

SBORNÍK PŘEDNÁŠEK
VI. SYMPOZIA
SPOLEČNOSTI PRO PROBIOTIKA A PREBIOTIKA

19.4.2011

**Kongresové centrum Ústřední vojenské nemocnice,
Praha 6 – Střešovice**



**Pediatric
pro praxi**

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE



PROGRAM
VI. SYMPOZIA
SPOLEČNOSTI PRO PROBIOTIKA A PREBIOTIKA
19.4.2011

Kongresové centrum Ústřední vojenské nemocnice, Praha 6 – Střešovice

8,45 – 10,20 **Úvod**

Zahájení

Předsednictvo: P. Frič, J. Nevoral

Probiotics – How do they act?

Schulze J.

Nuthetal/Germany

***Bifidobacterium bifidum* and experimental necrotizing enterocolitis**

Dvorak B.

*Department of Pediatrics and Department of Cell Biology & Anatomy,
the University of Arizona, Tucson, Arizona*

Cena SPP2011: M. Schwarzer

*Department of Immunology and Gnotobiology, Institute of Microbiology of the Academy
of Sciences of the Czech Republic, v. v. i., Novy Hradek, Czech Republic*

10,20 – 11,00 **Přestávka**

11,00 – 12,30

Předsednictvo: V. Rada, A. Španová

Hodnocení probiotických výrobků SPP

Rada V.¹, Ročková Š.¹, Bunešová V.¹, Vlková E.¹, Trosterová M.¹, Kmet' V.²

¹*Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, ČZU v Praze*

²*Ústav fyziologie živočichov SAV, Košice*

**Identifikace probiotických bakterií v doplňcích stravy a vaginálních tabletách
s využitím PCR**

Španová A.^{a,b}, Balogová P.^b, Kristová M.^b, Trachtová Š.^b, Vídeňská P.^a, Zovčáková M.^b,
Rittich B.^{a,b}

^a*Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Kotlářská 2, 611 37 Brno*

^b*Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Purkyňova 118, 612 00 Brno*

Identifikace bakterií pomocí MALDI MS

Šedo O.

Výzkumná skupina Proteomika – Core Facility, Mendelovo centrum genomiky a proteomiky rostlin, Středoevropský technologický institut (CEITEC), Masarykova Univerzita, Kamenice 5, 625 00 Brno

Charakterizace nových druhů laktobacilů a jiných bakterií mléčného kvašení z trávicího traktu savců a hmyzu

Killer^{1,2*}, J. Kopečný¹, J. Mrázek¹, I. Koppová¹, V. Rada², T. Kott³

¹*Ústav živočišné fyziologie a genetiky v.v.i., AV ČR, Václavská 1083, Praha 4 – Krč*

²*ČZU v Praze, Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Kamýcká 129, Prague 6 – Suchbátka*

³*Výzkumný ústav živočišné výroby v.v.i., Přátelství 815 Praha-Uhřetěves*

Využití magnetických nanočástic pro izolaci DNA z probiotických mléčných výrobků

Trachtová Š.¹, Španová A.^{1,2}, Kaman O.³, Pollert E.³, Rittich B.^{1,2}

¹*Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Purkyňova 464/118, 612 00 Brno*

²*Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Tvrdého 14, 602 00 Brno*

³*Fyzikální ústav AV ČR v.v.i., Cukrovarnická 10/112, 162 53 Praha 6*

Assessment of cell surface properties of two *Lactobacillus* species with distinct exopolysaccharide structure

Górska-Frączek S.^a, Sandström C.^b, Kenne L.^b, Rybka J.^a, Strus M.^c, Heczko P.^c, Gamian A.^{a,d}

^a*L. Hirschfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy of Sciences, Weigla 12, 53-114 Wrocław, Poland*

^b*Department of Chemistry, Swedish University of Agricultural Sciences, P. O. Box 7015, SE-750 07 Uppsala, Sweden*

^c*Chair of Microbiology, Jagiellonian University Medical College, Czysta 18, 31-121 Kraków, Poland*

^d*Department of Medical Biochemistry, Wrocław Medical University, Chalubińskiego 10, 50-368 Wrocław, Poland*

12,30 – 13,30

Oběd

13,30 – 15,15

Předsednictvo: H. Tlaskalová, P. Kohout

Doplňky stravy a alergie

Bělohávková S., Fuchs M.

Immuno-flow, s.r.o., Praha 9

Probiotika v prevenci atopické dermatitidy - je prokázán pozitivní účinek?

Nováková D.¹, Paulová M.², Burianová I.², Čapková Š.³

¹*Klinika nukleární medicíny a endokrinologie 2. LF UK a FN Motol*

²*Novorozenecké oddělení FTN Krč*

³*Dětské kožní oddělení 2. LF UK a FN Motol*

Probiotický syr a ľanové semeno ako potenciálne imunomodulátory

Mudroňová, D., Nemcová, R., Révajová, V., Pistl, J., Gancarčíková, S., Koščová, J., Buleca, V., Sciranková, L.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, SR, e-mail: mudronova@uvm.sk

Vplyv naturálnych látok na interakcie prospešných mikroorganizmov a patogénov tráviaceho traktu

Nemcová R., Mudroňová D., Gancarčíková S., Koščová J., Borovská D., Buleca V., Pistl J.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, SR, e-mail: nemcova@uvm.sk

Výskyt alarminu HMGB1 v tenkém střevě a plasmě gnotobiotických selat infikovaných střevními patogeny

Šplíchal I., Šplíchalová A., Chmelařová P., Trebichavský I.

Sektor imunologie a gnotobiologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Nový Hrádek

Experimentálna štúdia modulačného účinku probiotického kmeňa *L. plantarum* a bioaktívnych substancií na mikroflóru kolónu potkanov

Strojný L., Bomba A., Hijová E., Bertková I., Chmelárová A., Mojžišová G., Petrášová D., Koprovičová J.

Ústav experimentálnej medicíny, LF, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, SR

Orální podávání antigenů z *Parabacteroides distasonis* mírní rozvoj experimentálního střevního zánětu ovlivněním imunitní odpovědi a složení mikroflóry

Kverka M.¹, Zakostelská Z.¹, Klimešová K.¹, Sokol D.¹, Hudcovic T.², Hrnčíř T.², Rossmann P.¹, Mrázek J.³, Kopečný J.³, Verdú E.F.⁴, Tlaskalová-Hogenová H.¹.

¹*Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha a ²Nový Hrádek,*

³*Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i., Praha,*

⁴*Farncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University, Hamilton, ON, Canada*

PROBIOTICS – HOW DO THEY ACT?

