pixabay.com

Prof. MVDr. Vladimír Kmeť, DrSc

[1]Centrum biovied SAV, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Šoltésovej 4, 040 01 Košice
[2]Slovenská astronomická spoločnosť pri SAV, Odbočka Prešov, Dilongova 17, 080 01 Prešov

ÚVOD

Medzinárodná vesmírna stanica (ISS) je kontinuálne obývaná od novembra 2000, poskytuje platformu pre dlhodobé lety, pri ktorých sa sleduje vplyv na ľudské zdravie a fyziológiu. ISS nie je sterilným prostredím. V stave mikrogravitácie (malá gravitácia, ktorá sa stotožňuje s bezváhovým stavom) nie je jednoduché dodržiavať najzákladnejšie hygienické návyky. Pri mikrogravitácii totiž odpad nepadá tam, kam by mal, ale voľne sa vznáša vo vzduchu. To predstavuje problém pri strihaní vlasov, nechtov, sprchovaní aj pri návšteve toalety. Na čistenie zubov sa používa špeciálna zubná pasta, ktorú možno prehltnúť. Ústa si kozmonauti vypláchnu a zvyšok vypľujú do uteráka. Namiesto sprchovania sa používajú navlhčené utierky alebo špongie, vlasy sa umývajú šampónom, ktorý sa nanesie na uterák a po očistení sa vlasy ďalším uterákom vysušia. Pri veľkej potrebe sa kozmonauti pripútajú na toaletu a stolica sa odsáva vysávačom. Pretože sa na toalete nepoužíva voda, na očistenie sa používajú navlhčené obrúsky, ktoré potom skončia v kontajneri na odpad. Moč je na ISS cenná tekutina, preto sa recykluje. Na dekontamináciu prostredia a filtrov na ISS sa používa ultrafialové germicídne žiarenie a rôzne biocidy. Súčasný dezinfekčný prostriedok pre systém pitnej vody na ISS je jód, ktorý sa ľahšie trasportuje do vesmíru ako chlór a je aj menej korozívny (**NASA 2012**).

Obr. 1 Medzinárodná vesmírna stanica (360 stupňový záber), zdroj: NASA

Mikrobiálne monitorovanie vzduchu a povrchov na ISS ukázalo, že v tomto uzavretom prostredí existuje veľa potenciálnych patogénov ľudského pôvodu. Prítomnosť takýchto mikroorganizmov v prostredí predstavuje vážne riziko pre zdravie posádky, najmä pri oslabenej imunite kozmonautov počas dlhodobého letu (**Yamaguchi *et al.* 2014**). **Mora *et al* . (2019)** detekovali 46 druhov mikroorganimov, ako napr. *Staphylococcus aureus*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *Acinetobacter pitti*, *Pantoea conspicua* a čeľad Enterobacteriaceae , *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis* . Zdrojom týchto mikróbov môže byť aj samotná posádka, menovite jej fyziologická mikroflóra tráviaceho traktu (napr. toaleta). Na ISS vo vzduchu a na povrchoch sa najčastejšie vyskytovali plesne *Aspergillus* , *Penicillium* a *Cladosporium* **(Venkateswaran *et al.* 2014).**

Posádky pri krátkodobých letoch často prežívajú malé traumy, popáleniny, dermatologické a muskuloskeletálne bolesti, dýchacie ťažkosti, bolesti hlavy a nespavosť. Vyskytla sa aj konjunktivitída a akútne respiračné a zubné infekcie. Kozmonauti majú pri lete oslabenú imunitu (**Taylor, 2015**). Bola zaznamenaná aj reaktivácia latentných herpetických vírusov, počas letu a do 1 týždňa po návrate, čo je indikátor zníženia regulácie bunkovej imunity (**Sonnenfeld a Shearer, 2002**). **Mehta *et al.* (2014)** zaznamenal subklinickú aktiváciu vírusu Epstein-Barr, vírusu varicella-zoster a cytomegalovírusu u 14 zo 17 astronautov, ktorí

vykonávali krátkodobé lety na palube raketoplánu, vo výraznom kontraste s pozemnou kontrolnou skupinou. Výskyt závažných porúch súvisiacich s imunitou počas rozšírených misií mimo nízkej orbitálnej dráhy, teda nemožno vylúčiť.

