

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



PROGRAM

16. SYMPOZIA SPOLEČNOSTI PRO PROBIOTIKA A PREBIOTIKA

10. 5. 2022

Kongresové centrum Ústřední vojenské nemocnice

Praha 6 – Střešovice

8:00 – 10:00 Registrace

9:00 – 9:10 Zahájení

Sekci předsedá: Jiří Hrdý

9:10 – 9:50

Can we elucidate the specific probiotic mechanisms of action of lactobacilli by studying their persistence and dynamics in the gut?

Catherine Daniel

Team Lactic Acid Bacteria and Mucosal Immunity, Center for Infection and Immunity of Lille, Institut Pasteur de Lille

9:50 – 10:05

Gnotobiotic piglet translational model and probiotics

Igor Šplíchal

Laboratory of Gnotobiology, Institute of Microbiology, Czech Academy of Sciences

10:05 – 10:20

Vliv časně postnatální kolonizace probiotickým kmenem *E. coli* O83:K24:H31 na maturaci imunitního systému a imunoregulaci

Jan Věcek

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

10:20 – 10:35

Slovo o mikrobiomu: úvaha nad pojmoslovím vzkvétajícího oboru

Viktor Černý

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

10:35 – 11:00 **Přestávka**

Sekci předsedá: Eva Vlková

11:00 – 11:15

Změny ve složení střevní mikrobioty a metabolitů u patientek s mentální anorexií

Radka Roubalová

Mikrobiologický ústav AV ČR

11:15 – 11:30

Vztah mezi mikrobiomem střeva, mikrobiomem kůže a atopickou dermatitidou u dětí

Dana Nováková

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

11:30 – 11:45

Kryoprotektivní efekt laktulózy a kvasničných beta-glukanů ve směsi se sójovým lecitinem vůči probiotickým taxonům bifidobakterií a laktobacilů

Jiří Killer

Laboratoř anaerobní mikrobiologie, Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, ČZU v Praze

11:45 – 12:00

Vliv podmínek skladování na životaschopnost mikroorganismů v probiotických doplňcích stravy

Eva Vlková

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, ČZU v Praze

12:00 – 12:15

Fermentované rostlinné výrobky a probiotika

Šárka Horáčková

Ústav mléka, tuků a kosmetiky, VŠCHT Praha

12:15 – 12:20

Závěr: Eva Vlková

Can we elucidate the specific probiotic mechanisms of action of lactobacilli by studying their persistence and dynamics in the gut?

Catherine Daniel

Team Lactic Acid Bacteria and Mucosal Immunity, Center for Infection and Immunity of Lille, Institut Pasteur de Lille

The gastrointestinal tract is the main ecological niche in which *Lactobacillus* strains provide health benefits in mammals. There is currently a need to characterize host-microbe interactions in space and time by tracking these bacteria *in vivo*. Therefore, in order to better understand the interactions between administered probiotics and the host intestinal system, we have set up new tools allowing us to directly trace microorganisms in the gut of mice by *in vivo* imaging.

We developed different luciferase-expressing probiotic strains and demonstrated that the click-beetle red luciferase is the best performing system for noninvasive *in vivo* bioluminescence imaging in healthy anesthetized mice. We then developed fluorescent *Lactobacillus* strains and demonstrated that mCherry is the best system for *in vivo* imaging and *ex vivo* fluorescence confocal microscopy of these bacteria. However, *in vivo* bioluminescence is more sensitive than fluorescence imaging to visualize probiotics but fluorescent microorganisms are best suited to be detected in mice by intravital microscopy. We thus finally combined noninvasive whole-body imaging with *ex vivo* fluorescence confocal microscopy imaging to monitor the impact of intestinal inflammation on the persistence of orally administered *Lactobacillus* in healthy and inflamed mouse colons.

In healthy mice, we were able to demonstrate differences in gut persistence between various strains after oral administration and we could follow the precise gut localization of the strains over time. With regard to intranasal application, we show the migration of lactobacilli in the nose, lung and gut. Using *in vivo* imaging techniques, we demonstrated that orally or intranasally applied probiotics do not permanently colonize mucosal surfaces but transiently persist along the intestinal and/or respiratory tracts and activate the immune system at two distinct mucosal compartments leading to effective immunomodulation.