Schulze J.

Nuthetal / Germany

Probiotics have to arrive alive and in a sufficient number on the target place of the gastrointestinal tract to exert a health benefit on the host (FAO/WHO, 2002). Normally probiotics are transient gut inhabitants, which could be detected within the gastrointestinal microbiota only during as well as a limited period after the end of consumption.

In case of the persistence in the host's gut probiotics are integrated living constituent parts of the gastrointestinal ecosystem and take part on the "cross talk". The mechanisms for the effects are quite different and poorly understood. Roughly speaking, the probiotic modes of action occur on three levels: 1) within the gut lumen by interaction with the complex gut microbiota, 2) on the gut barrier by interaction with mucus, epithelium and mucosal immune system, 3) beyond the gut in systemic immune system and both metabolic and other organs. This talk will give a small selection of these aspects.

The direct effects of probiotics on the other microorganisms of the ecosystem include the production of antimicrobial substances (e.g. short chain fatty acids, bacteriocins, antibiotics) the anti-adhesive effects by competitive exclusion between probiotics and pathogens as well as the anti-toxin effects by inhibition of toxin expression in pathogens.

Probiotics improve the protective functions of the gut barrier as a result of interactions with the intestinal epithelial cells of the host. Mechanisms behind are the stimulated expression of mucosal tight junction proteins and the induction of MUC3 gene expression with following increased mucin production by probiotics.

Furthermore probiotics influence the immune system of the host by metabolites, cell wall components and DNA. They modulate both the innate (e.g. defensin expression) and the adaptive (e.g. immune cells) immune system in a number of ways. The regulation of pro- and anti-inflammatory cytokine production is an important health aspect of the immune modulation.

It is important to note, that the mode of action demonstrated for one given probiotic strain – just as its efficacy – cannot be necessarily transferred to other probiotic organisms.

BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM
AND EXPERIMENTAL NECROTIZING ENTEROCOLITIS

Dvorak B.

*Department of Pediatrics and Department of Cell Biology & Anatomy,
the University of Arizona, Tucson, Arizona*

Neonatal necrotizing enterocolitis (NEC) is a major cause of morbidity and mortality in premature infants. Oral administration of probiotics has been suggested as a promising strategy for prevention of NEC. However, little is known about the mechanism(s) of probiotic-mediated protection against NEC. The aim of this project was to evaluate the effects of probiotic *Bifidobacterium bifidum* on the development of NEC, intestinal integrity, and epithelial homeostasis. The rat NEC model and intestinal epithelial cell line (IEC-6) were used to study molecular mechanisms of protection against intestinal mucosal injury.

Premature rats were divided into three groups: dam fed (DF), hand fed with formula (NEC), or hand fed with formula supplemented with 5×10^6 CFU of *B. bifidum* per day. All groups were exposed to asphyxia and cold stress to develop NEC. Intestinal injury, mucins and trefoil factor 3 (TFF3) production, cytokine levels, and composition of the tight (TJ) and adherens junctions (AJ) were evaluated in the terminal ileum. Furthermore, expression of intestinal Toll-like receptor-2 (TLR-2) and apoptotic regulators was evaluated in the rat NEC model and in IEC-6 cells.

Probiotic *B. bifidum* decreased the incidence and severity of NEC. Increased levels of IL-6, mucin-3, and Tff3 in the ileum of NEC rats were normalized in *B. bifidum* treated rats. Administration of *B. bifidum* normalized the expression and localization of TJ and AJ proteins in the ileum compared to animals with NEC. Treatment with *B. bifidum* increased expression of TLR-2, and Cox-2, and significantly reduced apoptosis in the intestinal epithelium of both *in vivo* and *in vitro* models. Experiments in IEC-6 cells showed a protective effect of *B. bifidum* against cytokine induced apoptosis and confirmed the anti-apoptotic role of activated TLR-2 and the increased expression of Cox-2.

In conclusion, administration of *Bifidobacterium bifidum* protects against NEC in the neonatal rat model. This protective effect is associated with reduction of inflammatory reaction in the ileum and improvement of intestinal integrity. The ability of *B. bifidum* to down regulate apoptosis in the rat NEC model and in IEC-6 cells suggests a molecular mechanism by which probiotics reduce mucosal injury.

HODNOCENÍ PROBIOTICKÝCH VÝROBKŮ SPP

Rada V.¹, Ročková Š.¹, Bunešová V.¹, Vlková E.¹, Trosterová M.¹, Kmet' V.²

¹Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Česká zemědělská univerzita v Praze

²Ústav fyziologie živočichů SAV, Košice.

Společnost pro probiotika a prebiotika již dva roky provádí testování výrobků na počty bifidobakterií, laktobacilů a dalších probiotických mikroorganismů. Testování probíhá na Katedře mikrobiologie, výživy a dietetiky České zemědělské univerzity v Praze (<http://kmvd.agrobiologie.cz/>). Nejprve je stanoven počet živých buněk v okamžiku uplynutí záruční doby a následně je příslušný probiotický kmen izolován a identifikován pomocí fenotypových a molekulárně-genetických metod. Výsledky jsou pravidelně zveřejňovány společně s metodikou stanovení, identifikace a charakterizace probiotických mikroorganismů (www.probiotika-prebiotika.cz). Testované výrobky zahrnují jogurty, další mléčné kysané výrobky a lyofilizované preparáty ve formě kapslí a sáčků. V podstatě všechny mléčné kysané nápoje obsahovaly deklarované množství *Lactobacillus casei*. Podobně v jogurtech bylo nalezeno dostatečně množství bifidobakterií. U lyofilizovaných preparátů se zdá být vhodnější forma sáčků, kde probiotické bakterie přežívají lépe než v želatinových kapslích. Úspěšně testovaným výrobkům uděluje Společnost pro probiotika a prebiotika své logo. Nejnověji je testováno selektivní stanovení *Bifidobacterium bifidum*. Tento druh je dominantním druhem u kojených novorozenců a je obecně považován za perspektivní probiotický mikroorganismus. Při selektivním stanovení *Bifidobacterium bifidum* je využívána schopnost tohoto druhu využívat mucin jako jediný zdroj uhlíku. Selektivnost média byla úspěšně vyzkoušena na sedmi probiotických lyofilizovaných preparátech.

