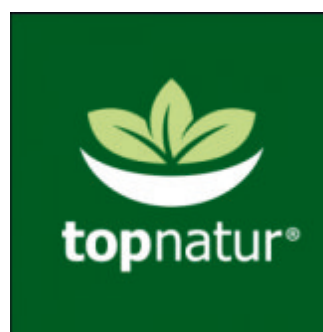


Název: Sborník přednášek 17. Symposia Společnosti pro probiotika a prebiotika
Editoři: doc. Ing. Šárka Musilová, Ph.D., RNDr. Hana Kozáková, CSc. a prof. Ing. Eva Vlková, Ph.D.
Vydavatel: ČZU v Praze
Počet stran: 28
Rok vydání: 2023
Vydání: první
Počet výtisků: 200
Tisk: Sprinter-Studio s.r.o.
ISBN: 978-80-213-3262-1

Za obsahovou a jazykovou úpravu příspěvků odpovídají autoři.

SYMPOZIUM JE PODPOROVÁNO ČLENY PORADNÍ KOMISE SPOLEČNOSTI PRO PROBIOTIKA
A PREBIOTIKA:





PROGRAM

17. SYMPOZIA SPOLEČNOSTI PRO PROBIOTIKA A PREBIOTIKA

4. 4. 2023

Aula České zemědělské univerzity v Praze

8:00 – 9:00 Registrace

9:00 – 9:05 Zahájení

Úvodní sekce (předsedá: Hana Kozáková)

9:05 – 9:45

Microbiotic programming – the influence of probiotic *Lactobacillus* strains on the course of allergic march and food allergy

Božena Cukrowska

Department of Pathomorphology, the Children's Memorial Health Institute, Warsaw

9:45 – 10:25

The Clinical Effectiveness of Probiotics and Physical Exercise on Gut Microbiota Modulation

Viktor Bielik

Katedra biologických a lékařských vied, Univerzita Komenského v Bratislave

10:25 – 10:45

Cena SPP pro mladého vědce za nejlepší publikaci 2022

Intervence cílené na střevní mikrobiom mohou ovlivnit metabolismus léčiv

Lenka Jourová

Ústav lékařské chemie a biochemie, Univerzita Palackého v Olomouci

Přestávka 10:45 – 11:15

Sekce mikrobiom (předsedá: Jiří Hrdý)

11:15 – 11:30

Vplyv pohybovo-nutričnej intervencie na črevnú mikrobiotu u vylicených detských onkologických pacientov

Miriám Tkačiková

Katedra biologických a lékařských vied, Univerzita Komenského v Bratislave

11:30 – 11:45

Vplyv redukčného programu na črevnú mikrobiotu a metabolické zdravie u pacientov s obezitou

Libuša Kubáňová

Katedra biologických a lékařských vied, Univerzita Komenského v Bratislave

11:45 – 12:00

Kloubní „výživa“ na bázi hyaluronanu a úloha mikrobiomu při jeho vstřebávání

Matěj Šimek

Contipro a.s., Dolní Dobrouč

Sekce buněčné a zvířecí modely (předsedá: Věra Neužil Bunešová)

12:00-12:15

Minimální mikrobiota – další krok ke standardizaci preklinických myších modelů

Tereza Novotná

Mikrobiologický ústav AV ČR, Laboratoř gnotobiologie, Nový Hrádek

12:15 – 12:30

Vplyv *Lactobacillus reuteri* B1/1 (*Limosilactobacillus reuteri*) a *Lactobacillus fermentum* 2i3 CCM 7158 na génovou expresiu prozápalových interleukínov na IPEC-J2 bunkovej línii

Viera Karaffová

Katedra morfológických disciplín, UVLF Košice

12:30 – 12:45

Vplyv *Lactobacillus reuteri* B1/1 (*Limosilactobacillus reuteri*) na vybrané parametre integrity čreva na CLAB bunkovej línii

Erik Hudec

Katedra morfológických disciplín, UVLF Košice

12:45 – 13:00

Schopnost probiotického kmene *Escherichia coli* O83:K24:H31 normalizovat pozměněné funkce neutrofilů u myši po antibiotické léčbě

Eliška Krčmářová

Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN v Praze

13:00 – 13:15

Exopolysacharid izolovaný z *Lactocaseibacillus rhamnosus* indukuje regulační imunitní odpověď a zmírňuje alergický zánět plic v myším modelu

Dagmar Šrůtková

Mikrobiologický ústav AV ČR, Laboratoř gnotobiologie, Nový Hrádek

Oběd 13:15 – 14:00

Sekce probiotika u zvířat, pre- a synbiotika (předseda: Jan Kopečný, Eva Vlková)

14:00 – 14:15

Host-Bacterial Symbiosis in Gnotobiotic Piglets

Igor Šplíchal

Mikrobiologický ústav AV ČR, Laboratoř gnotobiologie, Nový Hrádek

14:15 – 14:30

Dipeptidový Enterocín A/P produkovaný prospěšným kmeňom *Enterococcus faecium* EK13 – sľubné postbiotikum pre chov kráľikov

Monika Pogány Simonová

Centrum biovied SAV, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Košice

14:30 – 14:45

Mundtícin-like substancia z prospěšného kmeňa *Enterococcus mundtii* EM41/3 a jej aplikácia v chove koní plemena Norik Muránsky

Valentýna Focková

Centrum biovied SAV, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Košice

14:45 – 15:00

Ovčí sudovaný syr, zdroj autochtónnych, prospěšných, bakteriocín-produkujúcich baktérií a ich aplikačný potenciál

Andrea Lauková

Centrum biovied SAV, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Košice

15:00 – 15:15

Růstová schopnost *Listeria monocytogenes* na prebioticích

Tereza Kodešová

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, ČZU v Praze

15:15 – 15:30

Vývoj funkčních synbiotických fermentovaných výrobků s obsahem bakterií mléčného kvašení s produkcí exopolysacharidů

Olga Bazalová

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o, Tábor

15:30 – 15:45

Mikrobiom a příslib niterného poznání sebe sama a (více než) lidského metabolismu

Kateřina Kolářová

Sociologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha

15:45 – 15:55

Závěr: Eva Vlková

16:00

Exkurze do Potravinářského pavilonu ČZU

Microbiotic programming – the influence of probiotic *Lactobacillus* strains on the course of allergic march and food allergy

Bożena Cukrowska

Department of Pathomorphology, the Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland

In recent decades, an increase in the incidence of allergic diseases has been observed in highly developed societies, which may be the result of intestinal dysbiosis. The gut microbiota is formed in the first 1000 days of life, during which it programs the immature immune system of the child. Modulation of dysbiosis by administering probiotics may influence the allergic march i.e. the development and course of allergic diseases. We have studied the effect of a mixture of three probiotic strains: *Lactobacillus rhamnosus* LOCK 0900, *Lactobacillus rhamnosus* LOCK 0908 and *Lactobacillus casei* LOCK 0919 in children with food allergy to cow's milk proteins and atopic dermatitis (AD), i.e. with the first symptoms of allergic march. A randomized placebo controlled study involving children up to 2 years of age presented that the daily supply of this mixture for 3 months significantly improves the course of AD. A statistically significant reduction in the SCORAD index was mainly observed in the group with IgE-dependent allergy of compared to the control group (9.8 ± 16.4 vs 30.6 ± 9.4). Two-year follow-up showed that supplementation with LOCK strains supports the treatment of AD, regardless of the type of allergy. Colonization of germ-free (GF) mice with this mixture helped us to explain the positive effect in allergy management. We observed that supplementation of GF mice induced improvement of the intestinal barrier by strengthening the apical junctional complexes of enterocytes and restoring the structures of microfilaments extending into the terminal web. Colonized mice and sensitized to the Bet v 1 allergen showed reduced allergic sensitization to Bet v 1 in comparison to non-colonized animals. Furthermore, these findings were accompanied by the increased production of circulating and secretory IgA and the Th1/Th2 regulatory cytokine TGF- β . Thus, the mixture of three *Lactobacillus* strains showed potential for use in the prevention of increased gut permeability and the onset of allergy that was presented in children with food allergy and AD.