We finally used fluorescence whole-body imaging to show that an anti-inflammatory *Lactobacillus*, orally administered strain, persists for longer and at higher counts in the inflamed colon than in the healthy colon. We confirmed these results by the *ex vivo* confocal imaging of colons from mice with experimental colitis. Moreover, extended orthogonal view projections enabled us to localize individual *Lactobacillus* in sites that differed for healthy *versus* inflamed guts. In healthy colons, orally administered bacteria were localized in the lumen (in close contact with commensal bacteria) and sometimes in the crypts (albeit very rarely in contact with intestinal cells). The bacteria were observed within and outside the mucus layer. In contrast, *Lactobacillus* bacteria in the inflamed colon were mostly located in the lumen and (in less inflamed areas) within the mucus layer. In more intensely inflamed areas (i.e. where the colon had undergone structural damage), the *Lactobacillus* strains were in direct contact with damaged epithelial cells. Taken as a whole, our studies have shown that

evaluating the survival and where bacterial interactions take place is essential to decipher the specific roles and mechanisms of such beneficial bacteria. We are now going further with these tools to evaluate the impact of probiotics on gut autophagy and their beneficial role against intestinal inflammation.

Keywords: Mice; gut; *in vivo* imaging; *Lactobacillus*; bioluminescence.

Gnotobiotic piglet translational model and probiotics

Igor Splichal¹, Alla Splichalova¹, Eva Vlkova², Vera Neuzil Bunesova², Zdislava Kindlova¹

¹Laboratory of Gnotobiology, Institute of Microbiology, Czech Academy of Sciences, Novy Hradek

²Department of Microbiology, Nutrition and Dietetics, Czech University of Life Sciences Prague

The possibility of performing scientific experiments on humans is limited. Thus, it is necessary to use suitable translational animal models. Using non-human primates is ethically problematic and very expensive. The majority of experiments have been performed on mice. They are cheap, have many different wild-type and knockout strains, and have a broad panel of suitable reagents available. Manipulation with mice is easy, and their breeding is relatively cheap. However, mice show many differences compared to humans. The pig has comparative anatomy, physiology, and genetics to humans. Its sensitivity to lipopolysaccharide (LPS), infectious agents, and duration of sepsis are similar to humans. Therefore, the pig has been used as a translational model in gastroenterology and infectious diseases. The pig is also a suitable model for surgery to develop new surgical procedures. Compared to humans, the pig differs in the transplacental transfer of immunoglobulins. Its epitheliochorial placenta is entirely on the opposite „scale“ as the human hemochorial placenta. It prevents the transfer of immunoglobulins from mother to fetus and piglets born immunocompromised. For this reason, the newborn piglets need to receive colostrum as soon as possible to survive early postnatal microbial attack in the pigsty. The surgically-derived piglets can be reared in microbiologically controlled conditions of a gnotobiotic isolator. A deprivation of colostrum makes gnotobiotic piglets immunocompromised, and preterm delivery can deepen this immunocompromisation. The similarity of human and pig gut microbiomes predestines the gnotobiotic piglets for host-microbiota and microbiota-microbiota interaction studies, selection of probiotic candidates, and verification of probiotic safety. The results of experiments with probiotic *E. coli* Nissle 1917, *Lactobacillus rhamnosus* GG, and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, commensal bifidobacteria and lactobacilli, and *Salmonella* Typhimurium will be presented.

Keywords: Gnotobiotic piglet; probiotics; *E. coli*; *Bifidobacterium*; *Lactobacillus*; *Salmonella* Typhimurium.

This work was supported by a grant 21-15621S from the Czech Science Foundation.