IDENTIFIKACE PROBIOTICKÝCH BAKTÉRIÍ V DOPLŇCÍCH STRAVY A VAGINÁLNÍCH TABLETÁCH S VYUŽITÍM PCR

Španová A.^{a,b}, Balogová P.^b, Kristová M.^b, Trachtová Š.^b, Vídeňská P.^a, Zovčáková M.^b, Rittich B.^{a,b}

^a Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Kotlářská 2, 611 37 Brno

^b Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Purkyňova 118, 612 00 Brno

Probiotika nacházejí uplatnění v doplňcích stravy a farmakologických preparátech. Vedle kultivačních postupů průkazu (identifikace) probiotických bakterií lze použít i postupy založené na analýze DNA. Cílem práce bylo ověřit využití rodově a druhově specifických PCR při identifikaci probiotických bakterií v komplexních maticích doplňků stravy (10 výrobků) a vaginálních tablet (5 výrobků). Nejprve byl vypracován postup zpracování jednotlivých matic a přípravy hrubých lyzátů bakteriálních buněk v analyzovaných vzorcích. Z hrubých lyzátů buněk byla izolována DNA v kvalitě vhodné pro PCR pomocí neporézních magnetických poly(2-hydroxyethyl methakrylát-co-glycidyl methakrylát) P (HEMA-co-GMA) mikročastic pokrytých karboxylovými skupinami. Celková DNA, reversibilně navázaná na nosič, byla eluována do TE pufru a použita v PCR. Jako kontrola byla použita DNA izolovaná metodou fenolové extrakce. Pro identifikaci cílových mikroorganismů byla použita PCR s primery specifickými pro rody *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* a primery specifickými pro jednotlivé bakteriální druhy, deklarované ve výrobcích (*Lbc. acidophilus*, *Lbc. casei/paracasei*, *Lbc. rhamnosus*, *Lcb. plantarum*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *Lbc.delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lbc. gasseri*, *Streptococcus thermophilus*). U analyzovaných potravinových doplňků byla prokázána přítomnost bakterií deklarovaných rodů. Přítomnost deklarovaných druhů v některých výrobcích nebyla prokázána. Pravděpodobně je to způsobeno tím, že pro druhovou identifikaci nebyla u výrobců použita metoda PCR, ale biochemické metody, které vykazují shodu jen u 70% případů. Podobně tomu bylo i u vaginálních tablet. Shodná identifikace bakteriálních druhů byla prokázána u 1 výrobku. V ostatních tabletách nebyly některé druhy identifikovány nebo byly identifikovány další druhy, které nebyly ve výrobku deklarovány. Může to být způsobeno technologií výroby, kdy se při výrobě různých výrobků používá stejné zařízení. Druh *Lbc. acidophilus* se nepodařilo detekovat v žádné tabletě.

Klíčová slova: probiotika, doplňky stravy, vaginální tablety, identifikace, PCR

Tato práce byla podporována grantem 2B06053 MŠMT ČR a Výzkumným záměrem MSM 0021622415.

IDENTIFIKACE BAKTERIÍ POMOCÍ MALDI MS

Šedo O.

*Výzkumná skupina Proteomika – Core Facility,
Mendelovo centrum genomiky a proteomiky rostlin,
Středoevropský technologický institut (CEITEC),
Masarykova Univerzita, Kamenice 5, 625 00 Brno*

Hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice (MALDI MS, Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry) se během posledních let stala jednou ze základních metod užívaných v bakteriální taxonomii. Především rychlost provedení celé analýzy (řádově minuty) a schopnost rozlišovat bakteriální vzorky na úrovni druhu otevřely metodě MALDI MS cestu do klinických laboratoří, kde je v současnosti zaváděna jako spolehlivý nástroj pro rutinní identifikaci bakterií.

Cílem této studie bylo zhodnocení diskriminačních schopností metody s ohledem na její využití pro identifikaci potenciálně probiotických kmenů izolovaných z gastrointestinálního traktu a z mléčných výrobků. Pro tento účel byla vybudována databáze hmotnostních spekter 75 typových/referenčních kmenů laktobacilů, bifidobakterií, laktokoků a pediokoků z České sbírky mikroorganismů (CCM). Použitelnost této databáze byla testována na základě MALDI MS analýzy 49 netypových kmenů z CCM. Metoda poskytla nejednoznačný výsledek pouze u deseti z těchto kmenů, převážně zástupců geneticky příbuzných druhů (např. ze skupiny *Lactobacillus casei / paracasei / rhamnosus / zae*). Úspěšnost identifikace se v těchto případech podařilo výrazně zvýšit úpravami metody, založenými na změnách v postupu přípravy vzorku pro MALDI MS analýzu a odlišném bioinformatickém zpracování dat.

Metoda byla úspěšně aplikována na reálných systémech zahrnujících několik stovek izolátů z klinického materiálu a potravinářských produktů.

Práce byla podporována z projektů č. MSM0021622415, LC06034 a 2B08068.

CHARAKTERIZACE NOVÝCH DRUHŮ LAKTOBACILŮ A JINÝCH BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ Z TRÁVICÍHO TRAKTU SAVCŮ A HMYZU

Killer J.^{1,2}, Kopečný J.¹, Mrázek J.¹, Koppová I.¹, Rada V.², Kott T.³

¹Ústav živočišné fyziologie a genetiky v.v.i., AV ČR, Vídeňská 1083, Praha 4 - Krč

²Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, ČZU v Praze, Kamýcká 129, Praha 6 - Suchbátka

³Výzkumný ústav živočišné výroby v.v.i., Přátelství 815 Praha - Uhřetěves

Do skupiny probiotik, která jsou zjednodušeně definována jako „potravní doplňky obsahující přesně definované živé mikroorganismy mající prokazatelně pozitivní vliv na zdraví hostitele a zlepšující navíc využívání živin“, náleží především kmeny bifidobakterií, laktobacilů a jiných bakterií mléčného kvašení (druhy r. *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*), ale také nepatogenní druhy bacilů (např. *Bacillus coagulans*), dále nepatogenní *Escherichia coli*, *Propionibacterium freudenreichii* a eukaryota v podobě některých druhů kvasinek (*Saccharomyces boulardii*). Zdá se, že výzkum probiotik je v současné době zaměřen na již známé druhy především laktobacilů a bifidobakterií. Vzdělává tedy význam testování probiotických vlastností jiných druhů bifidobakterií a bakterií mléčného kvašení (dále BMK), stejně tak izolace dosud nepopsaných druhů potenciálně využitelných nejen v humánní medicíně, ale také v chovech hospodářských zvířat a v chovech hospodářsky významného hmyzu (včel a čmeláků).