Keywords: allergic march; food allergy; probiotic lactobacilli; human and mouse studies

Acknowledgement: This research was financed by National Centre for Research and Development (project number N R12-0101-10/2011), Warsaw, Poland, and by the internal grant the Children's Memorial Health Institute (project number S163/2020), Warsaw, Poland.

The Clinical Effectiveness of Probiotics and Physical Exercise on Gut Microbiota Modulation

Viktor Bielik

*Department of Biological and Medical Science, Faculty of Physical Education and Sport,
Comenius University in Bratislava, Slovakia*

Physical activity that is systematic and consistent is linked to a wide range of health advantages. A healthy intestinal microbiome may be interestingly influenced by an active lifestyle, whereas sedentary behaviour and chronic diseases are associated with a shift in the bacterial makeup that is detrimental. Probiotics, physical activity, and athletic training have all been shown to have positive impacts on the microbial population in both human and animal models. It appears that less than one month of brief exercise training is inadequate to stimulate changes in human bacterial diversity. However, we verified the beneficial impact of a structured 7-week training program combined with the probiotics in dairy foods on gut microbiome diversity in a randomized controlled trial on collegiate athletes. Additionally, we have discovered beneficial impacts of various forms of physical activity (such as strength training, endurance exercise) in young and old athletes, obese people, and people with chronic diseases. A more balanced intestinal microbiota may result from athletic training with a distinctive structure and effective amount, regularity, and intensity of exercise. Furthermore, we believe that physical activity itself may be a readily accessible, low-cost modulator of gut microbiome with positive effects on general health.

Keywords: physical exercise; microbiota modulation; probiotics; metabolomics; butyrate

Acknowledgement: This research was funded by APVV-17-0099 and VEGA 1/0260/21 programs.

Cena SPP pro mladého vědce za nejlepší publikaci 2022

Intervence cílené na střevní mikrobiom mohou ovlivnit metabolismus léčiv

Lenka Jourová¹, Štefan Šatka¹, Veronika Frýbortová¹, Pavel Anzenbacher², Tomáš Hudcovic³, Sabine Gerbal-Chaloin⁴, Martine Daujat-Chavanieu⁴, Eva Anzenbacherová¹

¹Ústav lékařské chemie a biochemie a ²Ústav farmakologie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci; ³Laboratoř gnotobiologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Nový Hrádek; ⁴IRMB, University Montpellier, INSERM, CHU Montpellier, France

Modulace složení střevního mikrobiomu se zdá být slibnou terapeutickou strategií pro širokou škálu autoimunitních onemocnění. Tyto intervence cílené na mikrobiotu však mohou ovlivnit také produkci mikrobiálních metabolitů, které mají dopad daleko za hranicemi gastrointestinálního traktu (GIT). Pokud je narušená střevní bariéra, což je charakteristický znak celé řady zánětlivých onemocnění, jsou primárně játra vystavena bakteriálním složkám a metabolitům. Ty pak v játrech mohou ovlivňovat regulaci celé řady metabolických dějů, včetně metabolismu léčiv, a tím ovlivnit výsledek aplikované farmakoterapie. Jedním z nejstudovanějších mikrobiálních metabolitů je butyrát produkovaný bakteriální fermentací převážně z vlákniny v tlustém střevě. Zatímco účinek butyrátu v GIT byl intenzivně studován, zejména pro jeho protizánětlivé vlastnosti, přímý vliv butyrátu na játra zatím nebyl zcela objasněn.

Výsledky naší *in vivo* studie ukázaly, že profylaktický účinek premedikace butyrátem v našem myším modelu kolitidy byl doprovázen významnými změnami v expresi a enzymatické aktivitě vybraných jaterních cytochromů P450 (CYP). Především enzymy nejvýznamnější rodiny jaterních biotransformačních enzymů (CYP3A), metabolizující více než 50 % léků u lidí, mohou být velmi citlivé na zásahy cílené na střevní mikrobiom. S využitím bezmikrobních (GF) myší bylo prokázáno, že mikrobiom a mikrobiální metabolit butyrát hrají v těchto procesech významnou roli, jak při fyziologickém, tak zánětlivém stavu. Ukázalo se také, že zánětlivý proces snižuje enzymovou aktivitu CYP2A5 a profylaktické podávání butyrátu dokáže tento efekt zvrátit. To může mít klinický dopad na farmakokinetiku některých léčiv, včetně metronidazolu, který je užíván k léčbě střevních zánětů. S využitím buněčných linií jaterního karcinomu (např. HepG2) a primárních kultur lidských hepatocytů jsme dále zjistili, že butyrát může ovlivnit schopnost jaterních enzymů metabolizovat léčiva prostřednictvím interakce s nukleárním receptorem AhR.

Získané výsledky potvrzují, že mikrobiální metabolity mohou ovlivnit mnoho procesů nejen v GIT, ale také v játrech, včetně jaterního metabolismu léčiv. Vzhledem k rostoucí popularitě terapeutických intervencí zaměřených na střevní mikrobiom je zapotřebí dalších poznatků, které umožní zavedení individualizovaných terapeutických přístupů vedoucích k bezpečnější farmakoterapii.

Klíčová slova: střevní mikrobiom; butyrát; metabolismus léčiv; cytochromy P450

Poděkování: Tato práce vznikla za podpory Grantové agentury ČR (č. grantu 19-08294S).

Vplyv pohybovo-nutričnej intervencie na črevnú mikrobiotu u vyliečených detských onkologických pacientov

Miriam Tkačiková¹, Libuša Kubáňová^{1,2}, Ivan Hric^{2,3}, Sabína Smahová Sarvašová⁴, Alexandra Kolenová⁴, Viktor Bielik¹

¹Katedra biologických a lekárskeho vied, Fakulta telesnej výchovy a športu, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovensko; ²Biomedicínske centrum, Ústav klinického a translačného výskumu, SAV, v.v.i., Bratislava, Slovensko; ³Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovensko; ⁴Klinika detskej hematológie a onkológie, Univerzita Komenského a Národný ústav detských chorôb v Bratislave, Slovensko

Akútna gastrointestinálna toxicita a pretrvávajúce zmeny črevnej mikrobioty u pacientov po ukončení liečby vedú k výskumu zloženia črevnej mikrobioty v súvislosti s liečbou akútnej lymfoblastovej leukémie (ALL). Zmeny diverzity črevnej mikrobioty a zastúpenia rôznych druhov baktérií môžu preukázateľne pretrvávať niekoľko rokov po ukončení onkologickej liečby. Cieľom tejto štúdie bolo pozorovať zmeny črevnej mikrobioty u vyliečených detských onkologických pacientov pomocou zdravého stravovania, pohybovej aktivity a suplementácie probiotík.

Vyliečení detskí onkologickí pacienti (n = 16) boli vyberaní spomedzi pacientov liečených na ALL na Klinike detskej hematológie a onkológie NÚDCH a LF UK. Probandi absolvovali pohybovo-nutričný program 2-krát týždenne v trvaní 8 týždňov a denne suplementovali fermentovaný mliečny nápoj s kultúrami *Lactobacillus casei* CNCMI-1518. Črevná mikrobiota bola stanovená pomocou metódy multiparalelného metagenomického sekvenovania V3–V4 oblasti génu 16S rDNA zo vzoriek stolice.

Zaznamenali sme významný nárast hodnoty Shannon indexu (p = 0,04) vplyvom dvojmesačnej pohybovo-nutričnej intervencie. Okrem toho sme zaznamenali významné zvýšenie relatívnej početnosti rodu *Lactobacillus* po vypití mliečneho nápoja s probiotickými kultúrami (*Lactobacillus casei* CNCMI-1518).

