

SBORNÍK PŘEDNÁŠEK

VIII. SYMPOZIA

SPOLEČNOSTI PRO PROBIOTIKA A PREBIOTIKA

10.4.2013

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



ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

SBORNÍK PŘEDNÁŠEK

VIII. SYMPOZIA

SPOLEČNOSTI PRO PROBIOTIKA A PREBIOTIKA

10.4.2013

Kongresové centrum Ústřední vojenské nemocnice,

Praha 6- Střešovice



ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE



PROGRAM
VIII. SYMPOZIA SPOLEČNOSTI PRO PROBIOTIKA A PREBIOTIKA

10.4. 2013

Kongresové centrum Ústřední vojenské nemocnice

Praha 6 – Střešovice

Program:

7,45 Registrace

8,45 – 10,20

Zahájení

Předsednictvo: J. Nevoral, V. Rada

Prevention of necrotizing enterocolitis (NEC) – an evidence-based approach

Bührer C.

Dept of Neonatology, Charité University Medical Center, D-13344 Berlin, Germany

Novinky v legislativě

Příbylová E.

Ministerstvo zdravotnictví ČR

Cena SPP2013

Bunešová V.

Identifikace a charakterizace bifidobakterií izolovaných z mládřat savců

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, FAPPZ, ČZU v Praze

10,20 – 11,00 přestávka

Předsednictvo: H. Tlaskalová, P. Kohout

11,00 – 12,30

Hodnocení probiotických výrobků SPP

Rada V.¹, Ročková Š.¹, Bunešová V.¹, Vlková E.¹, Kmeť V.²

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

²*Ústav fyziologie živočichov SAV, Košice*

Typizácia baktérií viacrozmernou analýzou bielkovinového spektra

Kmeť V.

Ústav fyziologie živočichov SAV, Košice

Intranazální aplikace *Lactobacillus acidophilus* u dětí

Kabelka Z.¹, Kolešková D.¹, Krylová Z.¹, Šalaková A.², Dráb V.², Nyč O.³, Klemensová V.³

¹*ORL klinika 2.LF UK a FN Motol*

²*Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.*

³*Ústav lékařské mikrobiologie 2.LF UK a FN Motol*

Dynamika rastu vybraných kultur bakterií mléčného kysnutia v cereálnej matrici a ich vplyv na nádorové bunkové línie

Pelikánová J., Liptáková D., Valík L., Stančeková K., Krištúfková K.

Oddelenie výživy a hodnotenia potravín FCHPT STU v Bratislave

Different *in vitro* immunomodulatory properties of *Bifidobacterium longum* strains of human origin: correlation with their efficacy in prevention of ulcerative colitis in mouse model

Šrůtková D.¹, Schwarzer M.¹, Zákostelská Z.¹, Hudcovic T.¹, Dráb V.², Španová A.³, Rittich B.³, Kozáková H.¹

¹*Department of Immunology and Gnotobiology, Institute of Microbiology ASCR, v.v.i.*

²*Milcom, Co. Ltd., Dairy Research Institute, Tábor*

³*Faculty of Chemistry, University of Technology, Brno*

Vliv osídlení probiotickou vakcínou Colinfant New Born na výskyt alergie a zastoupení cytokinů v periferní krvi šestiletých dětí

Hrdý J.¹, Novotná O.¹, Kocourková I.², Vlachynská K.², Lodinová-Žádníková R.², Prokešová L.¹

¹*Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze*

²*Ústav pro péči o matku a dítě*

12,45 – 13,30 Oběd

Předsednictvo: A. Španová, V. Kmet'

13,30 – 15,30

Výběr nových probiotických kmenů rodu *Lactobacillus* pro použití v mléčných výrobcích

Španová A.¹, Dráb V.², Turková K.¹, Grillová L.³, Veber A.⁴, Kozáková H.⁴, Rittich B.¹

¹*VUT Brno, Fakulta chemická, Ústav potravinářské chemie a biotechnologie, Brno*

²*MILCOM, a.s. Výzkumný ústav mlékárenský, Tábor*

³*MU, Přírodovědecká fakulta, Brno*

⁴*MBÚ AV ČR, Oddělení imunologie a gnotobiologie, Nový Hrádek*

Bifidogenní účinky směsi maltodextrinů a galaktooligosacharidů

Ročková Š.¹, Rada V.¹, Vlková E.¹, Bunešová V.¹, Zelenka R.²

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

²*Humana GmbH, Herford, Germany*

Střevní mikrobiom u novorozenců a kojenců – nové informace z odborné literatury

Nováková D.¹, 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*

Vlastnosti probiotických bakterií

Erban V., Eichlerová E.