Náš výzkum jsme zaměřili na izolaci bifidobakterií a BMK z trávicího traktu (dále jen TT) dosud málo prozkoumaných živočichů, tedy volně žijících hlodavců a hmyzu. Z trávicího traktu hlodavců (myš domácí a hraboš polní) se nám nepodařilo izolovat prostřednictvím selektivního mTPY agaru kmeny bifidobakterií, jen z TT potkana jsme izolovali a pomocí molekulárně-genetických metod identifikovali několik původně lidských kmenů bifidobakterií, *B. pseudocatenulatum* a *B. longum* ssp. *longum* (počet do 10⁶ KTJ/g výkalů). Oproti tomu jsme v TT všech volně žijících hlodavců našli laktobacily v počtech 10⁷-10⁸ KTJ/g, které byly prostřednictvím molekulárně-genetických metod identifikovány jako *L. johnsonii* a *L. reuteri*. Ovšem z TT myši domácí i hraboše polního jsme izolovali několik kmenů, jejichž homologie 16S rRNA genu (hlavního fylogenetického markeru v bakteriologii) s příbuznými druhy byla pouze ≤ 97,4% (mezi jednotlivými kmeny byla homologie 99,6-99,9%). Toto byla první indicie, že se jedná o nový druh laktobacila. Že se skutečně jedná o nový druh bylo potvrzeno sekvenací jiných fylogenetických markerů u kmenů z TT myši i hraboše. V případě markeru *pheS* (genu kódujícího alfa podjednotku fenylalanyl-tRNA syntázy) byla zjištěna nízká 85-88% homologie s příbuznými druhy r. *Lactobacillus*, obdobně nízké hodnoty homologie byly zjištěny také u ostatních fylogenetických markerů, a to u *atpA* genu (kódujícího alfa podjednotku ATP syntázy), *rpoA* genu (kódujícího alfa podjednotku RNA polymerázy) či *hsp60* genu (kódujícího „heat shock protein“ o velikosti 60 kDA). Odlišnost kmenů od příbuzných typových druhů byla potvrzena také pomocí fenotypových charakteristik (biochemických testů). Pro nový druh jsme

navrhli pojmenování *Lactobacillus muridarum* sp. nov. podle latinského „*muridae*“-čeleď myšovití.

Z TT vosy obecné jsme paradoxně pomocí selektivního média navrženého pro bifidobakterie (mTPY) izolovali kmeny kokovitých bakterií, jejichž sekvence 16S rRNA se shodovala pouze z 95,2% s typovým kmenem *Vagococcus salmoninarum*. Že se jedná o nový druh nepočteného rodu *Vagococcus* (náležejícího mezi BMK) jsme potvrdili podobně jako v předchozím případě sekvenací stejných fylogenetických markerů, které se používají nejen v systematice laktobacilů (*atpA*, *pheS*, *rpoA*, *hsp60*), ale také v systematice r. *Enterococcus*, který je příbuzný r. *Vagococcus*. U jednotlivých fylogenetických markerů jsme zjistili velmi nízkou 76-83% homologii pouze s některými druhy enterokoků, neboť autoři popisující nové druhy vagokoků sekvence těchto markerů dosud nepoužili. Pro tento nový druh navrhuje pojmenování *Vagococcus entomophilum* sp. nov., podle řeckého „*entomon*“-hmyz a „*philum*“-mající rádo, tedy mající zalíbení v hmyzu.

VYUŽITÍ MAGNETICKÝCH NANOČÁSTIC PRO IZOLACI DNA Z PROBIOTICKÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ

Trachtová Š.¹, Španová A.^{1,2}, Kaman O.³, Pollert E.³, Rittich B.^{1,2}

¹*Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Purkyňova 464/118, 612 00 Brno*

²*Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Tvrdého 14, 602 00 Brno*

³*Fyzikální ústav AV ČR v.v.i., Cukrovarnická 10/112, 162 53 Praha 6*

Magnetické separace představují moderní metodu urychlující a usnadňující separaci a purifikaci DNA v kvalitě vhodné pro použití jako matrice v amplifikačních metodách. Tento způsob separace je výhodný zejména při práci s komplexními či heterogenními systémy.

Nanočástice manganatého peroskvitu $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$, vzhledem ke svým vlastnostem, jsou vhodné pro izolaci nukleových kyselin. Cílem práce bylo ověřit použití uvedených nanočástic pro izolaci DNA z probiotických mléčných výrobků a doplňků stravy. Reverzibilní adsorpce DNA byla prováděna v prostředí dvoufázového vodného systému obsahujícího různé množství PEG 6000 a NaCl. Kvalita eluované DNA byla ověřena v PCR s primery specifickými pro doménu *Bacteria* a rod *Lactobacillus*. Vyvinutý postup byl použit pro izolaci DNA z probiotických mléčných výrobků s následnou identifikací pomocí PCR.

Dále byl studován vliv nanočástic manganatého peroskvitu $\text{La}_{0.75}\text{Sr}_{0.25}\text{MnO}_3$ na PCR v reálném čase. Pro stanovení vlivu magnetických nosičů na účinnost amplifikace DNA v PCR byla použita směs DNA standardů a známého objemu nanočástic v porovnání s DNA standardy bez částic. Bylo prokázáno, že nosič neinterferuje v PCR.

Keywords: probiotické mléčné výrobky, magnetické nanočástice, reversibilní adsorpce DNA, polymerázová řetězová reakce

**ASSESSMENT OF CELL SURFACE PROPERTIES
OF TWO *LACTOBACILLUS* SPECIES
WITH DISTINCT EXOPOLYSACCHARIDE STRUCTURE**

Górska-Frączek S.^a, Sandström C.^b, Kenne L.^b, Rybka J.^a, Strus M.^c, Heczko P.^c, Gamian A.^{a,d}

^a*L. Hirsfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy,
Polish Academy of Sciences, Weigla 12, 53-114 Wrocław, Poland;*

^b*Department of Chemistry, Swedish Univ. of Agricultural Sciences,
P. O. Box 7015, SE-750 07 Uppsala, Sweden*

^c*Chair of Microbiology, Jagiellonian Univ. Medical College,
Czysta 18, 31-121 Kraków, Poland*

^d*Department of Medical Biochemistry, Wrocław Medical University,
Chalubińskiego 10, 50-368 Wrocław, Poland*

Lactobacilli produce a broad range of extracellular polysaccharide (EPS). It's a term that refers to three types of secreted polysaccharides – capsular (CPS), loosely unattached material (further referred to as EPS) and slime polysaccharide. In view of structure EPS form lactobacilli can be subdivided into two groups: homopolysaccharides (HoPS) and heteropolysaccharide (HePS). Bacteria produce these biopolymers through the activity of extracellular glycosyltransferases. It has been shown that the exopolysaccharides from LAB change the adhesion of pathogenic bacteria to intestinal mucus altering the host's gut microflora (Voravuthikunchai et al. 2006, Vesterlund et al. 2006). Therefore, there is much interest in understanding how the structure and 3D-shape of EPSs influence their ability to inhabit such environments. There are also a growing number of publications reporting on the use of purified exopolysaccharides as immunostimulating substances in experimental therapy (Vinderola et al. 2006, Cinquin et al. 2006).