Hlavnými zisteniami našej štúdie boli pozitívne zmeny črevnej mikrobioty po dvojmesačnej pohybovo-nutričnej intervencii u vyliečených detských onkologických pacientov. Predpokladáme, že realizácia intervencie môže mať pozitívny vplyv na črevnú mikrobiotu a celkový klinický stav u detských pacientov, ktorí prekonalí onkologické ochorenie.

Kľúčové slová: detská onkológia; nutrično-pohybová intervencia; črevná mikrobiota; pohybová aktivita; probiotické baktérie

Podakovanie: Táto štúdia bola financovaná grantom VEGA č. 1/0260/21 (VB) a grantom s č. APVV-17-0099 (VB).

Vplyv redukčného programu na črevnú mikrobiotu a metabolické zdravie u pacientov s obezitou

Libuša Kubáňová^{1,2}, Adela Penesová², Ivan Hric^{2,3}, Miriam Tkačiková¹, Eva Baranovičová⁴, Viktor Bielik¹

¹Katedra biologických a lekárskeho vied, Fakulta telesnej výchovy a športu, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovensko; ²Biomedicínske centrum, Ústav klinického a translačného výskumu, SAV, v.v.i., Bratislava, Slovensko; ³Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovensko; ⁴Biomedicínske centrum Martin, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin, Slovensko

Obezita je celosvetový pandemický problém a vedecké štúdie dokazujú, že jej najúčinnější neinvazívnou liečbou je zmena životného štýlu. Redukčný program dokáže vyvolať okrem zmien v telesnom zložení, či krvných parametroch aj zmeny v zložení črevnej mikrobioty. Navyše sú pri liečbe obezity dokázané priaznivé účinky rôznych probiotických črevných baktérií. Cieľom tejto štúdie bolo preto zistiť, či dokáže 3-mesačný redukčný program ovplyvniť zloženie črevnej mikrobioty a metabolické zdravie u pacientov s obezitou.

Uskutočnili sme randomizovanú kontrolovanú štúdiu na 23 probandoch (BMI \geq 30 kg/m²). Dvanásť účastníkov absolvovalo 3-mesačný kombinovaný nutrično-pohybový program 2-krát týždenne (RP) a jedenásť účastníkov tvorilo kontroly. Črevná mikrobiota bola stanovená zo vzoriek stolice, pomocou metódy multiparalelného metagenomického sekvenovania V3–V4 regiónov génu 16S rDNA. Biochemické parametre z krvného séra boli analyzované v certifikovanom nemocničnom laboratóriu.

V skupine RP sme pozorovali signifikantný pokles sérovej koncentrácie glukózy, kyseliny močovej a pečenej enzýmov (AST, ALT, GMT). Ďalej sme zaznamenali signifikantný nárast relatívneho zastúpenia baktérie *Akkermansia muciniphila*. *A. muciniphila* nie je len kľúčovým biomarkerom, indikujúcim zdravý črevný mikrobióm, ale takisto má obrovský potenciál stať sa novým probiotikom, vzhľadom na jej metabolické výhody v rôznych klinických oblastiach. V našej štúdiu sme navyše zaznamenali významnú inverznú koreláciu medzi touto baktériou a telesnou hmotnosťou, BMI, telesným tukom, obvodom pása a bokov a významnú pozitívnu koreláciu s Chol/HLD a LDL/HDL indexom. Okrem toho sme u RP pozorovali signifikantný nárast relatívneho zastúpenia prospešných baktérií (napr. *Muribaculum intestinale*, *Parabacteroides merdae*, *Phocaeicola vulgatus*, *Alistipes finegoldii*) a signifikantný pokles relatívneho zastúpenia patogénnych baktérií (napr. *Erysipelatoclostridium ramosum*, *Ruminococcus gnavus*).

Hlavnými zisteniami našej štúdie boli pozitívne zmeny črevnej mikrobioty, telesného zloženia a metabolických parametroch po 3-mesačnom redukčnom programe u pacientov s obezitou. Taktiež sme dokázali, že aj krátka 12 týždňová nutrično-pohybová intervencia bez priameho užívania probiotík je účinná na stimuláciu zmien v črevných baktériách, spojených s probiotickými účinkami.

Kľúčové slová: obezita; črevný mikrobióm; nutrično-pohybový program; probiotické baktérie; *Akkermansia muciniphila*

Podakovanie: Táto štúdia bola financovaná grantom VEGA č. 1/0260/21 (VB) a grantom s č. APVV-17-0099 (VB).

Kloubní „výživa“ na bázi hyaluronanu a úloha mikrobiomu při jeho vstřebávání

Matěj Šimek¹, Kristýna Turková^{2,3}, Martin Schwarzer⁴, Sofia Chatzigeorgiou¹, Martin Šindelář^{3,5}, Kristina Nešporová¹, Lukáš Kubala^{2,3,5}, Vladimír Velebný¹

¹Contipro a.s., Dolní Dobrouč; ²Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně; ³Biofyzikální ústav AV ČR, v.v.i., Brno; ⁴Laboratoř gnotobiologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Nový Hrádek; ⁵Ústav experimentální biologie, Masarykova univerzita, Brno

Hyaluronan je součástí řady přípravků, které mají chránit a vyživovat pojivové tkáně (klouby, kůže). Ačkoliv se tyto přípravky používají více než 20 let a řada klinických studií prokázala jejich účinnost ve snížení bolestivosti kloubů a zvýšení hydratace pokožky, přesvědčivé stanovení biodostupnosti a vysvětlení mechanismu působení nebylo doposud publikováno. Hyaluronan je nevětvený polysacharid s molekulovou hmotností až 8 MDa, který může být metabolizován, jak buňkami lidského těla, tak některými bakteriemi. Z důvodu vysoké molekulové hmotnosti hyaluronanu se dá předpokládat, že do organismu nebude vstřebáván ve své nativní formě a jeho biodostupnost bude ovlivněna i činností střevní mikroflóry.

Srovnávací farmakokinetická studie na konvenčních a bezmikrobních zvířatech ukázala, že u konvenčních zvířat odpovídá vstřebatelnost hyaluronanu 0.2% aplikované dávky, zatímco u bezmikrobních zvířat byla vstřebatelnost nulová. Pomocí unikátní metody ¹³C-nezářivého izotopového značení a metabolomické LC-MS analýzy byly identifikovány bakteriální metabolity hyaluronanu vznikající ve střevě. Jednalo se o nenasycené oligosacharidy hyaluronanu, krátké mastné kyseliny, UDP-monosacharidy a další metabolity sacharidového metabolismu. Analýza krve a moči pak ukázala, že z bakteriálních metabolitů hyaluronanu jsou pouze krátké mastné kyseliny a nenasycené oligosacharidy hyaluronanu dostupné organismu hostitele.

Pro identifikaci bakterií, které jsou zodpovědné za metabolizaci hyaluronanu ve střevě byly provedeny kultivace jednotlivých bakterií z typické myší bakteriální směsi OMM12 s ¹³C-hyaluronanem a bylo zjištěno, že pouze bakterie *Bacteroides caecimuris* je schopná metabolizovat hyaluronan. Vliv hyaluronanu na modulaci střevního mikrobiomu byl pak testován během dvoutýdenní studie na myším modelu s následnou sekvenační analýzou. Suplementace hyaluronanem měla za následek vyšší zastoupení bakterií rodu *Bacteroides* a *Enterococcus*, tedy bakterií schopných metabolizace hyaluronanu.

Naše výsledky ukazují, že pro vstřebávání perorálně podaného hyaluronanu je činnost střevní mikroflóry klíčová. Avšak přestože střevní mikrobiom významně přispívá k vstřebatelnosti hyaluronanu, biodostupnost hyaluronanu do kloubů a kůže je velmi omezená. Terapeutický účinek na klouby a kůži tak je spíše, než přímým účinkem hyaluronanu v distálních tkáních dán regulační funkcí hyaluronanu nebo jeho bakteriálních metabolitů na některé typy buněk. Suplementace hyaluronanem rovněž přispívá k růstu komenzálních bakterií, které rovněž mohou mít pozitivní efekt na organismus hostitele a přispívat k terapeutickému účinku hyaluronanu.

