

Mikrobiyom ve İnsan Sağlığı

Microbiome and Human Health: Review

Hatice Gül ANLAR,^{a,b}
Nurşen BAŞARAN^a

^aFarmasötik Toksikoloji AD,
Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,
Ankara

^bFarmasötik Toksikoloji AD,
Çukurova Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,
Adana

Geliş Tarihi/Received: 23.12.2015
Kabul Tarihi/Accepted: 27.01.2016

Yazışma Adresi/Correspondence:
Hatice Gül ANLAR
Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Toksikoloji AD, Ankara,
TÜRKİYE/TURKEY
haticegulgoktas@gmail.com

ÖZET Deri, ağız bölgesi, barsaklar ve diğer vücut kısımlarında koloni hâlinde bulunan mikrobiyal topluluğa “mikrobiyota” denilmektedir. Mikrobiyota başlıca bakterilerden oluşmaktadır ancak mantar, virüs ve protozoalar da bu topluluk içerisinde yer almaktadır. Bir insanda yaklaşık 40 milyon insan hücresi ve 22 bin insan geni bulunmaktadır. Diğer yandan insan vücudu yaklaşık 100 trilyon mikrobiyal hücre ve 2 milyon mikrobiyal gene de ev sahipliği yapmaktadır. Bu mikroorganizmalar başta gastrointestinal kanal olmak üzere tüm mukozal yüzeylere yerleşirler ve vücudun farklı bölgelerine göre farklı mikroorganizma türleri baskın tür olarak görülmektedirler. İnsan mikrobiyotasının şekillenmesinde beslenme ve doğum şekli başta olmak üzere çeşitli çevresel faktörler etkili olmaktadır. Normal fizyolojik şartlarda mikrobiyota ile insan arasında karşılıklı yarara dayalı bir ilişki vardır. Bu mikroorganizmaların besinlerin sindirimine yardımcı olmak, immün sistemi güçlendirmek ve patojenlerin vücudumuzu işgal etmesine engel olmak gibi görevleri bulunmaktadır. İnsan vücudu da bu mikroorganizmalara ev sahipliği yapar. Ancak bazı faktörler karşılıklı yarara dayalı bu ilişkiyi değiştirebilmektedir. Yapılan çalışmalarda, mikrobiyotanın diyabet, Crohn, obezite, romatoid artrit, otoimmün hastalıklar ve enfeksiyonlar gibi bazı hastalıkların gelişmesinde rol oynadığı iddia edilmektedir. Bu nedenle insanların mikrobiyal yanını tanımak, insan biyolojisi ve davranışlarını, ilaçların ve ksenobiyotiklerin metabolizmasını anlayabilmek açısından önemlidir. Gelecekte mikrobiyotanın pek çok hastalığın tedavisi için ilaç hedefi olacağı da belirtilmektedir. Bu çalışma, günümüzde insan mikrobiyomu ile ilgili bilinenler hakkında bir özet sunmayı amaçlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Metagenom; bakteriyel enfeksiyonlar ve mikozlar

ABSTRACT Microbial communities which are found as colonized in our skin, oral cavity, gut and other body parts are called human microbiota. Microbiota are mainly consisted as bacteria, but also fungi, viruses and protozoas are also took place in microbiota. Human is consist of about 40 million human cells and 22000 human genes, but also host 100 trillion microbial cells and 2 million microbial genes. These microorganisms settle all the body's mucosal surfaces especially gastrointestinal tract and different microbial species is seen as the dominant species depend on various body part. Several environmental factors, especially diet and mode of delivery is effective in shaping the human microbiota. Under normal physiological conditions, there is a mutual relationship between human and microbiota. Microbiota has useful effects such as mediating digest the food, strengthening the immune system, and preventing pathogens from invading the body. The human body host to these microorganisms. But some factors can change the situation. In some studies it is suggested that microbiota has a role in the development of some diseases such as diabetes mellitus, Crohn's disease, obesity, rheumatoid arthritis, autoimmune disorders and infections. For that reason, understanding the microbial side of human is important to understand human biology and behaviour, responses and metabolisms of xenobiotics and drugs. It is suggested that microbiota will be the target of drugs to treat many diseases in future. This review aims to give a brief summary of the current information about human microbiome.