Výzkumný ústav potravinářský Praha, odd.Mikrobiologie a hygieny potravin

SYMPOZIUM JE PODPOROVÁNO ČLENY PORADNÍ KOMISE SPP - FIRMAMI:

Akacia Group, Ltd

ASP Czech, s.r.o.

Danone, a.s.

Ferring Pharmaceuticals CZ, s.r.o.

Hero Czech, s.r.o.

Nutricia ČR, a.s.

Rougier, s.r.o.

S&D Pharma CZ

Valosun, a.s.

PREVENTION OF NECROTIZING ENTEROCOLITIS (NEC) – AN EVIDENCE-BASED APPROACH

Bührer Ch.

*Dept of Neonatology, Charité University Medical Center, D-13344 Berlin, Germany,
christoph.buehrer@charite.de*

Necrotizing enterocolitis (NEC) is a devastating, often fatal disease affecting 3-8% of very low birth weight infants. Rates vary among centers, suggesting that subtle differences in daily practice might play a role. A more detailed look at the results of randomized controlled trials shows that there is no evidence for reduced rates of NEC \geq °II with slow feeding advancement, early trophic feeding, postnatal glucocorticoids, or arginine. Oral antibiotics, human donor milk and human milk-based fortifier apparently reduce rates of NEC but not mortality. There are only two interventions with a significant reduction of both NEC and mortality, fetal lung maturation and probiotics. Probiotics containing more than one strain are far more protective than single-strain probiotics. Fixed combinations of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium sp.* reduce NEC rates by more than 70% and mortality by up to 50%. Moreover, they have a good safety record also when administered to preterm infants to prevent NEC. While many questions remain, such as the optimum duration of probiotic administration, best definition of the target group, and the use of probiotics in very low birth weight infants having undergone abdominal surgery, probiotics have the potential to exert a major impact on the rates of NEC and possibly also mortality in very low birth weight infants.

HODNOCENÍ PROBIOTICKÝCH VÝROBKŮ SPOLEČNOSTÍ PRO PROBIOTIKA A PREBIOTIKA

Rada V., Ročková Š., Bunešová V., Vlková E., Killer J.

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

SPP (www.probiotika-prebiotika.cz) zahájila testování probiotických potravin a potravních doplňků v roce 2009. Jsou testovány bifidobakterie a dále také laktobacily v mléčných kysaných výrobcích a lyofilizovaných prášcích, přičemž je stanovován celkový počet živých buněk v průběhu expirační doby. Testování probíhá podle IDF standardů a s použitím dalších metod. Výrobky vesměs splňují normu (kysané mléčné výrobky), nebo množství deklarované na obalu (lyofilizované produkty). V některých lyofilizovaných preparátech však byly nalezeny počty živých buněk mírně nižší hodnoty uvedené na obalu. Kromě počtu živých buněk SPP provádí také izolaci čistých kultur a jejich identifikaci pomocí fenotypových a genotypových testů až na úroveň druhu, poddruhu a případně i kmene pomocí fingerprintových metod. V mléčných kysaných výrobcích je prakticky výhradně nalézán druh *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, zatímco v lyofilizovaných výrobcích bývají zastoupeny také druhy *B. longum*, *B. breve* a *B. bifidum*. Z laktobacilů bývají přítomny druhy *Lactobacillus acidophilus*, *L. rhamnosus* a *L. casei*.