Klíčová slova: hyaluronan; mikrobiota; bacteroides; metabolom; oligosacharidy

Minimální mikrobiota – další krok ke standardizaci preklinických myších modelů

Tereza Novotná¹, Marion Darnaud², Dagmar Šrůtková¹, Bärbel Stecher³, Andrea Tamellini²,
François Leulier⁴, Martin Schwarzer¹

¹Laboratoř gnotobiologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Nový Hrádek; ²BIOASTER, Institut de Recherche Technologique, Lyon, France; ³Ludwig-Maximilians-University of Munich, Max von Pottenkofer Institute of Hygiene and Medical Microbiology, Munich, Germany; ⁴Ecole Normale Supérieure de Lyon, Institut de Genomique Fonctionnelle de Lyon, France

Laboratorní myš jako modelové zvíře slouží již desítky let vědeckému výzkumu. Inbrední myší linie a standardizované podmínky chovu přispívají tomu, aby byly výsledky výzkumu reprodukovatelné mezi jednotlivými laboratořemi. Velkou proměnnou ale zůstává mikrobiom. Značné fluktuace ve střevním mikrobiomu pozorujeme nejen mezi různými vědeckými institucemi, ale dokonce i mezi jednotlivými odchovnými klecemi daného zvěřince. Přesně definované složení minimální myší střevní mikrobioty může nabídnout reprodukovatelné pozadí pro imunologický, biomedicínský, či mikrobiologický výzkum.

Cílem studie bylo porovnat dvě definované mikrobioty, které byly vytvořeny tak, aby simulovaly diverzitu myší mikrobioty, a které zároveň poskytly možnost složení mikrobioty monitorovat. Bakteriální směs oMM12 (oligo-Mouse-Microbiota se 12 bakteriálními členy; Brugiroux et al., 2016) a GM15 (Gnoto-Mice s 15 bakteriálními členy; Darnaud et al., 2022).

C57BL/6J myši kolonizované bakteriální směsí oMM12 a GM15 a konvenční SPF myši, byly hodnoceny základními imunologickými parametry. Sledovali jsme růst juvenilních myší za podmínek normální výživy a za stavu chronické podvýživy. Myši byly v 21 dnech odstaveny buď na normální, anebo dietu se sníženým obsahem proteinů a tuků. Váha a délka těla byla měřena po dobu 5 týdnů. Hladiny sérových imunoglobulinů, cytokinů a růstových faktorů (IGF1, IGF1BP3) byly stanoveny ve stáří 56 dní metodou ELISA a Luminex. Zastoupení bakteriálních druhů bylo stanoveno metodou q-PCR bakteriálního 16S RNA genu.

Monitorování 16S-RNA genu potvrzuje podobné bakteriální složení mezi různými institucemi i mezi jednotlivými myšími generacemi. Na úrovni imunologických parametrů se nachází oMM12 a GM15 kolonizované myši mezi GF a SPF statutem, dochází k normalizaci velikosti caeca a počtu Peyerových plaků. Oba gnotobiologické modely mají svůj specifický imunologický profil, který může být připsán individuálnímu bakteriálnímu složení.

Model chronické podvýživy v juvenilním věku u myší vede k zakrslosti, tj. nižší váze a délce těla. Zatímco na normální dietě myši rostly srovnatelně bez ohledu na mikrobiotu, model chronické podvýživy odhalil větší míru citlivosti k podvýživě u konvenčních SPF myší. Myši s GM15 a oMM12 mikrobiotou dosahovaly na ochuzené dietě větších přírůstků.

Klíčová slova: mikrobiom; oMM12; GM15; gnotobiotická myš; podvýživa

Poděkování: Práce byla podpořena granty: GAČR č. 18-07015Y a MŠMT (EMBO grant č. 4139)

Složení oMM12: *Clostridium innocuum* I46; *Bifidobacterium animalis* YL2; *Muribaculum intestinale* YL27; *Flavonifractor plautii* YL31; *Clostridium clostridioforme* YL32; *Akkermansia muciniphila* YL44; *Turicimonas muris* YL45; *Acutalibacter muris* KB18; *Blautia coccoides* YL58; *Lactobacillus reuteri* I49; *Bacteriodes caecimuris* I48; *Enterococcus faecalis* KB1

Brugiroux S, Beutler M, Pfann C, Garzetti D, Ruscheweyh HJ, Ring D, Diehl M, Herp S, Lötscher Y, Hussain S, Bunk B, Pukall R, Huson DH, Münch PC, McHardy AC, McCoy KD, Macpherson AJ, Loy A, Clavel T, Berry D, Stecher B. **Genome-guided design of a defined mouse microbiota that confers colonization resistance against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium.** *Nat Microbiol.* 2016 Nov 21;2:16215. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.215. PMID: 27869789.

Složení GM15: *Bacteroides acidifaciens* MD185; *Bacteroides caecimuris* MD237; *Parabacteroides goldsteinii* MD072; *Clostridium cocleatum* I50; *Enterocloster clostridiolormis* YL32; *Clostridium* sp. MD294; *Clostridium* sp. MD300; *Subtilibacillum caecimuris* MD335; *Longibacillum caecimuris* MD329; *Irregularicoccus caecimuris* MD308; *Lactobacillus johnsonii* MD006; *Ligilactobacillus murinus* MD040; *Limosilactobacillus tauten* MD207; *Anaerotruncus colinominis* JM445; *Escherichia coli* Mt1B1

Darnaud M, De Vadder F, Bogeat P, Boucinha L, Bulteau AL, Bunescu A, Couturier C, Delgado A, Dugua H, Elie C, Mathieu A, Novotná T, Ouattara DA, Planel S, Saliou A, Šrůtková D, Yansouni J, Stecher B, Schwarzer M, Leulier F, Tamellini A. **A standardized gnotobiotic mouse model harboring a minimal 15-member mouse gut microbiota recapitulates SOPF/SPF phenotypes.** *Nat Commun.* 2021 Nov 18;12(1):6686. doi: 10.1038/s41467-021-26963-9. PMID: 34795236; PMCID: PMC8602333.

Vplyv *Lactobacillus reuteri* B1/1 (*Limosilactobacillus reuteri*) a *Lactobacillus fermentum* 2i3 CCM 7158 na génovú expresiu prozápalových interleukínov na IPEC-J2 bunkovej línii

Viera Karaffová¹, Erik Hudec¹, Jana Štofilová², Zuzana Kiššová³, Dagmar Mudroňová³, Zuzana Ševčíková¹

¹Katedra morfológických disciplín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovensko; ²Centrum klinického a predklinického výskumu MEDIPARK, Lekárska fakulta, Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach, Slovensko; ³Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovensko

V posledných rokoch narastá záujem o využitie laktobacilových izolátov vo forme probiotík aj vo veterinárnej sfére. Napomáha tomu extenzívny chov hospodárskych zvierat ako aj nároky spotrebiteľov na kvalitu živočíšnych produktov. Vývoju každého nového probiotického preparátu však predchádza fáza mikrobiologického testovania vybraného probiotického kmeňa ako aj v *in vitro* a v *in vivo* podmienkach. V našich predchádzajúcich prácach kmene *Lactobacillus reuteri* B1/1 a *Lactobacillus fermentum* 2i3 preukázali sľubné imunomodulačné pôsobenie.

Cieľom našej práce bolo sledovanie vplyvu *L. reuteri* B1/1 izolovaného z čreva bažantov a prasacieho izolátu *L. fermentum* 2i3 na génovú expresiu vybraných prozápalových cytokínov na prasacej bunkovej línii enterocytov (IPEC-J2) po ich stimulácii LPS získaným z *E. coli* sérotyp 055:B5 v koncentrácii 10 µg/ml.