MIKROFLÓRA TRÁVIACEHO TRAKTU

Tráviaci trakt, koža a sliznice človeka sú osídlené veľkým množstvom komenzálnych a patogénnych mikroorganizmov baktérií, plesní a vírusov, ktoré vytvárajú ekologické spoločenstvo – *mikrobiota* a súbor ich génov sa nazýva *mikrobióm*. Fyziologická mikroflóra tráviaceho traktu má významný vplyv na fyziologické, biochemické a imunologické vlastnosti makroorganizmu. Syntetizuje vitamíny skupiny B (biotín, kyselinu listovú a vitamín B12) a K , zlepšuje vstrebávanie vápnika, železa, znižuje hladinu cholesterolu. Antagonisticky pôsobí proti škodlivým patogénnym baktériám, produkciou mastných kyselín s krátkym reťazcom, kyseliny mliečnej, peroxidu vodíka ako aj vysokošpecifickými bakteriocínmi (**Kmeť, 2009**). Tráviaci trakt predstavuje komplexný systém hostiteľsko-mikrobiálnych vzťahov, ktorý je schopný komunikovať aj s mozgom prostredníctvom blúdivého nervu (n. vagus). Je to tzv. črevno-mozgová os. Mikrobiálna nerovnováha medzi fyziologickými a patogénnymi baktériami (dysbióza) je často spojená s hnačkou, nafukovaním, s črevnými zápalovými chorobami (Crohnova choroba, ulcerózna kolitída), obezitou, kolorektálnym karcinómom, artritídou, ale aj s duševnými poruchami a neurodegeneratívnymi chorobami ako napr. depresia, obsedantno-kompulzívna porucha, autizmus, Alzheimerova a Parkinsonova choroba (**Khanna, Tosh, 2014**).

Zloženie črevnej mikroflóry sa stanovuje klasickými metódami ako sú kultivácia napr. *Escherichia coli*, laktobacily, bifidobaktérie a enterokoky, pomocou FISH (fluorescent in situ hybridisation), DNA mikroarray, alebo klasickou Sangerovou metódou DNA sekvenovania 16S rRNA do 800 bázových párov. V súčasnosti sa do popredia dostala na kultivácii nezávislá metóda tzv. DNA sekvenovanie novej generácie (NGS), ktoré umožňuje sekvenovať celé časti mikroflóry. Vývoj tejto tzv. syntetickej ekológie od roku 1995 doteraz popísali **Vrancken *et al.* (2019)**. Medzi najznámejšie projekty črevnej mikroflóry patria MetaHit a Human Microbiome, v ktorých zistili, že črevná mikroflóra ľudí obsahuje 2172 bakteriálnych druhov (**Thursby, Juga 2017**), pričom každý jednotlivec má najmenej 160 druhov (**Qin *et al.* 2010**). Črevné baktérie patria do 12-ich kmeňov, pričom medzi najviac zastúpené (93,5%) patria najmä baktérie kmeňa Firmicutes (prevažne Gram-pozitívne baktérie triedy Bacilli, Clostridia a Mollicutes) a Bacteroidetes (prevažne Gram-negatívne baktérie tried Bacteroidetes, Flavobacteria a Sphingobacteria). Medzi ďalšie dominantné kmene črevných baktérií patria Actinobacteria a Proteobacteria. Pomer medzi Firmicutes a Bacteroidetes tzv. F/B ratio sa využíva pre zhodnotenie zmien vývoja mikroflóry v zdraví a pri dysbióze, napr. pri obezite je zvýšený počet Firmicutes menovite

Lactobacillus/Enterococcus (**Šefčíková *et al.* 2011**).

Zloženie črevnej mikroflóry ovplyvňuje výživa, antibiotiká, stres, cvičenie, vek, vplyv prostredia. U kozmonautov na medzinárodnej vesmírnej stanici črevnú mikroflóru ovplyvňuje aj mikrogravitácia a kozmické žiarenie. Cieľom prehľadu je poukázať na zmeny črevnej mikroflóry z pohľadu zdravia komonautov pri dlhodobých kozmických letoch a na rezistenciu na antibiotiká.