Vliv časně postnatální kolonizace probiotickým kmenem *E. coli* O83:K24:H31 na maturaci imunitního systému a imunoregulaci

Jan Věcek¹, Lenka Súkeníková¹, Viktor Černý¹, Olga Novotná¹, Petra Petrásková¹, Jan Procházka², Jiří Hrdý¹,

¹Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova

²České centrum pro fenogenomiku, BIOCEV, Vestec

První intenzivní interakce mezi mikrobiotou a člověkem se odehrává v období těsně po porodu. Imunitní systém se setkává s širokou paletou mikroorganismů, které kolonizují gastrointestinální trakt novorozence. Právě toto období je důležité pro vytvoření optimální imunitní odpovědi proti složkám mikrobioty včetně nastavení tolerance na neškodné antigeny. Ovlivnění těchto událostí pomocí časně postnatálního podání probiotické bakterie *E. coli* O83:K24:H31 (EcO83) novorozencům vede k nižší incidenci alergií v pozdějším věku. *In vitro* se nám podařilo prokázat, že EcO83 silně stimuluje myší dendritické buňky k produkci prozánětlivých cytokinů, ale i protizánětlivého interleukinu 10. Ke studiu kolonizační schopnosti EcO83 v novorozeneckém gastrointestinálním traktu jsme zvolili metodu bioimagingu. Ovlivnění genové exprese po postnatálním podávání EcO83 bylo stanoveno pomocí kvantitativní RT-PCR. Časně postnatální podávání EcO83 vedlo k efektivní kolonizaci gastrointestinálního traktu novorozence ve srovnání s dospělými jedinci. Rovněž jsme pozorovali vliv přítomnosti EcO83 ve střevě na zvýšení exprese *IL10* a genů pro formaci těsných spojů mezi střevními epitelálními buňkami. Postnatální podání EcO83 vede ke kolonizaci gastrointestinálního traktu novorozence, stimuluje jeho slizniční imunitní systém a nastavuje tolerogenní prostředí ve střevě.

Klíčová slova: *E. coli* O83:K24:H31; mikrobiota; probiotika; interleukin 10; tolerance.

Projekt byl podpořen GAUK 478119, IMMU 207032.

Slovo o mikrobiomu: úvaha nad pojmoslovím vzkvétajícího oboru

Viktor Černý, Jiří Hrdý

Ústav imunologie a mikrobiologie, 1.LF UK

Mikrobiomová věda je nauka o složitých mikrobiálních společenstvech, nacházejících se v celé řadě prostředí. Zabývá se kromě studia složení takových mikrobiálních konsorcií také vzájemnými prostorovými i funkčními vztahy jejich členů i jejich komplexními vlastnostmi a vlivem na další konstituenty prostředí včetně makroorganismů. Výzkum zaměřený na mikrobiom je v současnosti jedním z nejdynamičtěji se vyvíjejících podoborů mikrobiologie a zaujímá významné postavení nejen v lékařských vědách a biologii, ale také v oblastech úzce i vzdáleně souvisejících – mezi jinými v nauce o půdě a zemědělství, potravinářství, lesnictví, a také průmyslu. Vzhledem ke složitosti a implicitní multidisciplinaritě tématu je pro odbornou komunikaci v tomto oboru obzvláště důležitá jednoznačnost a jasnost odborné terminologie, které je nicméně v důsledku dlouholeté nejednotnosti zapříčiněné metodickými rozdíly mezi jednotlivými větvemi mikrobiomového výzkumu obtížné dosáhnout. Teprve v posledních letech začal být mezinárodní mikrobiologickou komunitou vyvíjen tlak na sjednocení používaného terminologického úzu do podoby, která zajistí jednotný odborný obsah pojmů, popisujících základní elementy mikrobiomu a jeho konstituentů, a umožní efektivní a jednoznačnou odbornou komunikaci napříč obory i jazyky. Příspěvek má za cíl seznámit akademickou obec s historickými a metodickými příčinami pojmoslovné nejednoznačnosti, která dosud v rámci odborného diskursu doznívá, i s navrženou koncepcí jednotné mikrobiomové terminologie pro používání v rámci tuzemské i zahraniční odborné komunikace.

Klíčová slova: Mikrobiom; mikrobiota; mikrobiomová věda; terminologie.

Podpořeno Výzkumným programem Karlovy Univerzity Cooperatio (výzkumná oblast Imunologie a infekce) číslo IMM207032.