K 15 dňovej kultúre diferencovaných IPEC-J2 boli pridané *L. reuteri* B1/1 a *L. fermentum* 2i3 v triplikátoch (10^6 KTJ/jamku) a LPS. Účinok testovaných aditív na bunkový monolayer bol analyzovaný meraním TEER elektródou STX4 prístrojom EVOM2 (World Precision Instruments, USA) v časových intervaloch 3, 6 a 24 hod. Po 24 hod boli bunky premyté studeným PBS a odobrané do Trizolu (Invitrogen). Izolácia RNA prebehla pomocou RNEasy mini kitu. Vyizolovaná total RNA bola prepísaná na cDNA pomocou iScript cDNA Synthesis Kit a oligo DT-primerov. Relatívna génová expresia prozápalových cytokínov (IL-1 β , IL-8, IL-18) bola vyhodnotená po 24 hodinovej inkubácii pomocou kvantitatívnej RealTime-PCR metódy použitím kitu SsoAdvancedTM universal SYBR green supermix (Bio-Rad, USA) a špecifických primerov na prístroji LightCycler 480 II Instrument (Roche, USA) podľa preddefinovaného teplotného programu. Získané hodnoty C_q génov boli normalizované na priemernú hodnotu C_q referenčného génu (HPRT) a relatívna expresia každého génu bola vypočítaná matematicky ako $2^{-\Delta C_q}$.

Aplikácia obidvoch probiotických kmeňov signifikantne potlačila génovú expresiu prozápalových interleukínov v kombinovaných skupinách (LR+LPS; LF+LPS) oproti LPS skupinám, avšak v samotných probiotických skupinách bola ich expresia upregulovaná oproti kontrole ($P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$).

Obidva probiotické kmene preukázali sľubné imunomodulačné vlastnosti. Počas infekcie s LPS pôsobili protizápalovo. V tejto súvislosti je však potrebné vykonať ďalšie *in vitro* ako aj *in vivo* štúdie.

Kľúčové slová: *Lactobacillus*; *in vitro*; IPEC-J2; prozápalové cytokíny

Podakovanie: Táto práca bola podporená grantovými úlohami VEGA č. 1/0098/22 a Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-21-0129.

Vplyv *Lactobacillus reuteri* B1/1 (*Limosilactobacillus reuteri*) na vybrané parametre integrity čreva na CLAB bunkovej línii

Erik Hudec¹, Viera Karaffová¹, Jana Teleky¹, Mária Pintarič², Tomáš Langerholc², Dagmar Mudroňová³

¹Katedra morfológických disciplín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika; ²Katedra mikrobiológie, biochémie, molekulárnej biológie a biotechnológie, Univerzita v Maribore, Slovinsko; ³Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika

Integrita čreva má zásadný vplyv na celkové zdravie. Jej poškodenie narúša črevnú homeostázu čo má negatívny dopad na celý organizmus. *Lactobacillus reuteri* B1/1 izolovaný z čreva zdravých bažantov sa zdá byť perspektívnym do budúcnosti z hľadiska jeho použitia v komerčných probiotických prípravkoch. Naše publikované výsledky poukazujú na to, že kmeň *Lactobacillus reuteri* B1/1 účinne moduluje génovú expresiu prozápalových cytokínov, chemokínov ako aj jednotlivé subpopulácie T buniek v črevnom trakte hydiny.

Cieľom našej práce bolo sledovanie vplyvu *L. reuteri* B1/1 v dvoch koncentráciách 10^7 a 10^9 KTJ po 2 a 4-hodinovej inkubácii na génovú expresiu vybraných proteínov podieľajúcich sa na zabezpečení integrity čreva (okludín, kludín-1, lumikan, olfaktomedin-4) na CLAB prasacej bunkovej črevnej epiteliálnej línii.

CLAB bunková línia sa kultivovala v médiu DMEM v koncentrácii 5×10^4 buniek/jamku v 96-jamkovej mikrotitračnej platni vo vlhkej atmosfére s 5 % CO₂ pri 37 °C. Po vytvorení súvislej vrstvy buniek, sa médium z buniek odstránilo a bunky sa premyli DMEM doplneným L-glutamínom. Suspenzia *L. reuteri* B1/1 v MRS bujóne sa centrifugovala pri 2400 ot./min. počas 10 minút. Po centrifugácii bol resuspendovaný v DMEM. K bunkám sa pridalo 100 µl bakteriálnej suspenzie v oboch koncentráciách. Prebehla inkubácia v dvoch časových intervaloch 2 a 4 hodiny v atmosfére (5 % CO₂ pri 37 °C). Relatívna génová expresia pre vybrané proteíny bola vyhodnotená pomocou kvantitatívnej RealTime-PCR metódy použitím kitu SsoAdvanced™ universal SYBR green supermix a špecifických primerov na prístroji LightCycler 480 II Instrument podľa preddefinovaného teplotného programu. Získané hodnoty C_q génov boli normalizované na priemernú hodnotu C_q referenčného génu (HPRT) a relatívna expresia každého génu bola vypočítaná matematicky ako $2^{-\Delta C_q}$.

Obidve použité koncentrácie *L. reutei* B1/1 signifikantne upregulovali génovú expresiu vybraných proteínov po 4-hodinovej inkubácii (P < 0,05, P < 0,01, P < 0,001) oproti kontrole.

Testovaný kmeň *L. reuteri* B1/1 preukázal blahodarný vplyv na integritu čreva tým, že zvýšil génovú expresiu vybraných proteínov.

Kľúčové slová: *Lactobacillus*; *in vitro*; CLAB; integrita čreva

Podakovanie: Táto práca bola podporená grantovými úlohami VEGA č. 1/0098/22 a Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-21-0129.

Schopnost probiotického kmene *Escherichia coli* O83:K24:H31 normalizovat pozměněné funkce neutrofilů u myší po antibiotické léčbě

Eliška Krčmářová¹, Eliška Miková², Jiří Hrdý¹

¹Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN v Praze; ²BIOCEV, 1. LF UK, Vestec

Interakce mezi střevní mikrobiotou a hostitelským imunitním systémem jsou klíčové pro udržování střevní homeostáze a regulaci imunitního systému. Užívání antibiotik může vést k narušení této jemné rovnováhy (dysbióze) a k rozvoji různých závažných imunopatologických stavů či metabolických chorob. Podávání probiotik po léčbě antibiotiky se jeví jako prospěšné a jednoduché opatření podporující obnovu střevní homeostáze a vzájemných rovnovážných interakcí mezi mikrobiotou a imunitním systémem hostitele. Neutrofilové se účastní první linie obrany proti patogenním mikroorganismům a představují jeden z buněčných typů vyskytující se na střevní bariéře. Recentní studie označují neutrofilové jako velice heterogenní populaci buněk s nejen prozánětlivou, ale i imunoregulační funkcí. Dysregulace proporčního zastoupení jednotlivých subpopulací neutrofilů včetně jejich funkčních vlastností by mohla být jedním z faktorů vedoucích k narušení homeostáze a rozvoji střevních onemocnění.

V rámci studie jsme se zaměřili na charakterizaci vlivu antibiotiky indukované dysbiózy na proporční zastoupení subpopulací neutrofilů v různých tkáních (např. kostní dřeň, krev, slezina, střeva) s využitím experimentálního myšního modelu. Na základě kombinace povrchových znaků CD11b, Ly6G, Ly6C, CXCR2, CD62L byl pomocí multiparametrické průtokové cytometrie charakterizován fenotyp izolovaných neutrofilů (supresivní vs. prozánětlivý). Hodnocena byla také funkční kapacita neutrofilů (fagocytóza, genová exprese, schopnost produkovat neutrofilní extracelulární pasty) a stav střevní bariéry. Schopnost probiotického kmene *Escherichia coli* O83:K24:H31 obnovit proporční zastoupení jednotlivých subpopulací neutrofilů u myší s indukovanou dysbiózou byla testována *in vivo*. Dysbióza vyvolaná antibiotiky indukovala expanzi populace neutrofilů s aktivovaným fenotypem v kostní dřeni, zatímco podávání probiotického kmene *Escherichia coli* O83:K24:H31 vedlo k normalizaci jejich hladin. Výsledky naší studie poukazují na schopnost *Escherichia coli* O83:K24:H31 normalizovat proporční zastoupení jednotlivých subpopulací neutrofilů u myší s dysregulovanou imunitní odpovědí v důsledku změny rovnovážných interakcí mezi mikrobiotou a imunitním systémem po podání antibiotik.