Key Words: Metagenome; bacterial infections and mycoses

doi:10.5336/pharmsci.2015-49220

Copyright © 2016 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Pharm Sci 2016;5(1):46-51

Doğumdan hemen sonra deri, ağız içi ve barsak gibi vücut organlarının birçoğu farklı türde, çok sayıda organizma ile dolmaktadır. Bu organizmaların büyük bir kısmını bakteriler oluştururken, mantar, virüs ve protozoalar da bu topluluk içerisinde yer almaktadır. Bu mikrobiyolojik topluluğa “insan mikrobiyotası” denilmektedir. Mikrobiyota hücreleri, insan hücrelerinden 10 kat daha fazladır. Ayrıca, bu mikroorganizmalar insan genomundan 150 kat daha fazla gen taşımaktadır ve bu genom da mikrobiyom olarak adlandırılır.¹ Mikrobiyota temel olarak tüm mukozal yüzeylere ve gastrointestinal kanala (GİK) yerleşir. GİK’deki bu mikroorganizmalar, vücut mikrobiyotasının en büyük kısmını oluşturur ve barsak mikrobiyotası olarak adlandırılır. Normal fizyolojik şartlarda, mikrobiyota-insan ilişkisi karşılıklı yarar ilkesine dayanmaktadır. Mikroorganizmalar, besinlerin sindirilmesinde ve bağışıklık sisteminin güçlendirilmesinde görev alır. Bu şekilde insan sağlığına yararlı etkileri olurken, kendileri de barınma ve beslenme gereksinimlerini karşılarlar.²

1900’lü yıllarda, modern probiyotik yaklaşımının babası olarak bilinen Rus bilim adamı Ilya Metchnikov, gastrointestinal mikrobiyotanın insan sağlığı üzerine çok önemli etkileri olduğunu ve bazı barsak bakterilerinin toksik maddeler üreterek yaşlanmaya ve hastalıklara neden olabileceğini iddia etmiştir. Metchnikov, fermente süt ürünleri ile laktik asit bakterilerinin günlük alımının Bulgar köylülerin sağlıklı ve uzun ömürlü olmasında etkili olduğunu gözlemlemiş ve günlük diyetin, laktik asit bakterileri ile takviye edilmesi gerektiğini söylemiştir.³ Geçmişte Hipokrat da “Bütün hastalıklar barsaktan başlar.” sözü ile sindirim kanalının insan sağlığı üzerinde çok önemli etkileri olduğunu vurgulamıştır. Mikrobiyotanın, insan sağlığına olan potansiyel etkilerinin çoktandır bilinmesine rağmen, bu mikroorganizmaların genetik ve metabolik özellikleri bakımından kapsamlı incelenip anlaşılması ancak yakın geçmişte mümkün olabilmektedir.⁴ Çünkü geleneksel mikrobiyoloji, çoğunlukla kültür bağımlıdır ve laboratuvar şartlarında özel vasatlar ile büyütülen mikroorganizmaları incelemektedir. Bu türler ile yapılan çok sayıda çalışmaya rağmen, barsak bakterilerinden kültür