In the present work we report the structure of the neutral exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strain KL37B isolated from the feces of a healthy human newborn a few days after delivery. This strain was isolated from the feces of a newborn in a coaggregating cluster of four strains, namely KL37A–D (Strus et al. 2001). Strains KL37A, C and D were found to be similar and appeared to have the same exopolysaccharide. The representative one, KL37C, was selected previously for studies of the exopolysaccharide structure and surface properties (Strus et al. 2001, Lipiński et al. 2003). The strain KL37B appeared to be a different entity and its surface properties and EPS structure are subjects of this presentation.

Voravuthikunchai SP, Bilasoi S, Supamala O. 2006. *Anaerobe*, 12: 221–226

Vesterlund S, Karp M, Salminen S, Ouwehand AC. 2006. *Microbiology*, 152:1819–1826

Vinderola G, Perdigon G, Duarte J, Thangavel D, Farnworth E, Matar C. 2006. *Immunobiology*, 211:149–156.

Cinquin C, Le Blay G, Fliss I, Lacroix CFEMS. 2006. *Microbiol. Ecol.*, 57:337–339.

Strus M, Marewicz E, Kukla G, Rurańska-Smutnicka D, Przondo-Mordarska A, Heczko BP. 2001. *Microbial Ecol Health Dis.*, 13:240–245

Lipiński T, Jones C, Lemercinier X, Korzeniowska-Kowal A, Strus M, Rybka J, Gamian A, Heczko PB. 2003. *Carbohydr Res.*, 338:605–9

DOPLŇKY STRAVY A ALERGIE

Bělohávková S., Fuchs M.

Immuno-flow, s.r.o., Praha 9

Doplňek stravy je potravina, jejímž účelem je doplňovat běžnou stravu a která je koncentrovaným zdrojem vitaminů a minerálních látek nebo dalších látek s nutričním nebo fyziologickým účinkem. V aktuálně platné legislativě, týkající se jejich označování a použití, je jasně stanoveno, že doplňkům stravy nesmí být přisuzovány vlastnosti týkající se prevence, léčby nebo vyléčení lidských onemocnění. Přes tato omezení jsou doplňky stravy svými výrobci a prodejci velmi hojně doporučovány v léčbě a prevenci řady stavů.

V oblasti terapie a prevence alergických onemocnění a ekzému patří mezi nejčastěji zmiňované a doporučované nejrůznější bylinné přípravky, řasy, glukany a výtažky z hub, extrakty z *Aloe vera*, obilné přípravky, dále pak bovinní kolostrum, výtažky z ryb, nukleotidy a vitamíny. Ze závěrů dosud publikovaných studií nicméně – nikoli překvapivě – nevyplývá, že by některé z uváděných preparátů skutečně mohly mít zásadní vliv na vznik nebo průběh alergických onemocnění, snad s výjimkou některých bylin a glukanů. Přesto jsou našimi pacienty používány ve velmi hojné míře a rodiny nemocných do jejich koupě investují až nesmyslné částky. Kromě toho, že většina těchto doplňků stravy nepomáhá, mohou jednoznačně i škodit, například v situaci podávání kozího mléka jako náhrady u alergie na bílkoviny kravského mléka, dále pak možným vyvoláním senzibilizace, přímým toxickým účinkem nebo interakcemi s podávanými léky.

Skupinou doplňků stravy, která se jeví být v prevenci a léčbě alergických onemocnění relativně slibnou, jsou probiotika a zejména prebiotika. V současné době není podávání pre- nebo pro-biotik jako skupiny součástí žádných mezinárodních doporučení pro výživu 1. roku života s cílem snížit výskyt alergických onemocnění. Stejně tak není v současnosti považováno za vhodné doporučovat pre- nebo probiotika jako skupinu jako součást standardní terapie alergických onemocnění. Přesto existuje řada slibných výsledků studií, dle kterých se zdá, že některá prebiotika a probiotika mohou mít vliv na časnou manifestaci zejména atopického ekzému. V hodnocení možného efektu prebiotik a probiotik na výskyt alergických onemocnění je zcela zásadní, jaká probiotika nebo prebiotika byla použita, v jakých dávkách a s jakou frekvencí, je třeba hodnotit délku podávání, zda se jednalo o populaci donošených či nedonošených dětí, o děti s rizikem rozvoje atopie či nikoli a je třeba odlišovat také mezi typem prováděných studií. Důležitou otázkou je i čas, ve kterém je provedeno vyhodnocení, kdy v řadě případů původně slibný efekt na prevenci alergických onemocnění v časném věku není pozdějším přehodnocením jednoznačně potvrzen.

PROBIOTIKA V PREVENCI ATOPICKÉ DERMATITIDY – JE PROKÁZÁN POZITIVNÍ ÚČINEK?

Nováková D.¹, Paulová M.², Burianová I.², Čapková Š.³

¹*Klinika nukleární medicíny a endokrinologie 2. LF UK a FN Motol*

²*Novorozenecké oddělení FTN Krč*

³*Dětské kožní oddělení 2. LF UK a FN Motol*

Atopická dermatitida (AD) je nejčastější chronické zánětlivé kožní onemocnění v dětství. Klinicky je onemocnění charakterizováno jako suchá kůže a nezládnutelné svědění. Incidence AD v průmyslových zemích během posledních třech desetiletích neustále narůstá.

Hlavní příčina AD není ještě vyjasněna. Zdá se, že je výsledkem složitých interakcí mezi genetickými a environmentálními faktory, které vedou jednak k porušení epidermální diferenciace, poruše epidermální bariérové funkce a také k dysbalanci imunitního systému. Je zvažováno, že na manifestaci onemocnění se podílí absence expozice mikrobům v raném dětství (hygienická hypotéza).

Mezi environmentální faktory, které mohou ovlivnit AD, lze zahrnout i bakteriální podněty. Specifické mikrobiální kmeny (probiotika) se mohou podílet na prevenci i léčbě AD. Účinky probiotických bakterií zahrnují stabilizaci střevní bariéry, stimulaci produkce střevního IgA a modulaci specifické a nespecifické imunitní odpovědi na faktory životního prostředí jako jsou alergeny.