SPP testuje také metody jak selektivně stanovit ostatní probiotické mikroorganismy jako jsou kvasinky (*Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces boulardii*), enterokoky, *Escherichia coli* (v ČR jsou známy preparáty Mutaflor a Coliinfant), *Bacillus* spp. a další mikroorganismy. U probiotických kvasinek (*S. boulardii*) je třeba vyřešit jednoduchou a spolehlivou metodu identifikace.

Všichni výrobci a distributoři probiotik se mohou obrátit na SPP s žádostí o test svého produktu. Je třeba připomenout, že testy probíhají nad rámec standardních metod a průběžně se zařazují nové metody pro stanovení množství živých buněk (např. RT-PCR, FISH, DGGE-PCR) a pro identifikaci druhů a kmenů (např. sekvence genů pro 16SrRNA a hsp60, MALDI-TOF). Případní zájemci také mohou kontaktovat přímo Laboratoř anaerobní mikrobiologie Katedry mikrobiologie, výživy a dietetiky (rada@af.czu.cz) na ČZU v Praze, kde se testování pro SPP provádí.

TYPIZÁCIA BAKTÉRIÍ VIACROZMERNOU ANALÝZOU BIELKOVINOVÉHO SPEKTRA

Kmeť V.

*Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Šoltésovej 4, 040 01 Košice,
email: kmetv@saske.sk*

Štandardnou metódou pre typizáciu baktérií je pulzná elektroforéza (PFGE), ktorá je však pracná a zdĺhavá. Porovnaním typizácie baktérií pomocou PFGE (DNA profil) a Maldi tof (16 S rRNA bielkovinový profil) sme zistili (Kmeť a kol. 2013), že na MSP (hlavné spektrum) dendrograme bielkovinového spektra sa signifikantne diferencovali jednotlivé pulzotypy baktérií podľa profilov ich bielkovinových frakcií. Metódou analýzy hlavných komponentov (PCA) baktérií toho istého druhu (model *K. pneumoniae*, *Str. agalactiae*, *B. animalis subsp. lactis*), ktoré v MSP dendrograme boli prakticky totožné, sme zistili ich jemnú rozdielnosť. PCA totiž po transformácii pôvodných premenných v MSP (celé spektrum bielkovín od 3000 do 15000 Da) a bez podstatnej straty informácie o ich variabilite, dokáže zistiť a vizualizovať aj tie najskrytejšie spektrálne rozdiely. Jemná typizácia baktérií pomocou PCA je využiteľná najmä pri izolácii fenotypicky podobných produkčných kmeňov z toho istého zdroja a tiež aj v epidemiológii pri sledovaní zdroja infekcie.

Práca bola podporená projektom Agentúry pre podporu výskumu a vývoja APVV 0009-10

INTRANAZÁLNÍ APLIKACE *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* U DĚTÍ

Kabelka Z.¹, Kolečková, D.¹, Krylová, Z.¹, Šalaková A.², Dráb V.², Nyč O.³, Klemensová V.³

ORL klinika 2.LF UK a FN Motol¹, Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.²,

Ústav lékařské mikrobiologie 2.LF UK a FN Motol³

Aplikace probiotik v prevenci a léčbě dysmikrobií je dlouhodobě studována. Aplikace na sliznici nosu a nosohltanu dosud nebyla publikována. Po vyzkoušení přípravku probiotika na dospělých dobrovolnících byla provedena aplikace u dětí. U 28 ze 30 dětí (0,5 - 13 let) s rozvíjejícím se zánětem horních cest dýchacích došlo k ústupu potíží, bez nutnosti nasadit antibiotika. U dvou dětí v iniciální fázi bakteriální infekce nebyl pozitivní účinek patrný. Nedošlo k žádné nežádoucí příhodě.

Kritéria zařazení do studie: děti s příznaky akutního zánětu horních cest dýchacích, ev. s příznaky šíření do středouší. Kritéria vyřazení: alergie na kravské mléko, poruchy imunity. Použitý přípravek: Lyofilizovaná kultura Laktoflora acidofilní (složená z kmenů laktobacilů *Lactobacillus helveticus* CCDM 98 a *Lactobacillus acidophilus* CCDM 151) uchovávané při 4°C v uzavřené dóze. Pro podávání se připraví čerstvý roztok bakteriální kultury – vytvořený vmícháním malé kávové lžičky (3,5 ml) lyofilizované kultury probiotika do 50 ml vody o teplotě 35°C po dobu 15-20 min. Nutnost nasazení antibiotika je hodnoceno jako neúspěch.