yapılma girişimlerinin çoğu başarısız olmuştur. Normal barsak mikrobiyotası, *Bacteroides*, *Actinobacteria* ve *Firmicutes* gibi çoğunlukla anaerobik türlerden oluşmaktadır ve bu türlerin çoğaltılması için gerekli karbon kaynağı hakkındaki bilgiler yetersizdir. Tarihsel olarak, mikrobiyota ile ilgili ilk çalışma, steril farelerin üretilmesi ile başlamıştır.^{5,6} Fareler anne karnından sezaryen yöntemi ile alınarak tamamen steril şartlarda yetiştirilmektedirler. Böylece istenen bakteri türünün kolonizasyonu yapılarak araştırmalarda kullanılmaktadır. Daha sonra mikrobiyom araştırmalarında yeni jenerasyon genomik teknolojileri olarak polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) gibi DNA temelli teknikler kullanılmıştır. Bu yöntemlerde, floresan işaretlenmiş oligonükleotit proplar, 16 S ribozomal RNA geni gibi gösterge genler ile hibridize edilerek mikrobiyal topluluğun karakterizasyonu yapılmıştır. Tüm bakterilerde 16 S ribozomal RNA geninin, yüksek oranda bulunduğu ve ayrıca bakteriyel sınıflar arasında değişkenlik gösteren bir bölge de içerdiği ortaya konmuştur.⁷ 2005 yılında, “Uluslararası İnsan Mikrobiyom Konsorsiyumu” nun başlattığı iş birliği programı ve Amerika Ulusal Sağlık Enstitüsü’nün, “İnsan Mikrobiyom Projesi” ile bu konudaki araştırmalar hız kazanmıştır. 2010 yılında, Qin ve ark.nın, Avrupalı 124 bireyi esas alarak yaptıkları çalışma ile insan barsak mikrobiyomunun ilk kataloğu yayınlanmıştır. Bu kataloğa göre insanlarda, farklı vücut bölgelerinde mikrobiyota içeriği değişmektedir (Tablo 1).⁴

■ MİKROBİYOTA BİLEŞİMİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

İnsan genomu sabit olsa da mikrobiyom dinamik ve birçok faktöre bağlı olarak değişkenlik gösterir. Bu faktörler arasında en önemlisi beslenmedir. Yapılan bir çalışma ile protein içeriği yüksek gıdalarla beslenmenin farelerde, *Eggerthella lenta*’nın transkripsiyon aktivitesinde değişikliklere neden olduğu ve bunun da digoksinin metabolizmasını etkilediği gösterilmiştir.⁸ Başka bir çalışmada, sadece sebze ile beslenen kişilerde et ve sebze ile beslenen bireylere göre *Bacteroides*, *Bifidobacterium* ve *Enterobacter* türlerinin daha az bulunduğu gösteril-

TABLO 1: İnsanlarda vücut bölgelerine göre mikrobiyotada baskın olan türler.

Organ	Baskın tür
Ağız	<i>Streptococcus</i>
Özofagus	<i>Firmicutes</i>
İnce barsak	<i>Firmicutes</i>
Kalın barsak	<i>Bacteroidetes</i> ve <i>Firmicutes</i>
Vajina	<i>Lactobacillus</i>
Avuç içi	<i>Actinobacteria</i>
Deri	<i>Actinobacteria</i>
İdrar	<i>Firmicutes</i>

miştir.^{9,10} Bir başka çalışmada, insan barsak mikrobiyotasındaki *Bacteroides* ve *Prevotella* türlerinin aktivitesinin, uzun süreli beslenme rejimi ile yakından ilişkili olduğu, protein ve hayvansal yağlardan zengin ürünlerle beslenmenin *Bacteroides* aktivitesini, karbonhidrat bakımından zengin ürünler ile beslenmenin ise *Prevotella* aktivitesini artırdığı bildirilmiştir.^{11,12}

Doğum şekli insan barsak mikrobiyota içeriğini önemli derecede etkileyen bir başka etkidir. Yenidoğan mekonyumunun analiz edildiği bir çalışmada, normal doğumda bebeğin barsak florası ile annenin vajinal florasının; sezaryen doğumda ise deri florasının anlamlı derecede benzerlik gösterdiği ispatlanmıştır.¹³ Ayrıca, sezaryen doğumun insan barsak mikrobiyotasının çeşitliliğini azalttığı, *Bacteroides* türlerinin kolonizasyonunu geciktirdiği ve bunun da yardımcı T-hücresi yanıtında değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir.¹⁴ Yaşamın ilk yıllarındaki beslenme düzeni de mikrobiyota bileşimini etkileyen faktörlerdendir. *Bifidobacterium* ve *Ruminococcus* türlerinin anne sütü ile beslenen bebeklerde yüksek oranda, mama ile beslenen bebeklerde düşük oranda bulunduğu bildirilmiştir.^{15,16}