Vplyv mikrogravitácie na bakteriálnu rezistenciu na antibiotiká a virulenciu

Projekt NASA pod označením *E. coli* AntiMicrobial Satellite (EcAMSat) sa zaoberá vplyvom kozmickej mikrogravitácie na rezistenciu na antibiotiká u *E.coli* ako bakteriálneho patogéna spôsobujúceho močové infekcie ľudí a zvierat.

Zistilo sa, že baktérie pestované pri vesmírnych experimentoch v podmienkach mikrogravitácie podliehajú jedinečným fyziologickým reakciám, od modifikovanej morfológie buniek a dynamiky rastu až po zvýšenú toleranciu k antibiotikám. Všeobecnou teóriou tohto správania je strata gravitačne riadených konvenčných procesov v orbitálnom prostredí, čo vedie k zníženiu dostupnosti extracelulárnych živín a akumulácii bakteriálnych vedľajších produktov v blízkosti bunky (**Aunins *et al.* 2018**). *Escherichia coli* rastúce v podmienkach mikrogravitácie na ISS sa adaptovali na vyššie koncentrácie gentamicínu (100-175 µg/ml) v porovnaní s podmienkami na Zemi.

V ďalšom experimente **Fajardo-Cavazos a Nicholson (2016)** zistili, 24-násobne vyššiu frekvenciu mutácií v géne *rpoB* (beta podjednotka RNA polymerázy) u *Staphylococcus epidermidis* rezistentného na rifampicín kultivovaného na ISS v porovnaní s kontrolou na Zemi. Boli zaznamenané dve dvojité mutácie génu *rpoB* a to zmeny v aminokyselinách E460Q + Q469K a D472Y + S487C.

Rezistencia na antibiotiká a biofilm

Antibiotická rezistencia medzi baktériami je stále rastúcim problémom na ISS. V ruskej časti ISS 76% stafylokokov a enterokokov bolo rezistentných na jedno alebo viac antibiotík, 83% izolátov tvorilo biofilmy a 86% z nich obsahovalo konjugatívne plazmidy podobné plazmidu pSK41 (**Schiwon *at al.* 2013**). Protypový stafylokokový plazmid pSK 41 nesie rezistenciu na aminoglykozidy: gentamicín, tobramycín, kanamycín , neomycín a na dezinfekčné látky (**Berg *et al.* 1998**).

Urbaniak *et al.* (2018) detekovali kmene *Enterobacter bugandensis* rezistentné na

ciprofloxacín, gentamicín a tobramycín, z prostredia toalety na ISS. U kmeňa *E. bugadensis* IFSW-P2 pomocou next generation DNA sekvenovania dokázali prítomnosť Mar lokusu (viacnásobná rezistencia na antibiotiká), chromozomálnu rezistenciu na ciprofloxacín (mutácie v DNA gyráze), gén aminoglykozidovej adenylyltransferázy, gén proteínu FosA (rezistencia na fosfomycín) ako aj gény efluxných púmp. Pomocou NGS detekovali z prostredia ISS aj celé spektrum stafylokových génov rezistencie na antimikrobiálne látky: *blaZ* (rezistencia na penicilíny), *mecA, femB* (meticilín), *dfrA, dfr G* (trimetoprím), *norA* (chinolóny), *qacJ, qacB, qacD* (dezinfekčná látka- quartérne amóniové soli), *ermC, msrA, mphC* , *mphBM* (rezistencia na makrolidy, napr. erytromycín), *vga(A)LC, linA* (linkozamid-streptogramín), *sat/aphA-3* (streptotricín/kanamycín), gény *tet* (tetracyklín) a gén *ile S* (mupirocín).

Črevný patogén *Salmonella typhimurium* v podmienkach modelovanej mikrogravitácie na Zemi vykazoval zvýšenú virulenciu, zvýšenú odolnosť voči environmentálnym stresom (kyslý, osmotický a tepelný stres), zvýšené prežívanie v makrofágoch a ako aj globálne zmeny v génovej expresie hladín transkripcie a translácie (**Nickerson *et al.* 2004**). Podobne aj pri mikrogravitácii počas letu raketoplánu na misii STS-115 tento kmeň *Salmonella typhimurium* vykazoval zvýšenú virulenciu v myšacom infekčnom modeli. Na 15. deň po perorálnej infekcii desiatimi miliónmi zárodkov salmonel iba 30 % BALB/c myší prežívalo v podmienkach vesmírneho letu v porovnaní so 40 % myší na Zemi. Na 24.deň prežívalo v kozme už len 10 % myší, oproti 40% na Zemi. Elektrónovým mikroskopovaním salmonely rastúce v kozme mali akumuláciu nešpecifikovanej extracelulárnej matrix, ktorá je spájaná s tvorbou biofilmu. Proteomická analýza salmonel odhalila úlohu globálneho regulátora Hfq (RNA viažúci proteín) v podmienkach vesmírneho letu (**Wilson *et al.* 2007**).