Podávání probiotik nepovažujeme za léčbu kauzální, přestože v mechanismu účinku se může projevovat jak přímé supresivní působení proti některým patogenům, tak i mechanismus kompetitivní. Pozitivní klinické účinky můžeme pozorovat především při včasném nasazení, tedy ve virové fázi infekce horních cest dýchacích.

Souběžně probíhající mikrobiologický rozbor prokázal velmi dobrou citlivost všech vzorků testovaných probiotických kultur na potencované amoxypenicilíny, které by byly při iv. podání možností prevence, nebo i lékem volby v případě raritní septické komplikace u imunokomprimovaných osob.

Práce je podporována grantem MZe QJ1210093 – Nové metody pro výrobu, kontrolu kvality a účinků probiotických potravin, účinek *Lactobacillus acidophilus* na zabránění rozvoje bakteriálních zánětů v horních dýchacích cestách.

DYNAMIKA RASTU VYBRANÝCH KULTÚR BAKTÉRIÍ MLIEČNEHO KYSNUTIA V CEREÁLNEJ MATRICI A ICH VPLYV NA NÁDOROVÉ BUNKOVÉ LÍNIE

Pelikánová J., Liptáková D., Valík L., Stančeková K., Krištúfková K.

Oddelenie výživy a hodnotenia potravín FCHPT STU v Bratislave

Cereálie boli a stále sú najdôležitejšou potravinovou plodinou. Sú ľahko dostupné, pestujú sa na viac ako 73% obrábanej pôdy a vyznačujú sa vysokým obsahom niektorých vitamínov, vlákniny s prebiotickou funkciou a minerálnych látok. Hoci sú deficitné na niektoré základné zložky, ako sú napr. esenciálne aminokyseliny, fermentácia týchto substrátov probiotikami môže predstavovať nový trend vo vývoji nových funkčných potravín vhodných pre ľudí trpiacich celiakiou.

Probiotiká majú vedecky dokázaný pozitívny vplyv na organizmus človeka. Okrem normalizácie mikroflóry, stimulácie imunitného systému a iných, sa dnes častejšie hovorí aj o protinádorovom účinku týchto mikroorganizmov. Preto sme sa v našej práci, okrem sledovania dynamiky rastu laktobacilov, zamerali na zhodnotenie cytotoxického efektu probiotík na nádorové bunky krčka maternice HeLa a hrubého čreva Caco-2.

Dynamiku rastu rodu *Lactobacillus spp.* sme sledovali v pseudocereálnych kašiach pripravených z pohánkovej múky, mlieka alebo vody, a sacharózy. Fermentácia prebiehala za anaeróbných podmienok pri 37°C a trvala 8 hodín. Následne bol hotový produkt uskladnený počas 3 týždňov pri 6°C, kedy sa pozorovalo prežívanie použitých laktobacilov. Takisto sme sledovali dynamiku rastu vybraných laktobacilov v tuhom lisovanom substráte, pripravenom z celých pohánkových zŕn, vody a sacharózy. Lisovaná pohánka bola fermentovaná pri 37°C po dobu 24 hodín a uskladnená 10 dní pri teplote 12°C.

Vo všeobecnosti boli všetky skúmané kmene schopné rásť v cereálnej matrici, či už vo forme kaše alebo lisovaného tuhého produktu, a udržiavať si svoje počty počas zrenia a chladiarenského skladovania. V priebehu fermentácie počty laktobacilov vzrástli o 2 až 3 log poriadky, pričom rádo dosiahli 10^8 KTJ/ml, resp. KTJ/g.