Antibiyotik tedavisinin insan mikrobiyota içeriğini ciddi şekilde değiştirdiği gösterilmiştir.^{17,18} Yapılan birçok çalışma sonucu, mikrobiyota çeşitliliğinin antibiyotik tedavisi ile azaldığı yönündedir.¹⁹ Bebeklik döneminde antibiyotik kullanımı *Bifidobacterium* türlerinin kolonizasyonunu geciktirmekte ve bu da immün sistemin gelişimini doğrudan etkilemektedir.²⁰ Folliaki ve ark.nın yaptıkları bir çalışma, bebeklikte antibiyotik kullanımı

ile çocuklukta açığa çıkan astım, saman nezlesi ve ekzema hastaları arasında ciddi bir ilişki olduğunu göstermiştir.²¹ Yine Russell ve ark., hayatın erken dönemlerinde antibiyotik kullanımının ileride allerjik astım gelişme riskini artırdığı yönünde bulgular elde etmişlerdir.²² Antibiyotik tedavisinin istenmeyen sonuçlarından biri antibiyotik ilişkili diyaredir.²³ Antibiyotik kullanımı sonucu bozulan normal barsak mikrobiyotası, *Clostridium difficile* türünün patolojik çoğalması için elverişli bir ortam sağlamaktadır. Bu da karbonhidratların metabolizmasının bozulmasına neden olarak ağır diyare vakalarının gelişmesine neden olmaktadır.²⁴ Bütün bu faktörler dışında hormonal döngü, enfeksiyonlar ve inflamatuvar hastalıklar, antibiyotik tedavisi gibi medikal yaklaşımlar mikrobiyota içeriğini etkilemektedir.²⁵

MİKROBİYOTA İMMÜN SİSTEM İLİŞKİSİ

Evrimsel süreç boyunca mikroorganizmalar ve insan konakçı arasındaki karşılıklı etkileşimin immün homeostazın gelişmesinde etkili olduğu söylenmektedir.²⁶ Mikrobiyotanın immün sistem üzerinde, kısa zincirli yağ asitleri gibi çeşitli metabolitlerin üretimini sağlayarak mukus salgılanmasını artırması, REGIII α ve REGIII β gibi antimikrobiyal molekülleri üretmesi gibi doğrudan veya dolaylı çeşitli etkileri bulunmaktadır.²⁷⁻³⁰ Örneğin; *Bacteroides thetaiotaomicron* epitelyal tabakadaki paneth hücrelerini uyararak anjiyogenin üretimini artırır. Böylece barsak submukozal kapiler ağının başlatılmasını sağlar.³¹ Steril ortamda yetiştirilen fareler ile yapılan bir çalışmada, bu farelerin T ve B hücrelerinde bozukluklar olduğu görülmesi de mikrobiyotanın immün sistemin gelişmesinde rol oynadığını göstermektedir.³²

İmmün sistem, patojenlerden korunmakta hayati öneme sahip olduğu gibi, immün sistem işlevlerindeki artışlar da istenmeyen sonuçları doğurur. Otoimmün hastalıklarda, vücudun kendi hücreleri ile diğer hücreleri ayırt etme mekanizmasında hatalar oluşmakta ve immün sistem kendi hücrelerine saldırılmaktadır.^{30,33} İnsanların milyonlarca mikroorganizma kolonisi ile birlikte yaşayan bir süper organizma olduğu düşünüldüğünde, insan immün sisteminin kendi hücrelerini tanıyabildiği yönün-

deki teorinin, insan mikrobiyotasını da tanıdığı yönünde genişletilmesi gerektiği ifade edilmektedir.³⁴