Multidimenzionálna analýza 340 dňového vesmírneho letu identických dvojčiat (Garrett-Bakelman *et al.* 2019).

Identické (jednovaječné dvojčatá, 50 ročné) – kozmonauti, Scott a Mark Kelly, boli predmetom štúdie NASA. Scott (vpravo) strávil rok vo vesmíre, zatiaľ čo Mark (vľavo) zostal na Zemi ako kontrolný subjekt. Celkovo bolo odbratých 317 vzoriek od oboch kozmonautov : stolica, moč a celá krv a plazma. Krv bola rozdelená na PMBC (periférne mononukleárne bunky), ktoré boli priamo spracované na subpopulácie T lymfocytov: CD4 a CD8; B lymfocytov: CD19; a vyčerpané lymfocyty. Z krvnej plazmy bol robený cytokínový profil ako marker zápalových zmien.

Obr 2. Identické dvojčatá – kozmonauti, Scott (vpravo) a Mark Kelly (vľavo), zdroj: NASA

Počas 25 mesiacov (pred letom, počas letu a po lete) výskumný tým „Twins study“ vykonal rozsiahle štúdium. Publikácia v prestížnom časopise Science má 103 strán aj s obrázkovými prílohami, preto nie je možné v tomto prehľade všetko popísať.

Z odobratých vzoriek boli namerané fyziologické, telomerické (teloméry sú koncové časti chromozómov-opakujúce sa sekvencie DNA dlhé 3-20 kb), transkriptomické (transkripcia je prepis genetickej informácie z DNA do RNA) , epigenetické (zmeny v expresii génov, ktoré nie sú spôsobené zmenou nukleotidovej sekvencie DNA), proteomické (proteomika je štúdium vlastností proteínov, ich štruktúry a funkcií), metabolomické (komplexná analýza 719 metabolitov), imunitné a mikrobiologické údaje. Ďalej boli testované aj kardiovaskulárne, vizuálne a kognitívne (medzi kognitívne funkcie patrí pamäť, pozornosť, predstavivosť, priestorová orientácia, rozhodovanie a plánovanie) parametre u oboch kozmonautov.

Zmeny v somatických (telových bunkách)

Dlhodobý výskum identifikoval zmeny špecifické pre vesmírny let ako sú: zníženej telesnej hmotnosti, predĺženia telomér, nestability genómu, distenzie (roztiahnutie) krčnej tepny ako aj jej zvýšenej hrúbky vrstvy intima-médie, zmenenej štruktúry oka, transkripčných a metabolických zmien, zmeny metylácie DNA v dráhach súvisiacich s imunitným a oxidačným stresom a zlepšenie kognitívnych funkcií počas letu a ich prudké zníženie po ukončení letu . Zmeny hladín expresie niektorých génov (znížená regulácia génov lymfocytov CD4 a CD8). Okrem toho boli zápalové cytokíny a gény imunitnej odpovede významne ovplyvnené stresom z návratu na Zem.

Biochémia: Scottova hmotnosť tela klesla o 7% . Podobný jav bol pozorovaný aj u iných kozmonautov (**Zwart *et al* . 2014**) . Znížená hmotnosť a zvýšené sérové hladiny kyseliny

listovej korelovali s predĺženými telomérami.

Proteomika: Scottove telesné tekutiny sa presunuli do hornej časti tela. Boli zaznamenané štrukturálne zmeny na očiach. Zhrubnutie subfoveálnej choroidy (cievovky) a zvýšená celková peripapilárna hrúbka sietnice, čo poukazuje na tvorbu edému sietnice. Od mája 2017 40 % kozmonautov malo príznaky tzv. neuro-okulárneho syndrómu.