Inhibičný vplyv probiotík sme pozorovali po prídavku vybraných kmeňov laktobacilov k nádorovým bunkám po 24, 48 a 72 h pôsobenia pri 37°C a 5% CO₂. V prípade HeLa buniek sme zaznamenali mierny inhibičný účinok, čo by mohlo mať význam v prevencii ochorenia. Nádorové bunky z hrubého čreva boli citlivejšie na pôsobenie probiotík, ich pôsobenie sa prejavilo už po 24 h spoločnej inkubácie. Najúčinnjší kmeň *Lb. acidophilus* 145 pôsobil cytotoxicky na obe bunkové línie, s najvyšším percentom inhibície buniek HeLa 96% a Caco-2 buniek 95% v 72 h. Vo všeobecnosti laktobacily dosiahli najvyššie percentá inhibície v 48 h. V závislosti od kmeňa sa percento inhibície pohybovalo v rozmedzí od 7 až do 82%.

Práca bola podporená Agentúrou pre vedu a výskum APVV 0590-10.

DIFFERENT IN VITRO IMMUNOMODULATORY PROPERTIES OF *BIFIDOBACTERIUM LONGUM*
STRAINS OF HUMAN ORIGIN: CORRELATION WITH THEIR EFFICACY IN PREVENTION OF
ULCERATIVE COLITIS IN MOUSE MODEL

Šrůtková D.¹, Schwarzer M.¹, Zákostelská Z.¹, Hudcovic T.¹, Dráb V.², Španová A.³, Rittich B.³,
Kozáková H.¹

¹*Department of Immunology and Gnotobiology, Institute of Microbiology ASCR, v.v.i.*

²*Milcom, Co. Ltd., Dairy Research Institute, Tábor*

³*Faculty of Chemistry, University of Technology, Brno*

Background: Administration of probiotics has been suggested as a promising strategy for prevention of IBD. However, strict strain specificity of immunomodulatory properties advocates for careful selection and strain characterization.

Methods: Ten bifidobacterial healthy human isolates were chosen for their good survival in low pH and cholic salts milieu. Formalin inactivated bacteria were cultivated with spleen cells and cytokines were determined supernatants by ELISA. Two *B. longum* ssp. *longum* (B1) strains with different patterns of cytokine induction were further analyzed in vitro using bone marrow-derived dendritic cells (DC) and human embryonic kidney cells transfected by pattern recognition receptors. Further, strains were evaluated in mouse model of ulcerative colitis. Mice received *B. longum* strains or saline by intragastric gavage before treatment with 2.5% DSS solution. Macroscopic signs of intestinal inflammation, histological and immunohistochemical evaluation and cytokine production in MLN were determined.

Results: We found that cytokine induction in spleen cells by bifidobacteria is strain dependent. Strain B1 367 compared to strain B1 372 stimulated lower levels of IFN-gamma, TNF-alpha and IL-10 in naive splenocytes or DC; the induction of co-stimulatory molecules on DC was also less pronounced. Both strains engaged strongly TLR2 receptor but B1 372 signalization through NOD2 was stronger compared to B1 367. In DSS-model of ulcerative colitis, B1 367 strain reduced macroscopic and histological signs of intestinal inflammation and downregulated pro-inflammatory cytokines in MLN compared to the strain B1 372 or PBS-control. On the other hand, immunohistochemical evaluation of ZO-1 and occludin showed elevated amount of these proteins in colon of mice pretreated by the strain B1 367.

Conclusions: The in vitro less immunogenic strain B1 367 was able to protect from the development of DSS-colitis in mice contrary to the strain 372. Probiotic strains inducing less pronounced immune responses might be good candidates for IBD prevention/ treatment.

Supported by grant 303/09/0449 of the Science Foundation of the Czech Republic and by the European Regional Development Fund CZ.3.22/2.1.00/09.01574.