Autoři studií, které byly publikovány v posledním roce, i přes řadu pozitivních výsledků, dosažených pomocí probiotik jak v prevenci, tak i v léčbě AD, uzavírají často svá sdělení opatrným názorem, že účinek probiotik nebyl jednoznačně prokázán.

Náš názor je, že vzhledem k tomu, že atopická dermatitida je komplexní onemocnění, není možné dosáhnout v primární prevenci zamezení manifestace onemocnění a v sekundární prevenci projevům onemocnění. Dosažení alespoň částečných úspěchů je jistě velmi pozitivní výsledek.

Velkou výhodou léčby pomocí probiotik je fakt, že probiotika nemají žádné významné vedlejší účinky. Probiotika mají většinou garantován tzv. GRAS status (generally regarded as safe). U zdravých jedinců je translokace probiotik raritní, translokace je možná pouze u imunokompromitovaných pacientů.

PROBIOTICKÝ SYR A ĽANOVÉ SEMENO AKO POTENCIÁLNE IMUNOMODULÁTORY

Mudroňová D., Nemcová R., Révajová V., Pisl J., Gancarčíková S.,
Koščová J., Buleca V., Sciranková L.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, Slovenská republika

Tvrдый сыр sa javí ako veľmi dobrý nosič pre probiotické baktérie. Rovnako ako probiotiká aj polynenasýtené mastné kyseliny (PNMK) sú známe svojimi imunomodulačnými vlastnosťami. Z týchto dôvodov sme v experimente na prasatách sledovali vplyv aplikácie probiotického syra a ľanového semena ako zdroja omega-3 PNMK na imunitnú odpoveď. Pre experiment bolo použitých 88 klinicky zdravých prasiatok, ktoré boli rozdelené do 4 skupín. Od 10. dňa pred odstavom dostávali prasiatka v kontrolnej skupine kontrolný syr obsahujúci slnečnicový olej, v skupine L probiotický syr a slnečnicový olej, v skupine MK kontrolný syr a drvené ľanové semeno a v skupine LMK probiotický syr a drvené ľanové semeno. Z každej skupiny bolo náhodne vybraných 6 zvierat, u ktorých bola sledovaná celková a lokálna črevná celulárna imunitná odpoveď. V periférnej krvi a jejunálnych Peyerových plakoch (PP) bolo sledované zastúpenie subpopulácií lymfocytov. Celková imunitná odpoveď bola posudzovaná aj na základe fagocytárnej aktivity, oxidatívneho vzplanutia a proliferácie lymfocytov.

Kým v deň odstavu neboli zistené významné rozdiely v zastúpení jednotlivých populácií lymfocytov (CD45, CD4, CD8, CD3 and CD21) izolovaných z jejunálnych PP, na 7. deň po odstavu bolo zaznamenané významne vyššie percentuálne zastúpenie T-lymfocytov (CD3+, CD4+, CD8+) v L a MK skupinách v porovnaní s LMK skupinou ($p < 0,05 - 0,001$). Naopak, zastúpenie CD21+ bolo významne vyššie v LMK skupine v porovnaní so všetkými ostatnými skupinami ($p < 0,01 - 0,001$). V skupine MK na 7. a 21. deň po odstavu bola zaznamenaná významne znížená fagocytárna aktivita oproti kontrole. Oxidatívne vzplanutie fagocytov a proliferácia lymfocytov neboli významne ovplyvnené. Percentuálne zastúpenie CD3+ lymfocytov v LMK a L skupinách a CD21+ lymfocytov v LMK skupine bolo významne zvýšené na 7. deň po odstavu oproti hodnotám v deň odstavu. Pomer CD4:CD8 bol rovnako zvýšený v LMK a L skupinách. Na druhej strane, v kontrolnej skupine došlo k významnému zníženiu ako CD3+ a CD21+ lymfocytov, tak aj pomeru CD4:CD8 na 7. deň oproti odstavu. Ako vyplýva z uvedených výsledkov, zdá sa, že kombinácia ľanového semena a laktobacilov mala stimulačný vplyv predovšetkým na CD21+ lymfocyty.

Táto publikácia bola vytvorená realizáciou projektu SK0021 spolufinancovaného z finančného mechanizmu EHP, nórskeho finančného mechanizmu a štátneho rozpočtu SR a projektu „INFEKTZOON – Centrum excelentnosti pre nákazy zvierat a zoonózy“, ITMS kód: 26220120002, na základe podpory operačného programu Výskum a vývoj financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja

VPLYV NATURÁLNYCH LÁTOK NA INTERAKCIE PROSPEŠNÝCH MIKROORGANIZMOV A PATOGÉNOV TRÁVIACEHO TRAKTU

Nemcová R., Mudroňová D., Gancarčíková S., Koščová J., Borovská D., Buleca V., Pistl J.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, Slovenská republika

V celosvetovom meradle sa do popredia dostáva výskum a vývoj nových metód biotechnologického a naturálneho charakteru, ktoré svojím komplexným účinkom v maximálnej miere môžu zefektívniť prevenciu chorôb ľudí a zvierat prostredníctvom stabilizácie fyziologickej funkčnosti biologických bariér ekosystému tráviaceho traktu. Biologické bariéry tráviaceho traktu, medzi ktoré patrí aj autochtónna mikroflóra, predstavujú prvotnú ochranu organizmu pred negatívnymi vplyvmi prostredia a preto ich sofistikovanou moduláciou možno prispieť k zníženiu miery zdravotných rizík.

V modelovom experimente v gnotobiotických podmienkach sme študovali vplyv aplikácie ľanového oleja (zdroj PNMK) na interakcie *E. coli* O8:K88ab:H9 a *Lact. plantarum* – Bioceno1™ LP96 v črevnom trakte ciciakov, pričom sme sa zamerali na sledovanie vplyvu ľanového oleja na počty *Lact. plantarum* v čreve prasiat a na inhibičnú aktivitu *Lact. plantarum* voči adhezii *E. coli* na črevnú mukózu. V porovnaní so skupinou zvierat, ktorej bol aplikovaný samostatný *Lact. plantarum*, počty laktobacilov adherovaných na mukózu jejunu a ilea ako aj v črevnom obsahu boli signifikantne vyššie v skupine s prídavkom ľanového oleja ($p < 0.0001$). Medzi skupinové porovnanie počtov *E. coli* K88 adherovaných na črevnú mukózu jejunu a ilea poukázalo na ich signifikantné zníženie v skupine *Lact. plantarum* + ľanový olej ($p < 0.001$; $p < 0.05$). Získané výsledky naznačujú účasť PNMK ľanového oleja v mechanizme adhezii *Lact. plantarum* – Bioceno1™ LP96 na črevnú mukózu. Stimulačný efekt PNMK ľanového oleja na adhezii a počty *Lact. plantarum* mal za následok signifikantne vyššiu inhibičnú aktivitu *Lact. plantarum* voči adhezii *E. coli* O8:K88ab:H9 na črevnú mukózu gnotobiotických ciciakov.