Klíčová slova: dysbióza; neutrofilové; *Escherichia coli* O83:K24:H31

Poděkování: Tato práce byla podpořena programem GA UK číslo 6121.

Exopolysacharid izolovaný z *Lactocaseibacillus rhamnosus* indukuje regulační imunitní odpověď a zmírňuje alergický zánět plic v myším modelu

Dagmar Šrůtková¹, Hana Kozáková¹, Tereza Novotná¹, Sabina Górska², Petra Petr Hermanová¹, Tomáš Hudcovic¹, Tereza Švábová¹, Marek Šinkora¹, Martin Schwarzer¹

¹Laboratoř gnotobiologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Nový Hrádek; ²Laboratory of Microbiome Immunobiology, Hirsfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy of Sciences, Poland

Vzrůstající prevalence alergických onemocnění během posledních desetiletí je spojena se sníženou mikrobiální zátěží v západní lidské populaci. Intervence probiotickými bakteriemi, a především jejich definovanými bakteriálními složkami představují novou strategii v modulaci alergických imunitních odpovědí. V naší studii jsme ukázali, že opakované intranazální podávání exopolysacharidu izolovaného z bakterie *Lactocaseibacillus (L.) rhamnosus* LOCK900 (EPS) indukuje tvorbu cytokinu TGF- β 1, regulačních FoxP3 T-buněk a produkci polyspecifických IgA protilátek v plicní tkáni naivních myší. Pomocí myšího modelu alergického zánětu plic jsme prokázali účinek tohoto EPS na alergickou odpověď v dýchacích cestách a Th2 cytokinovou odpověď u senzibilizovaných jedinců. Současně, podobně jako u naivních myší, EPS podávání senzibilizovaným myším významně zvýšilo hladinu celkového, OVA-specifického a také bakteriálně specifického IgA v bronchoalveolární laváži a také počet IgA produkujících B-buněk v plicní tkáni těchto myší. EPS izolovaný z *L. rhamnosus* LOCK900 lze tedy považovat za potenciálního kandidáta pro indukci regulační imunitní odpovědi a prevenci rozvoje alergických příznaků v plicích u senzibilizovaných jedinců.

Klíčová slova: *Lactocaseibacillus rhamnosus*; exopolysacharid; alergický zánět

Poděkování: Grantová agentura ČR (19-02261S), MŠMT Mobility grant (8JPL19046), EMBO Installation Grant (M. Schwarzer, č. 4139).

Host-Bacterial Symbiosis in Gnotobiotic Piglets

Igor Šplíchal¹, Zdislava Kindlová¹, Věra Neužil Bunešová²,
Eva Vlková², Barbora Valášková¹, Alla Šplíchalová¹

¹Laboratory of Gnotobiology, Institute of Microbiology, Czech Academy of Sciences, Nový Hrádek; ²Department of Microbiology, Nutrition and Dietetics, Czech University of Life Sciences Prague

Gnotobiotic (GN) animals with defined microbiota allow for studying host-microbial symbiosis and microbiota-microbiota interferences.

Germ-free piglets were mono-associated with probiotic *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 (BB12) to verify its safety and to investigate possible protection against subsequent infection with *Salmonella* Typhimurium strain LT2 (LT2). Clinical signs of salmonellosis, bacterial colonization in the intestine, translocation to mesenteric lymph nodes (MLN), blood, liver, spleen, and lungs, histopathological changes in the ileum, goblet cell density, expression of Toll-like receptor (TLR) 2, 4, and 9, intestinal and plasma concentrations of high mobility group box 1 (HMGB1), interleukin (IL)-6 and IL-12/23p40 were analyzed to evaluate the possible modulatory effect of probiotic bacterium.

BB12 did not translocate in the BB12-mono-associated piglets. However, it was detected in some cases in the MLN of piglet associated with BB12 reduced LT2 counts in the ileum and liver of these piglets. LT2 damaged the luminal structure of the ileum, but the previous association with BB12 mildly alleviated these changes. TLRs signaling modified by LT2 was not influenced by previous association with BB12. Expression of HMGB1, IL-6, and IL12/23p40 in the jejunum, ileum, and colon and their levels in plasma were all decreased by BB12, but these changes were not statistically significant. Differences in HMGB1 distribution between the GF and LT2 piglet groups were observed in the colon.

In conclusion, the mono-association of GF piglets with BB12 before LT2 infection partially ameliorated the inflammatory response to LT2 infection. Thus, we hypothesize that multistrain bacterial colonization of preterm gnotobiotic piglets may be needed to enhance the protective effect against the infection with *S. Typhimurium* LT2.

Keywords: Gnotobiotic piglet; probiotics; *Bifidobacterium*; *Salmonella* Typhimurium; HMGB1; Toll-like receptor

Acknowledgments: This work was supported by grants 21-15621S from the Czech Science Foundation and LUAUS23014 from the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

Dipeptidový Enterocín A/P produkovaný prospešným kmeňom *Enterococcus faecium* EK13 – sľubné postbiotikum pre chov králikov

Monika Pogány Simonová¹, Ľubica Chrastinová², Jana Ščerbová¹, Valentína Focková¹, Iveta Plachá¹, Zuzana Formelová², Katarína Tokarčíková¹, Rudolf Žitňan², Andrea Lauková¹

¹Centrum biovied SAV, v.v.i., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Košice, Slovensko;

²Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Lužianky, Slovensko

Alarmujúci nárast rezistentných baktérií na bežne používané antibiotiká predstavuje riziko vzniku zdravotných problémov nielen v humánnej populácii, ale aj u potravinových a spoločenských zvierat. Preto je vo verejnosti zvýšený dopyt po naturálnych kŕmnych aditívach, ktoré môžu mať prospešné účinky na produktivitu a zdravie zvierat. Niektoré naturálne substancie najmä bakteriocíny a rastlinné extrakty sa vyznačujú antimikrobiálnym účinkom a redukciou výskytu nežiaducej mikrobioty, čím cez optimalizáciu vhodného mikrobiálneho osídlenia tráviaceho traktu hostiteľského organizmu následne stabilizujú/zlepšujú aj jeho zdravotný stav a produktivitu.

Chov králikov predstavuje významné odvetvie živočíšnej výroby vzhľadom na vhodné biologické vlastnosti králika a kvalitu králičieho mäsa s vysokým podielom stráviteľných bielkovín, vitamínu B12, polynenasýtených mastných kyselín a nízkym obsahom cholesterolu aj sodíka, ktoré je preto základom racionálneho stravovania. Králik je však aj veľmi senzitívne zviera, predovšetkým v období odstavu, keď v dôsledku stresových faktorov a dietetických zmien veľmi ľahko dochádza k mikrobiálnej dysbalancii v tráviacom trakte, zvýšenej morbidite/mortalite a zníženiu produktivity zvierat.