**VLIV OSÍDLENÍ PROBIOTICKOU VAKCÍNOU COLINFANT NEW BORN
NA VÝSKYT ALERGIE A ZASTOUPENÍ CYTOKINŮ V PERIFERNÍ KRVI ŠESTILETÝCH DĚTÍ**

Hrdý J.¹, Novotná O.¹, Kocourková I.², Vlachynská K.², Lodinová-Žádníková R.², Prokešová L.¹

¹*Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze*

²*Ústav pro péči o matku a dítě*

V předchozích pracích jsme zjistili, že časné osídlení novorozenců probiotickou vakcínou Colinfant New Born (*Escherichia coli* O83:K24:H31) významně snížilo výskyt alergických onemocnění po 10 a 20 letech od osídlení (R. Lodinová-Žádníková, 2000). Probiotika jsou známa svým prospěšným vlivem na imunitní systém hostitele, nicméně mechanismus jejich blahodárného působení není dosud zcela objasněn.

V rámci této studie jsme se zaměřili na sledování vlivu postnatálního osídlení probiotickou vakcínou Colinfant New Born na zastoupení vybraných cytokinů v periferní krvi osídlených šestiletých dětí. Sledovali jsme Th2 cytokiny (IL-4, IL-5, IL-6, IL-13), Th1 cytokiny (IFN-gama) a regulační cytokiny (IL-10, TGF-beta). Hodnoty cytokinů v periferní krvi šestiletých dětí byly vztaženy k výskytu alergického onemocnění u těchto dětí.

Počet alergických osídlených dětí alergických matek byl signifikantně nižší než počet alergických dětí ve skupině neosídlených dětí alergických matek. Výskyt alergie v skupině osídlených dětí alergických matek byl srovnatelný s incidencí alergických onemocnění ve skupině neosídlených dětí zdravých matek (dětí s relativně nízkým rizikem vzniku alergie). Při porovnání hladin cytokinů v periferní krvi osídlených dětí alergických matek a neosídlených dětí zdravých a alergických matek, jsme zjistili osídlených dětí rizikové skupiny obecný trend k normalizaci hladin cytokinů a jejich přiblížení k hladinám u skupiny s nízkým rizikem. Vliv osídlení probiotickou vakcínou se projevil odlišnými koncentracemi cytokinů v periferní krvi osídlených dětí alergických matek a neosídlených dětí alergických matek. Po rozdělení dětí pouze dle alergického onemocnění, jsme detekovali nižší hodnoty Th1 cytokinů (IFN-gama) a regulačních cytokinů (IL-10, TGF-beta) a naopak vyšší hladiny Th2 cytokinů (IL-4, IL-5 a IL-13) u alergické skupiny. Časné podání probiotické vakcíny Colinfant New Born signifikantně snižuje výskyt alergických onemocnění u osídlených dětí s vysokým rizikem vzniku alergie. Jedním z mechanismů, jak probiotická vakcína působí na imunitní systém osídlených dětí je změna cytokinového prostředí.

Tato práce vznikla za podpory GAUK259911, PRVOUK P25/LF1/2, UNCE 204017.

**VÝBĚR NOVÝCH PROBIOTICKÝCH KMENŮ RODU *LACTOBACILLUS*
PRO POUŽITÍ V MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH**

Španová A.¹, Dráb V.², Turková K.¹, Grillová L.³, Veber A.⁴, Kozáková H.⁴, Rittich B.¹

¹ VUT Brno, Fakulta chemická, Ústav potravinářské chemie a biotechnologie, Brno

² MILCOM, a.s. Výzkumný ústav mlékárenský, Tábor

³ MU, Přírodovědecká fakulta, Brno

⁴ MBÚ AV ČR, Oddělení imunologie a gnotobiologie, Nový Hrádek

Baktérie mléčného kvašení rodu *Lactobacillus* jsou používány v mnoha výrobcích jako probiotika. Vedle stávajících kmenů je pozornost zaměřena na hledání nových kmenů s probiotickými vlastnostmi. Zdrojem nových probiotických kmenů, využitelných v potravinách, je lidská stolice. V této práci bylo analyzováno 30 kmenů rodu *Lactobacillus*, izolovaných ze stolice zdravých, plně kojených dětí. Pro identifikaci a charakterizaci těchto kmenů byly použity biochemické metody, molekulárně biologické metody (genově a rodově specifické PCR, RAPD, rep-PCR). Všechny kmeny byly testovány vůči podmínkám gastrointestinálního traktu (tolerance vůči nízkému pH, solím žlučových kyselin) a dále na stabilitu a růst v mléce, produkci kyseliny mléčné v mléce a na další vlastnosti. Jako potencionální probiotika byly vybrány čtyři kmeny, které byly dále testovány na zvířecím modelu. Byl studován jejich vliv na imunitní systém pokusných myší. Jeden kmen se ukázal být imunomodulační. Naše pozornost byla dále zaměřena na vyhledávání genů kódujících probiotické vlastnosti. S využitím bioinformační analýzy byly navrženy primery pro skríníng 6 genů. Bylo prokázáno, že navržené primery amplifikující vybrané geny jsou druhově specifické.