Teloméry : Koncové časti chromozómov, teloméry (opakujúce sa sekvencie DNA), chránia dedičný materiál pred degradáciou a zamedzujú, aby sa chromozómy navzájom spájali. Počas života sa teloméry skracujú a ich dĺžka sa v súčasnosti považuje za signalizátor biologického starnutia. Dĺžka teloméru sa skracuje s delením buniek , ako aj vplyvom znečisteného životného prostredia , stresu a žiarením. Vo vesmíre sa Scottove teloméry predĺžili (o 14,5%), ale po návrate na Zem sa väčšina vrátila k normálnym hodnotám už po 48 hodinách.

Imunita: Scott dostal tri dávky vakcíny proti chrípke, každú rok po sebe; prvú na Zemi, druhú vo vesmíre a tretiu dávku znovu na Zemi. Bolo zistené, že, že Scottove telo na vakcínu primerane reagovalo.

Zmeny v zložení mikroflóry čreva

Mikrobióm: V stolici oboch kozmonautov (Scotta vo vesmíre a Marka na Zemi) dominovali dominovali baktérie z kmeňov Firmicutes a Bacteroidetes, ktoré spolu predstavovali via ako 96% všetkých získaných anotovaných sekvencií (testované metódou NGS). Actinobacteria boli zastupené 1,97% sekvencií a Proteobacteria 1,27% . Pomer sekvencií odvodených od Firmicutes k sekvenciám odvodeným od Bacteroidetes (pomer F / B) sa pohyboval od 0,72 do 5,55. Pomer F / B v u Scotta vo vesmíre bol vyšší vo vzorkách za letu v porovnaní s kombinovanými vzorkami pred a po lete (stredný pomer F / B 3,21 vo vesmíre oproti 1,45 po pristátí), ale po pristátí sa vrátil na hladiny pred výstupom (maximálny pomer F / B u Scotta bol 4,60 .

Skúmali sa aj metabolomické parametre črevnej mikroflóry, vrátane fenylov, metabolitov sekundárnej kyseliny žlčovej a zlúčenín obsahujúcich, ktoré sú produkované výlučne mikroorganizmami. Zistilo sa, že kyselina 3-indol propiónová, ktorá má aj protizápalové účinky, bola u Scotta vo vesmíre na nízkej hladine.

Dosiahnuté výsledky na kozmonautoch-dvojčatách naznačujú, že najmenej 10 kľúčových fyziologických procesov bolo ovplyvnených dlhodobým vesmírnym letom, ktoré je potrebné sledovať pri budúcich kozmických letoch: i) telesná hmotnosť a výživa, ii) regulácia dĺžky

teloméry, iii) udržiavanie stability genómu, iv) vaskulárne zdravie, v) očné štrukturálne zmeny, vi) transkripčné a metabolické zmeny, vii) epigenetické posuny, viii) zmeny hladín lipidov, ix) zmeny mikrobióme a (x) kognitívna funkcia . Súbory multi-omických, molekulárnych, fyziologických a behaviorálnych (týkajúci sa ľudského správania sa) údajov poskytujú hodnotnú cestovnú mapu predpokladaných zdravotných rizík pre budúci ľudský vesmírny let.

Vplyv dlhodobých letov na ISS na mikrobióm kozmonautov (Voorhies *et al.* 2019)

V tejto publikácii autori skúmali vplyv dlhodobého pobytu vo vesmíre na mikrobióm deviatich astronautov, ktorí strávili šesť až dvanásť mesiacov na ISS. Zistili zmenu mikrobiálnych spoločenstviev gastrointestinálneho traktu, kože, nosa a jazyka počas vesmírnej misie. Zloženie črevnej mikrobioty sa stalo viac podobné u všetkých kozmonautov vo vesmíre, väčšinou v dôsledku poklesu počtov niekoľkých bakteriálnych taxónov, pričom niektoré korelovali so zmenami v cytokínovom profile členov posádky. Napr. hladina IL-1B a TNFα stúpla pri poklese baktérie *Fusicatenibacter,* IL-1ra pri poklese baktérie *Dorea.*