Cieľom tejto štúdie bolo preto simulovať podmienene patogénne prostredie aplikáciou meticilín-rezistentného (Met-R) kmeňa *Staphylococcus epidermidis* SEP3/Tr2a králikom, otestovať *in vivo* antimikrobiálny účinok dipeptidového Enterocínu EntA/P produkovaného kmeňom *Enterococcus faecium* EK13 (environmentálny izolát; deponovaný v Českej zbierke mikroorganizmov v Brne pod číslom CCM7419) na Met-R kmeň SEP3/Tr2a ako aj vplyv oboch substancií na fyziologické, mikrobiologické a imunologické parametre u králikov. EntA/P bol pridávaný do pitnej vody králikov po dobu 14 dní (50 µl/zviera/deň; 25600 AU/ml) pred a po 7 dňovej aplikácii Met-R SEP3/Tr2a (10⁵ KTJ/ml; 0,5 µl/zviera/deň), s cieľom porovnať preventívne a medicínálne účinky EntA/P. Rýchlejší rast zvierat, stimulácia nešpecifickej imunity, zlepšená morfometria jejuna a antibakteriálny efekt na mikrobiotu trusu potvrdzujú preventívny účinok EntA/P. Podávanie kmeňa SEP3/Tr2a negatívne neovplyvnil rast králikov. Na druhej strane, výrazná stimulácia nešpecifickej a slizničnej imunity a zhoršené morfometrické parametre tenkého čreva však svedčia o negatívnom pôsobení kmeňa na črevný epitel a fyziologické procesy v intestinálnom prostredí. Optimalizácia hodnôt nešpecifickej a slizničnej imunity po aplikácii kmeňa SEP3/Tr2a, ako aj zlepšenie parametrov morfometrie jejuna svedčia zase o medicínálnom efekte EntA/P.

Kľúčové slová: enterocín; králik; imunita; mikrobiota; zdravie

Podakovanie: Táto štúdia bola podporená projektom VEGA 2/0005/21. Ďakujeme pani D. Melišovej a pánovi P. Jergovi za pomoc pri spracovaní vzoriek.

Mundticín-like substancia z prospešného kmeňa *Enterococcus mundtii* EM41/3 a jej aplikácia v chove koní plemena Norik Muránsky

Valentína Focková¹, Lenka Micenková², Eva Styková³, Eva Bino¹, Emília Dvorožňáková⁴, Ľubomíra Grešáková¹, Igor Valocký³, Monika Pogány Simonová¹, Andrea Lauková¹

¹Centrum biovied SAV v.v.i. Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Slovensko; ²Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, RECETOX, Brno, Česká republika; ³Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovensko; ⁴Parazitologický ústav SAV v.v.i., Košice, Slovensko

Aj chovatelia spoločenských zvierat prejavujú čoraz väčší záujem o inovatívne metódy v chovoch, ktoré by zabezpečovali dobrý zdravotný stav zvierat. K tomu môžu prispieť prospešné baktérie a nimi produkované substancie (bakteriocíny), ktoré sú bezreziduálne. V oblasti chovu koní je využitie autochtónnych prospešných kmeňov a ich bakteriocínov stále málo študovanou témou. Preto bola táto štúdia zameraná na testovanie a overenie prospešného účinku novej bakteriocínovej substancie – Mundticín-like EM41/3 v chove slovenského plemena Norik Muránsky. Mundticín-like EM41/3 je produkovaný autochtónnym kmeňom *Enterococcus mundtii* EM41/3, bezpečnosť ktorého bola preukázaná v pokuse na myšiach Balb/c. Mundticín-like substancia má širokú inhibičnú aktivitu. Je to stabilný bakteriocín, aktívny pri teplotách 37°C, 60°C, aj 80°C, a pri skladovaní pri teplote -20°C. Mundticín-like substancia pri overení bezpečnosti u brojlerových králikov, prejavila anti-stafylokokový účinok bez vedľajšieho negatívneho efektu na ostatné sledované parametre. Po aplikácii Mundticín-like substancie u 13 kobýl plemena Norik Muránsky, po dobu 21 dní v dávke 100 µl na deň pre každého koňa v boluse z krmiva, bol zaznamenaný pokles enterokokov len u niektorých koní. Na 21. deň poklesli počty enterokokov u 3 koní oproti odberu v deň 0/1 (rozdiel 1,7 až 2,68 log cyklu). Na 42. deň (3. týždeň od ukončenia podávania EM41/3) bol rozdiel v počte enterokokov od 1,92 do 2,56 log cyklu u ďalších 2 koní, hoci na 21. deň sa u nich pokles nepreukázal. Pokles stafylokokov bol tiež len u niektorých koní, pričom vyšší pokles nastal na 42. deň. Počty kyseliny mliečnu produkujúcich baktérií boli vysoké (6,68 ± 0,50) na deň 0/1. ako aj na 21. deň a 42. deň. K ich poklesu došlo na 21. deň u troch koní, s rozdielom 1,29-2,54 log cyklu. Podávanie Mundticín-like substancie EM41/3 viedlo k redukcii koliformných zárodkov (matematický rozdiel 0,76-1,20 log cyklu) i pseudomonád (rozdiel 0,76 log cyklu). Aplikácia substancie nevyvolala oxidačný stres. Ostatné parametre sú vyhodnocované. Jedná sa o originálne a perspektívne výsledky z hľadiska možnosti využitia bakteriocínových substancií produkovaných prospešnými kmeňmi v chove koní.

Kľúčové slová: prospešný bakteriocín; chov koní; využitie; zdravie

Podakovanie: Práca bola podporená projektom (Doktograf) APP0253 -2022 a SK-PL 2019-2022.

Ovčí sudovaný syr, zdroj autochtónnych, prospešných, bakteriocín-produkujúcich baktérií a ich aplikačný potenciál

Andrea Lauková¹, Martin Tomáška², Maroš Drončovský², Eva Bino¹, Emília Dvorožňáková³, Ľubica Chrastinová⁴, Anna Kandričáková¹, Monika Pogány Simonová¹, Miroslav Kološta²

¹Centrum biovied SAV, v.v.i. Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Košice, Slovensko; ²Výskumný ústav mliekarenský, a.s., Žilina, Slovensko; ³Parazitologický ústav SAV, v.v.i., Košice, Slovensko; ⁴Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Nitra-Lužianky, Slovensko

Ovčiarstvo na Slovensku má svoju tradíciu. Preto je prirodzené, že slovenskí konzumenti obľubujú aj výrobky z ovčieho, ale aj kozieho mlieka. Vyrábané sú z neho viaceré tradičné výrobky; dobre známa Slovenská bryndza, Slovenská parenica či Slovenský oštiepok. V roku 2008 bolo Európskou úniou týmto produktom udelené označenie PGI teda geograficky chránený produkt (z anglického protected geographical product). Ovčí hrudkový syr získal zase označenie TSG, teda garantovaná tradičná špecialita (traditional specialty guaranteed). Ku takýmto produktom patrí aj ovčí sudovaný syr. Všetky tieto výrobky sú zdrojom autochtónnej mikrobioty, ktorá má prospešné vlastnosti. Tak bol izolovaný z ovčieho sudovaného syra kmeň *Lactiplanatibacillus plantarum* LP17L/1, ktorý je nehemolytický, citlivý ku antibiotikám, deoxyribonukleáza-negatívny, bez produkcie biofilmu, dobre tolerujúci nižšie pH a žlč, avšak s produkciou užitočného enzýmu beta-galaktosidáza (využíva sa pri výrobe bezlaktózového mlieka pre laktóza-intolerantných ľudí) ako aj s produkciou bakteriocínovej substancie s anti-stafylokokovým a anti-listeriálnym účinkom.

Kmeň LP17L/1 dobre prežíva aj v gastrontestinálnom trakte myší Balb/c bez vedľajších účinkov, čo poukazuje na jeho bezpečnosť. Zároveň v jejune myší po jeho podávaní došlo ku poklesu koliformných zárodkov (o 2, 71 logaritmové cykly). U brojlerových králikov bola po jeho podávaní zistená lepšia morfometria enterocytov. Biochemické parametre neboli negatívne ovplyvnené. Veľmi dôležitým poznatkom je skutočnosť, že profylaktická aplikácia kmeňa LP17L/1 u myší Balb/c infikovaných parazitom *Trichinella spiralis* bránila imunosupresii črevných lymfocytov stimulovaných infekciou *T. spiralis* a tiež bránila patologickým zmenám počas črevnej fázy trichinelózy. Z imunologického hľadiska teda predstavuje tento kmeň novú stratégiu v boji proti trichinelóze. Indikuje aj jej predchádzanie cez špecifickú aktiváciu črevných imunoregulatívnych buniek hostiteľa.