Podpořeno grantem 303/09/0449.

BIFIDOGENNÍ ÚČINKY SMĚSI MALTODEXTRINŮ A GALAKTOOLIGOSACHARIDŮ

Ročková Š.¹, Rada V.¹, Vlková E.¹, Bunešová V.¹, Zelenka R.²

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

² *Humana GmbH, Herford, Germany*

Dva z nejlépe prostudovaných faktorů ovlivňujících střevní mikroflóru novorozenců jsou způsob porodu a způsob výživy. Děti vaginálně porozené a plně kojené mají nižší výskyt alergií a infekčních onemocnění, než děti porozené císařským řezem a krmené kojeneckou výživou. Mikroflóra plně kojeného novorozence je zastoupena zejména rodem *Bifidobacterium* a zástupci kmene Firmicutes. Oproti kojencům porozených císařským řezem a krmených kojeneckou výživou kde dominují rody *Clostridium*, *Bacteroides* a *Escherichia coli*. Bohatost a diversitu mikrobiálních druhů střevní mikroflóry je možné z části ovlivnit prebiotiky. Je však obtížné najít prebiotickou směs, která by selektivně podpořila pouze rody považované za prospěšné pro hostitele.

Prebiotický účinek směsi maltodextrinů a galaktooligosacharidů byl testován *in vitro* inkubací s fekálními vzorky a také *in vivo* podáním prebiotické směsi zdravým dobrovolníkům. Prebiotická směs (9 g GOS + 1 g maltodextrinů) byla podávána denně po dobu 5 dní. Před i po podání byly ve fekálních vzorkách kultivačně stanovené počty bakterií (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, gramnegativní a *E. coli*).

Po pěti dnech podávání směsi bylo pozorováno zvýšení počtu bifidobakterií a snížení gramnegativních bakterií a *E. coli*. Také došlo ke změně pH fekálních vzorků a poměru zastoupení těkavých mastných kyselin. Směs na bázi maltodextrinů a galaktooligosacharidů vykazovala po 5 dnech podávání specifické bifidogenní vlastnosti. Je důležitým faktorem, který podporuje růst bifidobakterií a inhibuje bakterie považované pro hostitele za potenciálně patogenní.

Poděkování: Humana GmbH a NAZV QJ1210093 za finanční podporu této práce

**STŘEVNÍ MIKROBIOM U NOVOROZENCŮ A KOJENCŮ –
NOVÉ INFORMACE Z ODBORNÉ LITERATURY**

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

¹*Klinika nukleární medicíny a endokrinologie 2. LF UK a FN Motol, ²Novorozenecké oddělení
FTN Krč, ³ Dětské kožní oddělení 2. LF UK a FN Motol*

V posledních desetiletích došlo k významnému pokroku v poznávání funkce imunitního systému. Není však stále objasněno proč v posledních dvaceti letech dochází k velkému nárůstu neinfekčních onemocnění. Mezi tato onemocnění patří různé alergické poruchy, autoimunitní a zánětlivá onemocnění.

Řada důkazů z oblasti klinické medicíny a biomedicínského výzkumu došla k závěru, že pandemie neinfekčních poruch imunity vzniká v důsledcích industrializace, která přináší znečištění prostředí. Je také spojena se změnou životního stylu i se změnou stravování. Výsledkem je změna bakteriálního osídlení organismu - mikrobiomu. Na této změně se podílí působení léčiv, hlavně léčba antibiotiky.