Táto analýza identifikovala 17 gastrointestinálnych rodov baktérií, ktorých počet sa vo vesmíre významne zmenil (upravená p-hodnota <0,05). Trinásť zo 17 rodov patrilo do kmeňa Firmicutes, väčšinou radu Clostridiales s deviatimi rodmi, ktoré sú súčasťou jadra mikrobioty tráviaceho traktu. Medzi týmito taxonomickými skupinami, došlo k viac ako päťnásobnému zníženiu počtov *Akkermansia* a *Ruminococcus* a približne 3-násobnému poklesu u *Pseudobutyrivibrio* a *Fusicatenibacter*. Väčšina týchto zmien zloženia sa po návrate na Zem vrátila na úroveň pred letom s výnimkou dvoch rodov rodu Firmicutes.

Boli zaznamenané aj zmeny kožného mikrobiómu čela a predlaktia, ktoré môžu prispievať k vysokej frekvencii kožných vyrážok / epizód precitlivenosti (tinea versicolor, dermatitída, rosacea), ktoré pociťujú kozmonauti vo vesmíre (**Crucian *et al.* 2016**). Väčšinou sa jednalo o pokles Gram-negatívnych Proteobaktérií s prevahou Gama a Betaproteobaktérií. Tieto skupiny zahŕňali baktérie z rodu *Moraxella*, *Pseudomonas* a *Acinetobacter*. Naopak, väčšina kožných baktérií, ktoré sa stali hojnejšími počas letu patrili do kmeňov Firmicutes, Bacteroidetes a Actinobacteria, vrátane baktérií rodu *Streptococcus*, *Staphylococcus* a *Corynebacterium.* Výsledky tejto práce ukazujú, že zloženie mikrobiómu kozmonautov sa počas vesmírneho letu mení.

ZÁVER

V prehľade je popísaná problematika vesmírnej mikrobiológie z pohľadu ľudskej posádky. Dlhodobé lety ovplyvňujú mnohé fyziologické funkcie kozmonauta vrátane jeho mikrobiómu,

ako aj uzavretý endo-eko systém vesmírnej stanice. Mikrogravitácia významne vplýva aj na zvýšenú hladinu bakteriálnej rezistencie na antibiotiká a na virulenciu baktérií.

Poďakovanie. Práca vznikla za podpory projektu APVV-16-171

LITERATÚRA

Aunins, T.R., Erickson, K.E., Prasad, N., Levy, S.E., Jones, A., Shrestha, S., Mastracchio, R., Stodieck, L., Klaus, D., Zea, L., Chatterjee, A. (2018). Spaceflight modifies *Escherichia coli* gene expression in response to antibiotic exposure and reveals role of oxidative stress response. *Front Microbiol* 16;9:310. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00310.

Berg, T., Firth, N., Apisiridej, S., Hettiaratchi, A., Leelaporn, A., Skurray, R. A.(1998), Complete nucleotide sequence of pSK41: evolution of staphylococcal conjugative multiresistance plasmids. *J Bacteriol* 180(17):4350-4359.

Fajardo-Cavazos, P. , Nicholson, W. L. (2016) Cultivation of *Staphylococcus epidermidis* in the human spaceflight environment leads to alterations in the frequency and spectrum of spontaneous rifampicin-resistance mutations in the *rpoB* Gene. *Front Microbiol* **7**, 999. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00999.

Garrett-Bakelman, F.E., Darshi, M., Green SJ, Gur, R.C., Lin, L., Macias, B.R., McKenna, M.J., … Turek, F,W. (2019). The NASA Twins Study: A multidimensional analysis of a year-long human spaceflight. *Science* 364(6436). pii: eaau8650. doi: 10.1126/science.aau8650.

Khanna, S., Tosh, P.K. (2014). A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clin Proc* 89(1):107-14. doi: 10.1016/j.mayocp.2013.10.011.

Kmeť, V. (2009). Hostiteľsko-mikrobiálne interakcie v tráviacom trakte zvierat a rezistencia *Escherichia coli* na antibiotiká. TribunEU, Brno, ČR, 97 s., ISBN:978-80-7399-554-6

Mehta, S.K., Laudenslager, M.L., Stowe, R.P., Crucian, B.E., Sams, C.F., Pierson, D.L. (2014). Multiple latent viruses reactivate in astronauts during space shuttle missions. *Brain Behav Immun* 41:210–217.