V experimente v konvenčných podmienkach sme sledovali vplyv probiotických baktérií *Lactobacillus plantarum* – Bioceno1™ LP96 a *Lactobacillus fermentum* – Bioceno1™ LF99 a ľanového semena na počty vybraných baktérií GIT u odstavčiat. Zistili sme, že aplikácia laktobacilov a ľanového semena ako zdroja kyseliny alfa-linolénovej a vlákniny preukázala stabilizáciu rovnováhy črevnej mikroflóry u odstavčiat čo sa prejavilo pozitívnym ovplyvnením pomeru prospešných LAB ku koliformným baktériám počas sledovaného obdobia. Zatiaľ čo na tretí deň po odstave bol tento efekt preukázateľný v skupine zvierat, ktorým boli aplikované laktobacily, mikrobiologické vyšetrenie obsahu jejunu, ilea, kolóna, céka a trusu na siedmy deň po odstave poukázalo na signifikantné zvýšenie pomeru LAB: koliformné baktérie v skupine s ľanovým semenom a v kombinovanej skupine s ľanovým semenom a probiotickými laktobacilmi.

Táto publikácia bola vytvorená realizáciou projektu SK0021 spolufinancovaného z finančného mechanizmu EHP, nórskeho finančného mechanizmu a štátneho rozpočtu SR a projektu „INFEKTZOON – Centrum excelentnosti pre nákazy zvierat a zoonózy“, ITMS kód: 26220120002, na základe podpory operačného programu Výskum a vývoj financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

VÝSKYT ALARMINU HMGB1 V TENKÉM STŘEVĚ A PLASMĚ GNOTOBIOTICKÝCH SELAT INFIKOVANÝCH STŘEVNÍMI PATOGENY

Šplíchal I., Šplíchalová A., Chmelařová P., Trebichavský I.

Sektor imunologie a gnotobiologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Nový Hrádek

Exogenní molekulární struktury charakteristické pro patogeny/mikroorganismy (PAMP/MAMP) a endogenní alarminy patří do skupiny molekul, které jsou označovány jako molekuly související s poškozením (DAMP). Jsou rozlišovány fylogeneticky konzervovanými receptory (PRR). Alarmin high mobility group box 1 (HMGB1) je nezbytný pro správnou strukturu DNA a transkripci a nachází se ve všech jaderných buňkách. Mimo buňku může být uvolňovaný pasivně při poškození buněk nebo aktivně sekrecí stimulovanými buňkami. Význam jeho výskytu v séru nebo plasmě jako pozdního markeru sepse bývá často zpochybňován.

Jeden týden stará gnotobiotická selata byla perorálně infikována střevními bakteriálními patogeny *S. Typhimurium* nebo *E. coli* O55. Další skupina selat byla kolonizována probiotickou *E.coli* Nissle 1917. 24 hodin po infekci byly stanoveny transkripce HMGB1, interleukinu (IL) 8, faktoru nekrotizujícího nádory (TNF- α) a IL-10 v ileu a výskyt těchto cytokinů na úrovni proteinů v tenkém střevě a plasmě. Transkripce HMGB1 není na rozdíl od srovnávaných cytokinů indukovatelná infekcí. Infikovaná selata měla vysoké hodnoty HMGB1 ve střevě v souladu se stanovenými cytokiny a klinickým stavem selat (malátnost, nechutenství, průjem). Zvýšený nález cytokinů v plasmě infikovaných selat koreloval s jejich celkovým zdravotním stavem a závažností infekce.

Tato práce byla podporována granty MŠMT ME 915, GA ČR 523/07/0572 a institucionálním výzkumným záměrem MBÚ AV ČR, v.v.i. AV0Z50200510.

EXPERIMENTÁLNA ŠTÚDIA MODULAČNÉHO ÚČINKU PROBIOTICKÉHO KMEŇA *L. PLANTARUM* A BIOAKTÍVNYCH SUBSTANCIÍ NA MIKROFLÓRU KOLÓNU POTKANOV

Strojný L., Bomba A., Hijová E., Bertková I., Chmelárová A.,
Mojžišová G., Petrášová D., Koprovičová J.

Ústav experimentálnej medicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach

V našej štúdií sme sledovali vplyv probiotického kmeňa *L. plantarum* a bioaktívnych substancií-inulín obohatený o oligofruktózu, ľanový olej so zvýšeným obsahom n-3 polynenasýtených mastných kyselín na mikroflóru kolónu pri experimentálne vyvolanej karcinogéze potkanov. Na pokus sme použili 60 zvierat plemena Wistar, ktoré sme rozdelili do 5 skupín. Jednotlivé skupiny dostávali počas celého pokusu krmivo každý deň v nasledovnom zložení:

1. skupina kontrola K: krmivo s obsahom 10% slnečnicového oleja.
2. skupina PRO: krmivo s 10% obsahom slnečnicového oleja a *L. plantarum* 1×10^9 / ml.
3. skupina PRO-PRE: krmivo s 10% obsahom slnečnicového oleja obohatené o inulín a oligofruktózu v dávke 2% na kg krmiva a *L. plantarum* 1×10^9 /ml.
4. skupina PRO-O: krmivo s 10% obsahom slnečnicového oleja obohatené o ľanový olej v dávke 2% na kg krmiva a *L. plantarum* 1×10^9 /ml.

Dva týždne po započatí experimentu sme 2.-5. skupine podali injekčne 1,2 dimetylhidrazín v dávke 20 mg/1x týždenne, celkovo 2x. Pokus trval 8 týždňov. Pri analýzach sme sledovali efekt účinku *L. plantarum* a jeho kombinácií s inulínom a ľanovým olejom na stanovenie celkového počtu baktérií mliečneho kvasenia a koliformných mikroorganizmov. Súčasne sme v črevnom obsahu stanovovali hladiny aktivít bakteriálnych enzýmov a organických kyselín (octová, propionová a maslová). Dosiahnuté výsledky sme porovnávali oproti kontrolným skupinám zvierat.

Dosiahnuté výsledky:

Hodnoty pH obsahu kolónu boli v skupine PRO-PRE nesignifikantne nižšie oproti kontrole. Štatisticky významné zníženie hodnôt pH ($p < 0,001$) sme zistili v skupine PRO-O.

