet, kan det finnas skillnader beroende på var djuren är uppfödda.Utfodring av mushonor med glutenfritt foder innan de får ungar har visat sig kunna göra ungarna resistenta mot att utveckla typ 1 diabetes. Detta kan också vara en förklaring till att vissa vacciner som utvecklats i västvärlden inte fungerar i länder där maten är naturligt glutenfri.

Föreläsaren föreslog en standardisering av djurens mikrobiota på försöksdjursanläggningar genom inokulation av bakteriefria möss med önskad mikrobiota vid 3 veckors ålder. Det spelar ingen roll om tillförseln sker via munnen eller via tarmen. För att upprätthålla den önskade mikrobiotan kan även den andra generationen möss ges samma mikrobiota vid 3 veckors ålder. Det är även möjligt att ge djuren specifika bakterier, men man bör då börja med de specifika bakterierna innan den fullständiga mikrobiotan tillförs. Ett alternativ till användning av bakteriefria djur är att slå ut tarmbakterierna med hjälp av antibiotika, vilket dock har en något sämre effekt.

Undersökningar har visat att mikrobiotan varierar mindre över tid i en individ än mellan olika individer. Med samma foder över tid kan tarmens mikrobiota hållas någorlunda stabil. En möjlighet för bättre standardisering är att kartlägga djurens mikrobiota för att uppnå en kontrollerad variation, vilket kan leda till att färre antal djur behövs i försöksgrupperna.

Föreläsaren drog slutsatsen att anläggningar som föder upp försöksdjur bör använda väl karakteriserad mikrobiota. Detta kan lämpligen göras genom tillförsel av komplett mikrobiota i samband med rensning av djurkolonier från skadliga mikroorganismer med hjälp av embryotransfer (rederivation). Den önskade mikrobiotan kan sedan upprätthållas genom att säkerställa överföring av denna mikrobiota genom bra rutiner kring förlösning samt användning av IVC-buror och genom att undvika ändringar i fodret.

Metoder och tekniker i forskning om tarmens mikrobiota

Metoderna för forskning kring mag-tarm-kanalens mikrobiota har skiftat från isolering och odling av bakterier till tekniker som använder molekylära DNA verktyg, molekylär fingerprinting och den nya generationens sekvenseringstekniker. Metoderna kan identifiera vilka bakterier som finns genom DNA-analyser (mikrobiom sekvensering) och tillåter identifikation av interaktioner mellan bakteriernas sammanlagda arvsmassa och bakteriernas metaboliter.

Translationell forskning - det humana mikrobiomet vid hälsa och sjukdom

Sista presentationen på temat mikrobiota behandlade forskningsresultat relaterade till människan. Föreläsaren utgår ifrån att vårt levnadssätt idag med ett lågt intag av fiber och fermenterade

livsmedel, ett ökat intag av socker, användning av antibiotika och andra läkemedel, fler förlossningar via kejsarsnitt samt mer stillasittande och stress har ändrat vår mikrobiota i tarmen rejält. Tarmens mikrobiota påverkar hälsan på olika nivåer såsom immuntolerans, försvar mot infektioner och signaler till hjärnan. Förändringar i mikrobiotan kan därmed vara en orsak till att infektionssjukdomar har minskat medan immunologisk relaterade sjukdomar och fetma har ökat i västvärlden.

Intresset kring samband mellan olika sjukdomar hos människan och mikroorganismerna i tarmen har ökat på senare tid och diskuteras särskilt i samband med allergier, astma och atopiskt dermatit. Vilken mikrobiota i tarmen vi människor har beror på många faktorer exempelvis om vi föds med kejsarsnitt eller vaginalt, var vi bor och hur vi växer upp, vad vi äter, om vi har kontakt med djur eller använder antibiotika. Det är svårt att definiera vilken mikrobiota som kan anses vara "normal" störningar har dock kunnat påvisas vid sjukdomar såsom astma, diabetes, Crohns sjukdom, ulcerös kolit, övervikt, hjärt-kärl-sjukdomar, depression, Alzheimers sjukdom, autism och cancer. Friska människor har vanligtvis en högre diversitet av bakterier och tarmens mikrobiota förändras avsevärt vid inflammation medan polyper eller slemhinnefickor inte påverkar sammansättningen. Olika terapiformer har utvecklats vilka syftar till att påverkar tarmens mikrobiota.

Dagen avslutades med en paneldiskussion.

Övrigt – svårhetsgrad och specialistutbildningar inom försöksdjursmedicin

Seminariets andra dag inleddes med en presentation och diskussion kring bedömning av svårhetsgraden i olika försök. Det diskuterades hur det kumulativa lidandet ska bedömas och om det överhuvudtaget går att bedöma kumulativt lidande. Det rekommenderades att använda avsevärd svårhetsgrad endast vid avsevärt lidande eftersom även svårare operativa ingrepp kan göras med måttlig belastning för djuren genom adekvat anestesi. Exempel på avsevärd svårhetsgrad är förlamade djur, toxicitetstester, torakotomi utan smärtlindring, måttlig, avsevärd eller persisterande post-operativ smärta, hållande i metabolismburar under en längre period (mer än fem dygn) med begränsad rörelsefrihet, eller komplett isolering av sociala djurarter över längre tid. En vägledning för bedömning av svårhetsgrad framtagen av en grupp av experter finns översatt till flera olika språk och är tillgänglig på Europeiska kommissionens webbplats

http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pubs_guidance_en.htm.

Det hänvisades till att svårhetsgraden bör bedömas innan, under och efter försöket och att olika bedömningsmallar (score sheets) kan vara behjälpliga för att uppskatta djurens beteende och kliniska symtom. Även om djuren ska bedömas varje dag använder vissa anläggningar, för att spara tid, mallarna endast vid avvikelser. Veterinärerna anser att bedömning av kumulativt lidande och återanvändning är svårt och att det saknas en bra vägledning.

Dagen avslutades med en diskussion om specialistutbildningen för försöksdjursveterinärer som ECLAM (European College for Laboratory Animal Medicine) erbjuder. Mer information om utbildningen finns på webbplatsen <http://eslav-eclam.org/eclam/training/>

Karen Erlbacher
Sveriges 3R-center