Mora, M,, Wink, L., Kögler, I., Mahnert, A., Rettberg, P., Schwendner, P., Demets, R., Cockell, C., Alekhova, T., Klingl, A., Krause, R., Zolotariof, A., Alexandrova, A., Moissl-Eichinger, C. (2019). Space station conditions are selective but do not alter microbial characteristics relevant to human health. *Nat Commun* 10(1):3990. doi: 10.1038/s41467-019-11682-z.

NASA (2012): Water: A chemical solution. https://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/benefits/Water.html

Nickerson, C,A,, Ott, C,M,, Wilson, J,W,, Ramamurthy, R,, Pierson, D,L. (2004). Microbial responses to microgravity and other low-shear environments. *Microbiol Mol Biol Rev* 68(2):345-361. doi: 10.1128/MMBR.68.2.345-361.2004

Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K.S., Manichanh, C., Nielsen, T., …Wang J. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464, 59–65. doi: 10.1038/nature08821.

Schiwon, K., Arends, K., Rogowski, K,M,, Fürch, S,, Prescha, K,, Sakinc, T,, Van Houdt, R,, Werner, G,, Grohmann, E. (2013). Comparison of antibiotic resistance, biofilm formation and conjugative transfer of *Staphylococcus* and *Enterococcus isolates* from International Space Station and antarctic research station Concordia. *Microb Ecol* 65(3):638-651. doi: 10.1007/s00248-013-0193-4

Šefčíková, Z., Bujňáková, D., Raček, Ľ., Kmeť, V., Mozeš, Š. (2011). Developmental changes in gut microbiota and enzyme activity predict obesity risk in rats arising from reduced nests. *Physiol Res* 60(2):337-346.

Sonnenfeld, G., Shearer, W.T. (2002).Immune function during space flight. *Nutrition* 18(10):899–903. doi: 10.1016/s0899-9007(02)00903-6

Urbaniak, C., Sielaff, A.C., Frey, K.G., Allen, J.E., Singh, N., Jaing, C., Wheeler, K., Venkateswaran, K. (2018). Detection of antimicrobial resistance genes associated with the International Space Station environmental surfaces. *Sci Rep* 8(1):814. doi: 10.1038/s41598-017-18506-4.

Venkateswaran , K., Vaishampayan, P,, Cisneros, J., Pierson, D.L. ,Rogers, S.O. (2014). International Space Station environmental microbiome – microbial inventories of ISS filter debris. *Appl Microbiol Biotechnol* 98(14), 6453–6466. doi:10.1007/s00253-014-5650-6.

Voorhies, A.A., Mark Ott, C., Mehta, S., Pierson, D.L., Crucian, B.E., Feiveson, A., Oubre, C.M., Torralba, M., Moncera, K., Zhang, Y., Zurek, E,, Lorenzi, H,A. (2019) Study of the impact of long-duration space missions at the International Space Station on the astronaut microbiome. *Sci Rep* 9(1):9911. doi: 10.1038/s41598-019-46303-8.

Vrancken, G,, Gregory, A.C., Huys, G.R.B., Faust, K., Raes, J. (2019). Synthetic ecology of the human gut microbiota. *Nat Rev Microbiol* 17(12):754-763. doi:

10.1038/s41579-019-0264-8.

Wilson, J,W,, Ott, C,M,, Höner zu Bentrup, K,, Ramamurthy, R,, Quick, L,, Porwollik, S,, Cheng, P., … Nickerson, C.A. (2007). Space flight alters bacterial gene expression and virulence and reveals a role for global regulator Hfq. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(41):16299-16304. https://doi.org/10.1073/pnas.0707155104

Yamaguchi, N., Roberts, M., Castro, S., Oubre, C., Makimura, K., Leys, N., … Nasu, M. (2014). Microbial monitoring of crewed habitats in space-current status and future perspectives. *Microbes and environments*, 29(3), 250–260. doi:10.1264/jsme2.me14031
Zwart S.R., Launius, R.D,, Coen, G.K,, Morgan ,J.L.L., Charles, J.B,, Smith, S.M. (2014). Body mass changes during long-duration spaceflight*. Aviat Space Environ Med* 85:897–904. **doi:**https://doi.org/10.3357/ASEM.3979.2014