Změny ve složení střevní mikrobioty a metabolitů u patientek s mentální anorexií

Radka Roubalová¹, Petra Procházková¹, Tereza Kovářová¹, Petra Tomášová¹, Martina

Čermáková¹, Hana Papežová²

¹*Mikrobiologický ústav AV ČR*

²*Psychiatrická klinika 1. LF UK*

Vzájemné interakce na ose mikrobiota-střevo-mozek jsou v posledních letech velice intenzivně studovány v kontextu s nejrůznějšími neuropsychiatrickými onemocněními. Vzhledem k tomu, že patofyziologie mentální anorexie není zcela objasněná, lze předpokládat, že změna střevní mikrobioty a jejích metabolitů může s vývojem tohoto onemocnění také souviset. Analyzovali jsme složení a diverzitu střevního mikrobiomu a mikrobiálních metabolitů u patientek s mentální anorexií a jejich změnu během hospitalizace a porovnali je s hodnotami zdravých žen. Dále jsme sledovali některé biochemické, imunologické a antropometrické parametry. Naše studie ukazuje odlišnosti ve střevním mikrobiomu a metabolomu u patientek s mentální anorexií oproti zdravým ženám. Detekovali jsme bakteriální zástupce, kteří by mohli hrát roli ve vývoji mentální anorexie.

Klíčová slova: Mentální anorexie; mikrobiom; metabolom; imunitní systém.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU22-04-00010.

Vztah mezi mikrobiomem střeva, mikrobiomem kůže a atopickou dermatitidou u dětí

Dana Nováková¹, Štěpánka Čapková²

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

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

V posledních desetiletích se celosvětově zvyšuje prevalence alergických onemocnění. Mezi nejčastější alergická onemocnění v raném dětském věku patří atopická dermatitida (AD). Jedná se o velmi zatěžující onemocnění. Způsobuje významné zhoršení kvality života.

Je známo mnoho faktorů, které ovlivňují manifestaci a závažnost AD, včetně rasy, prostředí a dysfunkce kožní bariéry. Řada studií věnuje pozornost poruchám regulace imunity. Důležitou součástí správné imunitní funkce je vyvážené mikrobiální osídlení. Správné osídlení střeva a kůže během raného života je významné v prevenci AD. Je popsán vztah vyváženého mikrobiálního osídlení střevní sliznice, dozráváním střevní sliznice a správnou imunitní funkcí gastrointestinálního traktu i celkovou imunitou. U atopické dermatitidy má významnou roli také individuální mikrobiální osídlení kůže.

Autorky referují o aktuálních znalostech vztahu mikrobiomu kůže a střev. Věnují se také možnostem prevence léčbu atopické dermatitidy pomocí ovlivňování složení mikrobiomu.

Klíčová slova: Atopická dermatitida; mikrobiom střeva; mikrobiom kůže; imunita.

Kryoprotektivní efekt laktulózy a kvasničných beta-glukanů ve směsi se sójovým lecitinem vůči probiotickým taxonům bifidobakterií a laktobacilů

Jiří Killer^{1,2}

¹ *Laboratoř anaerobní mikrobiologie, Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR*

² *Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Česká zemědělská univerzita v Praze*

Kryoprotektivní efekt výše uvedených směsí za mírných podmínek běžného domácího mrazení (- 20 °C) byl potvrzen téměř u všech 12 taxonů bifidobakterií a laktobacilů. Ovšem obdobně jako u fenotypových a technologických vlastností, i zde byly zaznamenány mezidruhové odlišnosti. Laktulóza, uměle syntetizovaný disacharid z laktózy, je známé prebiotikum, které je ovšem v praxi využíváno jako laxativum a při léčbě hyperamonémie vedoucí k hepatické encefalopatii. Obzvláště houbové-kvasničné beta-glukany jsou farmaceuticky distribuované pro jejich imunostimulační a imunomodulační účinky, jejich prebiotický efekt je aktuálně studován. Lecitin je esenciální složkou potravy a reprezentuje nejčastěji používaný potravinářský emulgátor. Výsledky studie mohou být přínosné pro vývoj nových, mražených či lyofilizovaných, forem probiotik či synbiotik. Ty by měly být označovány jako nutriprobiotika či nutrisynbiotika, neboť kromě probiotických kultur a prebiotik obsahují navíc esenciální složku potravy. V dané souvislosti by mohly být studovány i jiné esenciální složky potravy, nenasycené mastné kyseliny, vitamíny, jiné di-, oligo- a jiné poly(di- či oligo)sacharidy.