Pri in situ aplikácii v ovčo-kozích jogurtoch tento kmeň prežíval v dostatočných počtoch (aj pri teplote 4°C) ako aj v syre a tiež bol súčasťou fermentovaného mliečneho nápoja na báze kozieho mlieka. Bol osekvenovaný, uložený v GenBanku pod prístupovým číslom AN:ON114094 ako aj v Českej zbierke mikroorganizmov (CCM 9208) a je súčasťou patentovej prihlášky na Úrade priemyselného vlastníctva Slovenskej republiky (PP50021-22).

Kľúčové slová: ovčí sudovaný syr; prospešný kmeň; charakteristika, bakteriocín, využitie

Podakovanie: Ďakujeme za pomoc pri sekvenácii kmeňa Dr. Mariánovi Maďarovi, Ph.D. z Univerzity veterinárskeho lektárstva a farmácie v Košiciach ako aj za uloženie kmeňa v GenBanku Dr. Muchovi z Neurobiologického ústavu, Biomedického výskumného centra SAV v Košiciach. Ďakujeme tiež pani Dane Melišovej za laboratórnu pomoc. Práca bola podporená projektom APVV-20-0204 a APVV-17-0028.

Růstová schopnost *Listeria monocytogenes* na prebiotických

Tereza Kodešová, Hana Šubrtová Salmonová, Eva Vlková, Šárka Musilová

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze

Listeria monocytogenes (LM) je intracelulární patogenní bakterie, která způsobuje závažné alimentární onemocnění zvané listerióza. Výskyt tohoto onemocnění není v České republice příliš častý, přibližně se ročně podle Státního zdravotního ústavu nakazí cca 0,5 osoby na 100 000 obyvatel. Průběh onemocnění však může být závažný. U ohrožených skupin obyvatel jako jsou děti, staří lidé, těhotné ženy a lidé se sníženou imunitou hrozí riziko úmrtí či potratu. Infekční dávka pro tuto skupinu obyvatel je pouze 100 až 1000 buněk LM. Listeriózu lze léčit různými antibiotiky jako je benzylpenicilin, ampicilin, erythromycin, meropenem a trimethoprim-sulfamethoxazol (EUCAST). Prebiotika jsou doporučována pro úpravu rovnováhy mikrobioty trávicího traktu, což může v důsledku vést k vyšší odolnosti organismu proti alimentárním patogenům. Prebiotika by měly být látky selektivně využívané zdraví prospěšnými mikroorganismy. Bylo ovšem prokázáno, že na těchto substrátech mohou růst i nežádoucí bakterie. Vzhledem k tomu, že chybí podobné studie zaměřené na růst LM na prebiotických sacharidech, bylo cílem naší práce zhodnotit růstovou schopnost LM na prebiotických nejčastěji využívaných do doplňků stravy.

Bylo sestaveno médium, ve kterém byly jako jediné sacharidové zdroje uhlíku použity glukóza, beta(1,3)-D-glukan, inulin, fruktooligosacharidy, galaktooligosacharidy, laktulóza, rafinóza, stachyóza, oligosacharidy z mateřského mléka nebo 2'fukosyllaktóza. Byla testována růstová schopnost čtyř kmenů LM, které zahrnovaly 4 nejčastější sérotypy vyskytující se v potravinách. Schopnost růstu byla posuzována pomocí sledování změn absorbance při 620 nm za použití Tecan Infinite M200 (Tecan Aurtria GmbH, Rakousko) a měřením pH. Výsledky ukázaly, že LM je schopna v omezené míře růst na prebiotických doplňcích stravy s obsahem beta(1,3)-D-glukanu, inulinu, fruktooligosacharidů a galaktooligosacharidů. Otázkou je, zda by používaná prebiotika měla být pro lepší účinnost nahrazena látkami, které LM není schopná využívat. Proto je namístě se tímto výzkumem zabývat i nadále.

Klíčová slova: *Listeria monocytogenes*; prebiotika; oligosacharidy; růstová schopnost; patogen

Poděkování: Tato práce byla podpořena projektem výzkumné infrastruktury METROFOOD-CZ (č. grantu MŠMT: LM2018100) a projektem AgroServ (HORIZON-INFRA-2021-SERV-01-02, grantová smlouva č.: 101058020).

Vývoj funkčních synbiotických fermentovaných výrobků s obsahem bakterií mléčného kvašení s produkcí exopolysacharidů

Olga Bazalová¹, Jaromír Cihlář¹, Vladimír Dráb¹, Šárka Horáčková², Miloslava Kavková¹

¹Výzkumný ústav mlékárenský, s.r.o, pracoviště Tábor; ²Ústav mléka, tuků a kosmetiky, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha

Zdravé složení střevní mikrobioty je jedním z klíčových faktorů pro udržení dobrého zdravotního stavu a správného fungování nejen střev. S rozvíjejícím se poznáním v oblasti je v posledních letech kladen větší důraz na koncept použití prebiotik, pravých probiotik, parabiotik a postbiotik. Bakterie mléčného kvašení (BMK) jsou známy jako producenti exopolysacharidů (EPS), které mohou sloužit jako pre- i post-biotikum. EPS mohou být vylučovány do prostředí (tzv. slizové polysacharidy) nebo mohou být těsně asociované s buněčnou stěnou (tzv. kapsulární polysacharidy). Produkci EPS ovlivňuje několik faktorů, zejména pak druh a kmen bakterie. Kultivační podmínky vhodné pro produkci EPS se u jednotlivých bakterií liší, proto je důležité stanovit metody detekce EPS produkujících kmenů a kultivační podmínky optimální pro produkci EPS pro každý jednotlivých druh či kmen. Charakterizace probiotických a technologických vlastností BMK pak budou spolu se získanými poznatky použity pro možnosti cílených aplikací EPS produkujících kmenů pro výrobu funkčních synbiotických fermentovaných výrobků.

Klíčová slova: bakterie mléčného kvašení; postbiotika; exopolysacharidy

Poděkování: Program aplikovaného výzkumu MZE ČR – program Země, projekt QK22010186.

Mikrobiom a příslib niterného poznání sebe sama a (více než) lidského metabolismu

Kateřina Kolářová, Tereza Stöckelová, Lukáš Senft

Sociologický ústav AV ČR, v.v.i.

V tomto příspěvku, který vychází z našeho výzkumu probiotik a personalizovaných přístupů k výživě a metabolismu, mapujeme motivace uživatelů/lek personalizovaných probiotik, či personalizovaných výživových postupů založených na sledování mikrobiomu a jeho metabolického fungování. Personalizovaná probiotika a personalizované přístupy k výživě jsou v současnosti považovány za budoucnost v lékařské, zdravotní i nutriční péči, proto se zamýšlíme nad formami introspekce, sebezpozorování a sebezpoznání i imaginacemi vztahu mezi lidskou a mikrobiální biologii, tak jak se formují skrze praxe zacházení s probiotiky, či novými technologiemi, které umožňují sledování metabolismu v reálném čase a upravování stravy (např. ZOE). Sledujeme také, zda skutečně tyto způsoby modulace mikrobiomu naplňují "probiotický étos" (Maroney 2020) a posilují povědomí o „mikrobiální práci“ (Krzywoszynska 2020), či jakým způsobem rámuje více než lidské zdraví a ekologii.

Klíčová slova: personalizovaná probiotika; analýza mikrobiomu; ZOE, aplikace na sledování metabolismu

Poděkování: Výzkum je podpořen Grantovou Agenturou ČR, číslo grantu 20-09830S.

Reference:

Krzywoszynska, A. (2020). Nonhuman Labor and the Making of Resources: Making Soils a Resource through Microbial Labor. *Environmental Humanities*, 12 (1): 227–249. doi: <https://doi.org/10.1215/22011919-8142319>

Maroney, S. (2020). Governance of the gut: Healthism, control, and intervention in microbiome dietary advice. *Journal of Critical Dietetics*, (5) 1: 35-44.
Zoe, <https://joinzoe.com/>