İNSAN MİKROBİYOTASI VE ÇEŞİTLİ HASTALIKLAR ARASINDAKİ İLİŞKİ

BARSAK HASTALIKLARI

İnflamatuvar barsak hastalığı, Crohn hastalığı ve ülseratif kolit gibi kolon ve ince barsağı etkileyen birçok inflamatuvar hastalığı kapsayan bir terimdir. İnflamatuvar barsak hastalığı gelişiminin, barsak mikrobiyotasının bozulması ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır.^{35,36} Bu hastalarda, sağlıklı kişilere göre, barsak bakterilerinin çeşitliliğinde azalma ve özellikle *Firmicutes* ve *Bacteroides* türlerinin miktarında da ciddi değişim vardır.^{37,38} Kolonu etkileyen Crohn hastalığı olan kişilerde, sağlıklı kişilere göre *Firmicutes*, *Actinobacteria* ve *Tenericutes* türlerinde artış olduğu, ancak ince barsakları etkileyen Crohn hastalığı olan kişilerde ise *Firmicutes* türlerinde azalma, *Proteobacteria* ve *Fusobacteria* türlerinde artış olduğu bulunmuştur.³⁸ Gevers ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, henüz tedaviye başlamamış yeni başlangıçlı inflamatuvar barsak hastalığı olan kişilerin barsaklarının farklı bölgelerinden örnekler alınmış, sonuçta, bazı bakteri türlerinin (*Enterobacteria*, *Pasteurella* ve *Fusobacteria*) sayısında ciddi artış; bazı bakteri türlerinin (*Bacteroidales* ve *Clostridiales*) sayısında ise azalma olduğu ve bu düzeylerin hastalığın evreleri ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu ilişkinin, rektal mukoza örnekleri alınarak Crohn hastalığının erken tanısı için ümit verici bir gözlem olduğu iddia edilmiştir.³⁹

ROMATOİD ARTRİT

Romatoid artrit (RA), kronik inflamasyon ile karakterize, başta eklemler olmak üzere birçok dokuyu ve organı etkileyen otoimmün bir hastalıktır. RA patogenezini genetik ve çevresel birçok faktör etkilemektedir. Çevresel faktörler arasında barsak mikrobiyotasının önemli rol oynadığı öne sürülmektedir.^{40,41} Yapılan bir çalışmada, RA hastalarında, sağlıklı bireylere göre *Prevotella* türlerinde artış olduğu ve özellikle *Prevotella copri*'nin RA gelişiminde etkili olduğu öne sürülmüştür.⁴² Wu ve ark.nın fare

modeli kullanarak yaptığı bir çalışma ile de barsak mikrobiyotasındaki değişikliklerin yardımcı T-hücre yanıtını etkilediği, daha sonra bu hücrelerin periferik lenfoid dokuya göç ederek interlökin-17 üretimini artırdığı ve bunun da dalakta otoantikörlerin üretimini uyararak, eklem hücrelerinin hedef alınmasına neden olabileceği iddia edilmiştir.⁴³

TİP 1 DİYABET

Tip 1 diyabet, T hücreleri tarafından pankreasta insülin üreten beta hücrelerinin parçalandığı otoimmün bir hastalıktır. Obez olmayan, diyabetli fare modeli ile yapılan çalışmalarda, tamamen patojensiz ortamda büyütülen farelerde, hastalık fenotipinde herhangi bir düzelme gözlenmemiştir. Aksine bu farelerde, normal şartlarda yetiştirilen farelere göre Tip 1 diyabet insidansı daha yüksek bulunmuştur. Bu gözlem, Tip 1 diyabet sıklığının, hijyen kurallarının katı olduğu ülkelerde daha fazla olması ile de uyumludur. Bu farelerde normal barsak florası kolonizasyonu sağlandığında hastalık belirtilerinde iyileşme de görülmüştür.⁴⁴