Klíčová slova: Kryoprotektiva; technologické vlastnosti; bifidobakterie; laktobacily; laktulóza; lecitin.

Vliv podmínek skladování na životaschopnost mikroorganismů v probiotických doplňcích stravy

Eva Vlková, Veronika Kondelová, Lucie Vytlačilová, Nikol Modráčková, Kristýna Horváthová,
Šárka Musilová, Věra Neužil Bunešová

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

V doplňcích stravy s obsahem probiotik je obvykle deklarován obsah mikroorganismů v rozmezí 10^7 až 10^{10} v jedné tobolce/kapsli nebo v denní dávce. Výrobky většinou obsahují jeden nebo častěji kombinaci více mikrobiálních kmenů. Přestože je podávání probiotik aktuálním trendem, stále neexistují závazné legislativní požadavky upravující množství a druhové složení probiotických mikroorganismů v doplňcích stravy a nejsou dostupné ani platné postupy pro testování kvantitativního a kvalitativního zastoupení mikroorganismů v těchto produktech. Výrobce však musí dodržovat deklarované údaje.

Společnost pro probiotika a prebiotika (SPP) provádí testování probiotických výrobků a potravin s obsahem probiotik prostřednictvím laboratoře Katedry mikrobiologie, výživy a dietetiky ČZU v Praze podle platných norem a postupů popsanych ve vědecké literatuře. Podrobnosti o používaných metodách jsou dostupné na webu SPP www.probiotika-prebiotika.cz.

V rámci sledování vlivu teploty na životaschopnost probiotik ve výrobcích, které byly skladovány po dobu 6 měsíců při pokojové (22 °C) a chladničkové (6 °C) teplotě a také v mrazáku (-18 °C) byly kultivačně kvantifikovány celkové počty bakterií, bifidobakterie, laktobacily a streptokoky. Při skladování výrobků při 6 a -18 °C došlo pouze k mírnému poklesu počtu bakterií, přičemž množství bakterií v doplňcích stravy skladovaných v chladničce nebo mrazničce se významně nelišilo. Ke značnému poklesu nebo dokonce k úplné ztrátě životaschopnosti mikroorganismů došlo při skladování výrobků při pokojové teplotě (doporučený způsob skladování) a to během doby použitelnosti.

Z výsledků vyplývá, že teplota skladování významně ovlivňuje životaschopnost mikroorganismů v probiotických doplňcích stravy a pro dlouhodobé skladování je možné jednoznačně doporučit uchování v lednici nebo mrazničce.

Klíčová slova: Doplnky stravy; probiotika; deklarované počty; teplota skladování.

Práce byla podpořena projektem METROFOOD-CZ (MEYS Grant No: LM2018100).

Fermentované rostlinné výrobky a probiotika

Šárka Horáčková, Daniela Hanáková, Daniel Koval

Ústav mléka, tuků a kosmetiky, Vysoká škola chemicko-technologická

V současné době stoupá zájem o tzv. rostlinné alternativy mléčných výrobků, které zahrnují tekuté rostlinné nápoje, fermentované výrobky i náhražky sýrů. Ve fermentovaných rostlinných výrobcích vyráběných na bázi, sóji, kokosu, obilovin apod., jsou často používány mikrobiální kultury označené jako veganské nebo jako probiotické kultury. V příspěvku jsou shrnuty základní informace týkající se nutričního složení těchto výrobků a vlastností, které jsou u mikroorganismů pro tento typ vyžadovány. Jsou uvedeny výsledky růstu vybraných laktobacilů v přítomnosti fenolových kyselin a potvrzení jejich dekarboxylační aktivity. Dále je uveden přehled stanovení počtu jednotlivých druhů bakterií vyskytujících se v rostlinných fermentovaných výrobcích na českém trhu a pojednáno o legislativním vymezení těchto výrobků.

Klíčová slova: Bakterie mléčného kvašení; bifidobakterie; rostlinné alternativy.