Mnoho publikací z posledního období popisuje oboustranné interakce střevního mikrobiomu a imunitního systému. Časný postnatální období je kritickým obdobím pro ustanovení správné funkce střeva a slizniční imunity. Je důležitým obdobím, které má velký význam pro dlouhodobé dopady na metabolismus.

Řada publikovaných prací byla věnována roli podávání probiotických bakterií během těhotenství a kojení, také probiotikům v ranné dětské výživě. Byl prokázán pozitivní vliv probiotik na snížení výskytu alergií, hlavně atopického ekzému.

Autorky podávají přehled aktuálních dostupných informací k této tématice.

VLASTNOSTI PROBIOTICKÝCH BAKTERIÍ

Erban V., Eichlerová E.

Výzkumný ústav potravinářský Praha, odd. Mikrobiologie a hygieny potravin

Radiová 7 PSČ 103 21 Praha 10

V tlustém střevu se vyskytuje několik set druhů mikroorganismů. Některé z nich mají pozitivní vliv na zdraví hostitele obecně nazývané probiotické, některé mají negativní vliv obecně nazývané patogenní bakterie jiné mohou mít neutrální vliv a jiné v pozitivní či negativní vliv v závislosti na jejich množství a stavu prostředí. Prostředí střevního lumen je ovlivňováno zejména potravou a metabolickými produkty ostatních mikroorganismů. Růst mikroorganismů v lumenu tlustého střeva je ovlivňován zejména rozpustnou vlákninou, která je nestravitelná – nemetabolizovatelná enzymy hostitelského organismu. Může však být využitelná degradativními enzymy probiotických mikroorganismů vyskytujících se v lumen tlustého střeva a tak podporovat jejich růst. Metabolické produkty některých probiotických mikroorganismů mohou být využívány dalšími mikroorganismy, které vytváří další typy metabolitů. Tím je rozšiřováno spektrum metabolických produktů, které jsou jako nízkomolekulární látky využívány hostitelem.

Jedním z významných produktů je kyselina máselná, produkovaná klostridii, která je využívána střevními goblet buňkami k tvorbě mukózy. Její hlavní význam spočívá v ochraně střevní stěny, jak bylo prokázáno například v práci „Protective effect of *Clostridium tyrobutyricum* in acute dextran sodium sulphate-induced colitis: differential regulation of tumour necrosis factor- α and interleukin-18 in BALB/c and severe combined immunodeficiency mice (Hudcovic a kol 2012).

Paradoxem je, že právě *Clostridium tyrobutyricum* je z hlediska potravinářského zcela nežádoucí mikroorganismus způsobující tzv. pozdní duření sýrů ementálského typu, způsobující značné ekonomické ztráty. Jeho fyziologické vlastnosti budou demonstrovány.

Jiným příkladem metabolického produktu heterofermentativních bakterií je manitol alkoholický cukr a je nositel několika benefičních efektů. Mannitol je znám jako ochrana organismů při jejich vystavení stresovým situacím. Má osmoprotektivní a antioxidační účinky a zvyšuje přežívání umírajících buněk.

Mannitol produkující bakterie mléčného kvašení (BMK) mohou být aplikovány do potravin, což může vést k fermentovaným produktům potravin se zvláštním nutričním významem.

Heterofermentativní BMK využívají cestu pro fermentaci hexos přes 6-fosfoglukonát. Za anaerobních podmínek vzniká z hexos equimolární množství kyseliny mléčné, etanolu, CO₂. Mannitol je konečným produktem redukce fruktosy, která je katalyzovaná enzymem mannitol dehydrogenasou.

Název **SBORNÍK PŘEDNÁŠEK VIII. SYMPOZIA
SPOLEČNOSTI PRO PROBIOTIKA A PREBIOTIKA**
Editor prof. MUDr. Jiří Nevoral, CSc., prof. Ing. Vojtěch Rada, CSc.
Vydavatel ČZU v Praze
Počet stran 17
Rok vydání 2013
Vydání první
Počet výtisků 150
Tisk PowerPrint
ISBN 978-80-213-2372-8

Za obsahovou a jazykovou úpravu příspěvků odpovídají autoři.