OBEZİTE

İnsanlarda ve farelerde yapılan çalışmalarda, barsak mikrobiyotasında değişikliklerin obezite ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Obez bireylerde, zayıf insanlara göre *Firmicutes* türlerinde artış ve *Bacteroidetes* türlerinde azalma olduğu rapor edilmiştir. Bu durum hem insanlarda hem de genetik olarak obeziteye yatkın farelerde gözlenmiştir. Ayrıca, obez insanlarda kilo verdikten sonra *Firmicutes* / *Bacteroidetes* oranının normale döndüğü de rapor edilmiştir.⁴⁵ Kalliomäki ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, *Staphylococcus aureus* düzeylerinde yükselme ve *Bifidobacteria* seviyesinde düşme gibi barsak mikrobiyotasında gözlenen erken değişikliklerin obezite gelişimini öngörmede faydalı olabileceği bildirilmiştir.⁴⁶ Obezite ile mikrobiyotadaki değişiklikler arasındaki nedensellik ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda, obez kişilerde mikrobiyotanın diyetten enerji elde etme kapasitesinin sağlıklı kişilere göre artmış olduğu da gösterilmiştir.^{47,48}

İMMÜN YETMEZLİK

Kronik mukokutanöz kandidiyaz ve hiper IgE sendromu gibi immün sistem yetmezliği olan kişiler,

özellikle deri ve mukozada gelişebilecek çeşitli mantar enfeksiyonları açısından risk altındadır. Bu hastaların mikrobiyotasında, sağlıklı kişilere göre gram negatif bakterilerin sayısında artış, *Acinetobacter* ve *Corynebacterium* türlerinde azalma gibi değişiklikler olduğu rapor edilmiştir.⁴⁹ HIV hastaları ile yapılan bir çalışmada, barsak mikrobiyotasındaki değişikliklerin, antiretroviral tedavi sırasında düzeldiği gösterilmiştir.⁵⁰ Ayrıca HIV hastalarında sıkça görülen *C. difficile* enfeksiyonlarının tedavisinde fekal transplantasyonun yararlı olduğunu gösteren olgu raporları da bulunmaktadır.⁵¹

MİKROBİYOTA HEDEFLİ TEDAVİ YAKLAŞIMLARI

Mikrobiyota hedefli tedavi yaklaşımları diyetle probiyotik ve prebiyotik alımı gibi basit tedaviler olabileceği gibi fekal transplantasyon gibi ciddi girişimler de olabilmektedir. Probiyotikler, konakçıya yarar sağlayan yaşayan organizmalardır. Prebiyotikler ise immün sistem veya karbonhidrat metabolizmasını etkileyerek probiyotiklerin çoğalmasını uyaran maddelerdir. Probiyotik, prebiyotik ve ikisinin karışımı olan simbiyotik maddelerin diyare ve atopik dermatit gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir.⁵²

Fekal transplantasyon, sağlıklı donörden alınan barsak florasının hasta bireye verilmesi işlemidir. İlk defa 1958 yılında uygulanan ve bakteriyoterapi de denilen bu yöntem günümüzde başarısı kabul edilmiş bir uygulamadır. Fekal transplantasyonun özellikle *C. difficile* ilişkili kolit hastalarında iyileşmeyi sağladığı gösterilmiştir.^{53,54} Ancak hoş olmayan bir yöntem olması kullanımını kısıtlamaktadır. Bu nedenle günümüzde pek çok araştırma, sağlıklı mikrobiyotanın hastalara daha uygun karışımlar hâlinde verilebileceği alternatif yöntemler üzerine odaklanmıştır.