Mierny nárast celkového počtu baktérií mliečneho kvasenia sme zistili v pokusnej skupine PRO. Štatisticky významne ($p < 0,05$) hodnoty nárastu počtu baktérií mliečneho kvasenia sme zaznamenali v skupine PRO-PRE a PRO-O. Signifikantné zníženie ($p < 0,05$) počtu koliformných baktérií sme zistili v skupine PRO-PRE, PRO-O a PRO.

Signifikantne nízke hodnoty ($p < 0,001$) enzymatickej aktivity črevných enzýmov (β -glukuronidáza, β -glukozidáza, α -glukozidáza) sme zaznamenali v skupine PRO, PRO-PRE a PRO-O oproti kontrolnej skupine.

Hodnoty hladín organických kyselín boli u všetkých skupín nižšie oproti kontrole, ale hodnoty medzi skupinami poukázali na rozdiely. Najvyššie namerané hodnoty hladín kyseliny octovej, propionovej maslovej sme zistili v skupine PRO-O. Nižšie hodnoty boli v skupine PRO-PRE a PRO.

ORÁLNÍ PODÁVÁNÍ ANTIGENŮ Z *PARABACTEROIDES DISTASONIS* MÍRNÍ ROZVOJ EXPERIMENTÁLNÍHO STŘEVNÍHO ZÁNĚTU OVLIVNĚNÍM IMUNITNÍ ODPOVĚDI A SLOŽENÍ MIKROFLÓRY

Kverka M.¹, Zakostelská Z.¹, Klimešová K.¹, Sokol D.¹, Hudcovic T.², Hrnčář T.², Rossmann P.¹, Mrázek J.³, Kopečný J.³, Verdú E.F.⁴, Tlaskalová-Hogenová H.¹

¹*Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha a* ²*Nový Hrádek,*

³*Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i., Praha,*

⁴*Farncombe Family Digestive Health Research Inst., McMaster Univ., Hamilton, ON, Canada*

Komenzální bakterie jsou schopny měnit odpověď slizničního imunitního systému hostitele. V této práci ukazujeme, že orální podávání komponent střevního komenzála – *Parabacteroides distasonis* – myším kmene BALB/c, dokáže snížit tíži akutního i chronického experimentálního střevního zánětu indukovaného dextran sulfátem sodným (DSS). Membránová frakce *P. distasonis* (mPd) chránila před vzestupem lokální produkce prozánětlivých cytokinů v průběhu zánětu, indukovala produkci sérových protilátek namířených proti mPd a stabilizovala složení střevní mikroflóry. Tento ochranný efekt nebylo možné pozorovat u imunodeficitních SCID myší, což podtrhuje význam účasti adaptivní imunitní odpovědi. Naše výsledky naznačují, že komponenty izolované z komenzální bakterie *P. distasonis* by mohly být použitelné při vývoji nových terapeutických nástrojů pro léčbu chronických zánětlivých onemocnění, jakými jsou idiopatické střevní záněty. Podpořeno granty KJB500200904, S500200572 a 310/08/H077.

NEONATAL COLONIZATION OF MICE WITH PROBIOTIC BACTERIA: IMPACT ON SYSTEMIC SENSITIZATION TO AEROALLERGEN BET V 1

Schwarzer M.¹, Repa A.², Schabussova I.⁴, Šrůtková D.¹, Daniel C.³, Pot B.³, Štěpánková R.¹,
Hudcovic T.¹, Hrnčíř T.¹, Tlaskalová-Hogenová H.¹, Wiedermann U.⁴, Kozáková H.¹

¹*Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic,
Department of Immunology and Gnotobiology, Prague, Czech Republic*

²*University Children's Hospital Vienna, Department of Neonatology, Vienna, Austria*

³*Institute Pasteur de Lille, Center for Infection and Immunity of Lille, Lille, France*

⁴*Medical University of Vienna, Department of Specific Prophylaxis and Tropical Medicine,
Vienna, Austria*

Objectives:

It is generally accepted that administration of certain lactic acid bacteria strains is able to modulate the Th1/ Th2 bias towards non-allergic Th1/ Treg response after subsequent sensitization and that these properties are strictly strain specific.

Methods:

Recombinant *Lactobacillus plantarum* NCIMB8826 harboring plasmid pMEC181 with *Bet v 1* gene under lactatedehydrogenase promotor, control *Lactobacillus plantarum* harboring empty plasmid and *Bifidobacterium longum ssp. longum* RB25P were used. Ex-germ-free neonatally colonized mice were sensitized at 8 weeks of age with three injections of 1 µg Bet v 1/ Alum. Experiment was finished seven days after the last injection. Cytokine levels in spleen and mesenteric lymph nodes supernatants were measured as well as the specific Bet v 1 IgG1, IgG2a, IgA and IgE antibodies and total IgE in sera. Immunomodulatory effects of recombinant *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium longum ssp. longum* were tested *in vitro* on TLR2 and TLR4 transfected HEK293 cells and on mouse bone-marrow derived dendritic cells (BMDC).

Results:

- a) *In vivo*: Recombinant *Lactobacillus plantarum* induced Th1/ Treg bias upon systemic sensitization, whereas control *Lactobacillus plantarum* had no effect. *Bifidobacterium longum ssp. longum* induced clear Treg response bias with downregulation of Bet v 1 specific antibodies and cytokines.
- b) *In vitro*: *Bifidobacterium longum ssp. longum* and control *Lactobacillus plantarum* showed strong stimulation of TLR2, control *Lactobacillus plantarum* stimulated also TLR4. While control *Lactobacillus plantarum* induced strong cytokine production and maturation of BMDC, *Bifidobacterium longum ssp. longum* showed only moderate effect.

Conclusion:

We speculate that strong Th1 inducers like *Lactobacillus plantarum* are able to modulate the systemic sensitization *in vivo* only when administrated together with the allergen. On the other hand, moderately stimulating probiotics such as *Bifidobacterium longum ssp. longum* are able to suppress the sensitization in a different way by inducing Treg bias.

Název	SBORNÍK PŘEDNÁŠEK VI. SYMPOZIA SPOLEČNOSTI PRO PROBIOTIKA A PREBIOTIKA
Editor	prof. MUDr. Jiří Nevoral, CSc., prof. Ing. Vojtěch Rada, CSc.
Vydavatel	ČZU v Praze
Počet stran	23
Rok vydání	2011
Vydání	první
Počet výtisků	150
Tisk	PowerPrint
ISBN	978-80-213-2173-1

Za obsahovou a jazykovou úpravu příspěvků odpovídají autoři.