SONUÇ

İnsanların mikrobiyota ile yaşayan bir süperorganizma oluşu, insan biyolojisine ve tıbbı yeni bir bakış açısı kazandırmıştır. Yapılan çalışmalarla mikrobiyota ile ilişkili olduğu gösterilen pek çok hastalık da düşünüldüğünde, gelecekte obezite, diyabet gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde mikrobiyotanın ilaç hedefi olabileceği öngörülmektedir.⁵⁵ Ancak günümüzde sağlıklı insan mikrobiyotasının içeriği, mikrobiyotayı etkileyen faktörler, bu faktörlerin mekanizması ve hastalıklar ile ilişkisi tam olarak ortaya konulamamıştır. Bu nedenle, mikrobiyota ile ilgili çok-merkezli ve daha kapsamlı araştırmalara gerek duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Céit MC, Matzaraki V, Tigheelaar EF, Zhernakova A. Rapidly expanding knowledge on the role of the gut microbiome in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1842(10):1981-92.
- Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* 2012;489(7415): 242-9.
- van de Guchte M, Penaud S, Grimaldi C, Barbe V, Bryson K, Nicolas P, et al. The complete genome sequence of *Lactobacillus bulgaricus* reveals extensive and ongoing reductive evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(24):9274-9.
- Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010;464(7285): 59-65.
- Pleasant JR. Rearing germfree cesarean-born rats, mice, and rabbits through weaning. *Ann N Y Acad Sci* 1959;8(78):116-26.
- Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev* 1995;59(1):143-69.
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett C, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project: exploring the microbial part of ourselves in a changing world. *Nature* 2007;449(7164):804-10.
- Haiser HJ, Seim KL, Balskus EP, Turnbaugh PJ. Mechanistic insight into digoxin inactivation by *Enterococcus faecalis* augments our understanding of its pharmacokinetics. *Gut Microbes* 2014;5(2):233-8.
- Zimmer J, Lange B, Frick JS, Sauer H, Zimmermann K, Schwiertz A, et al. A vegan or vegetarian diet substantially alters the human colonic faecal microbiota. *Eur J Clin Nutr* 2012;66(1):53-60.
- David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 2014; 505(7484):559-63.
- Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011;473(7346):174-80.
- Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 2011;334(6052):105-8.
- Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107(26):11971-5.

14. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut* 2014;63(4):559-66.
15. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe* 2011;17(6):478-82.
16. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006;118(2):511-21.
17. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 2007;5(7):e177.
18. Woodmansey EJ, McMurdo ME, Macfarlane GT, Macfarlane S. Comparison of compositions and metabolic activities of fecal microbiotas in young adults and in antibiotic-treated and non-antibiotic-treated elderly subjects. *Appl Environ Microbiol* 2004;70(10):6113-22.
19. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME J* 2007;1(1):56-66.
20. Hussey S, Wall R, Gruffman E, O'Sullivan L, Ryan CA, Murphy B, et al. Parenteral antibiotics reduce bifidobacteria colonization and diversity in neonates. *Int J Microbiol* 2011;2011:130574.
21. Foliaki S, Pearce N, Björkstén B, Mallol J, Montefort S, von Mutius E. Antibiotic use in infancy and symptoms of asthma, rhinoconjunctivitis, and eczema in children 6 and 7 years old: International Study of Asthma and Allergies in Childhood Phase III. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124(5):982-9.
22. Russell SL, Gold MJ, Hartmann M, Willing BP, Thorson L, Wlodarska M, et al. Early life antibiotic-driven changes in microbiota enhance susceptibility to allergic asthma. *EMBO Rep* 2012;13(5):440-7.
23. Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev* 2010;90(3):859-904.
24. Young VB, Schmidt TM. Antibiotic-associated diarrhea accompanied by large-scale alterations in the composition of the fecal microbiota. *J Clin Microbiol* 2004;42(3):1203-6.
25. Gerber GK. The dynamic microbiome. *FEBS Letters* 2014;588(22):4131-9.
26. Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu Rev Nutr* 2002;22:283-307.
27. Wu HJ, Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes* 2012;3(1):4-14.
28. Fukuda S, Toh H, Hase K, Oshima K, Nakanishi Y, Yoshimura K, et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature* 2011;469(7331):543-7.
29. Petersson J, Schreiber O, Hansson GC, Gendler SJ, Velcich A, Lundberg JO, et al. Importance and regulation of the colonic mucus barrier in a mouse model of colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011;300(2):G327-33.
30. Cash HL, Whitham CV, Behrendt CL, Hooper LV. Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin. *Science* 2006;313(5790):1126-30.
31. Xu J, Gordon JI. Honor thy symbionts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(18):10452-9.
32. Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science* 2012;336(6086):1268-73.
33. Westerberg LS, Klein C, Snapper SB. Breakdown of T cell tolerance and autoimmunity in primary immunodeficiency--lessons learned from monogenic disorders in mice and men. *Curr Opin Immunol* 2008;20(6):646-54.
34. Lederberg J. Infectious history. *Science* 2000;288(5464):287-93.
35. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2011;474(7351):307-17.
36. Cho JH. The genetics and immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature Rev Immunol* 2008;8(6):458-66.
37. Manichanh C, Rigottier-Gois L, Bonnaud E, Gloux K, Pelletier E, Frangeul L, et al. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut* 2006;55(2):205-11.
38. Sokol H, Lay C, Seksik P, Tannock GW. Analysis of bacterial bowel communities of IBD patients: what has it revealed? *Inflamm Bowel Dis* 2008;14(6):858-67.
39. Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, Vázquez-Baeza Y, Van Treuren W, Ren B, et al. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe* 2014;15(3):382-92.
40. Brusca SB, Abramson SB, Scher JU. Microbiome and mucosal inflammation as extra-articular triggers for rheumatoid arthritis and autoimmunity. *Curr Opin Rheumatol* 2014;26(1):101-7.
41. Scher JU, Abramson SB. The microbiome and rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2011;7(10):569-78.
42. Scher JU, Sczesnak A, Longman RS, Segata N, Ubeda C, Bielski C, et al. Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. *Elife* 2013;2:e01202.
43. Wu HJ, Ivanov II, Darce J, Hattori K, Shima T, Umesaki Y, et al. Gut-residing segmented filamentous bacteria drive autoimmune arthritis via T helper 17 cells. *Immunity* 2010;32(6):815-27.
44. Wen L, Ley RE, Volchkov PY, Stranges PB, Avanesyan L, Stonebraker AC, et al. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes. *Nature* 2008;455(7216):1109-13.
45. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006;444(7122):1022-3.
46. Kalliomäki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am J Clin Nutr* 2008;87(3):534-8.
47. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006;444(7122):1027-131.
48. Turnbaugh PJ, Backhed F, Fulton L, Gordon JI. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host Microbe* 2008;3(4):213-23.
49. Smeekens SP, Huttenhower C, Riza A, van de Veerdonk FL, Zeeuwen PL, Schalkwijk J, et al. Skin microbiome imbalance in patients with STAT1/STAT3 defects impairs innate host defense responses. *J Innate Immun* 2014;6(3):253-62.
50. Lozupone CA, Li M, Campbell TB, Flores SC, Linderman D, Geibert MJ, et al. Alterations in the gut microbiota associated with HIV-1 infection. *Cell Host Microbe* 2013;14(3):329-39.
51. Eloppe R, Rodriguez M. Fecal microbiota therapy for recurrent *Clostridium difficile* infection in HIV-infected persons. *Ann Intern Med* 2013;158(10):779-80.
52. Holmes E, Kinross J, Gibson GR, Burcelin R, Jia W, Pettersson S, et al. Therapeutic modulation of microbiota-host metabolic interactions. *Sci Transl Med* 2012;4(137):137rv6.
53. Eiseman B, Silen W, Bascom GS, Kauvar AJ. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery* 1958;44(5):854-9.
54. Rohlke F, Stollman N. Fecal microbiota transplantation in relapsing *Clostridium difficile* infection. *Therap Adv Gastroenterol* 2012;5(6):403-20.
55. Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science* 2012;336(6086):1262-7.