

PROBIOTIKA

Mgr. Lenka Kosečková Micenková, Ph.D.



OSNOVA

Definice

Historie

Výběr probiotických kmenů

Legislativa

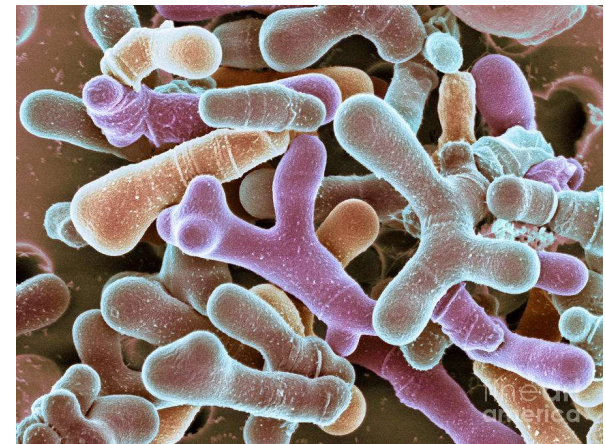
Ověřování kvality

Proč užívat probiotika?

Oblasti působení a forma

Probiotika

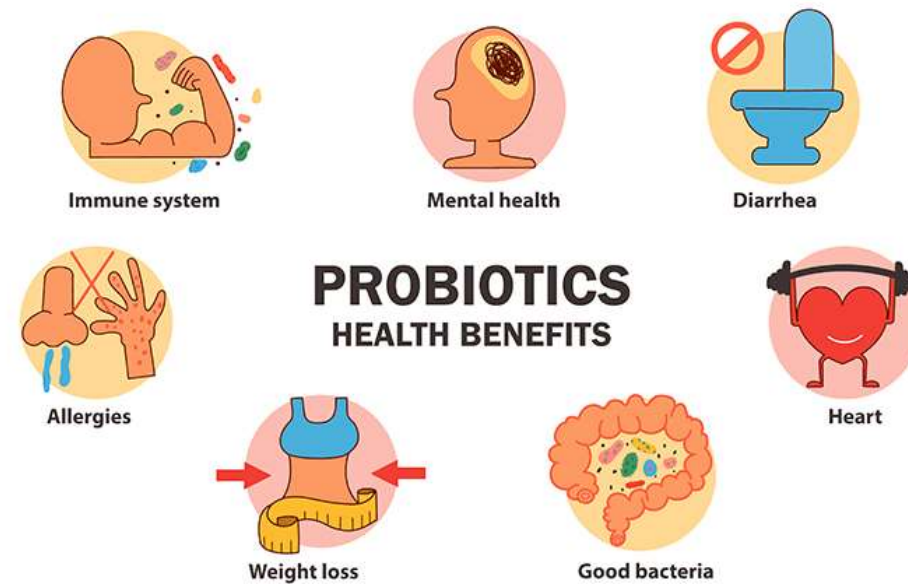
Závěr



DEFINICE

Probiotika

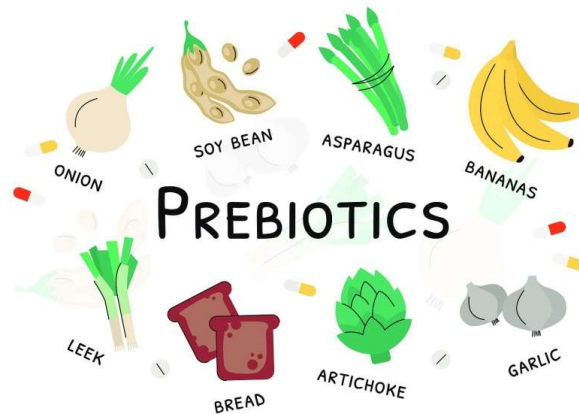
- živé mikroorganismy, které mají při správném dávkování pozitivní vliv na náš organismus.



DEFINICE

Prebiotika

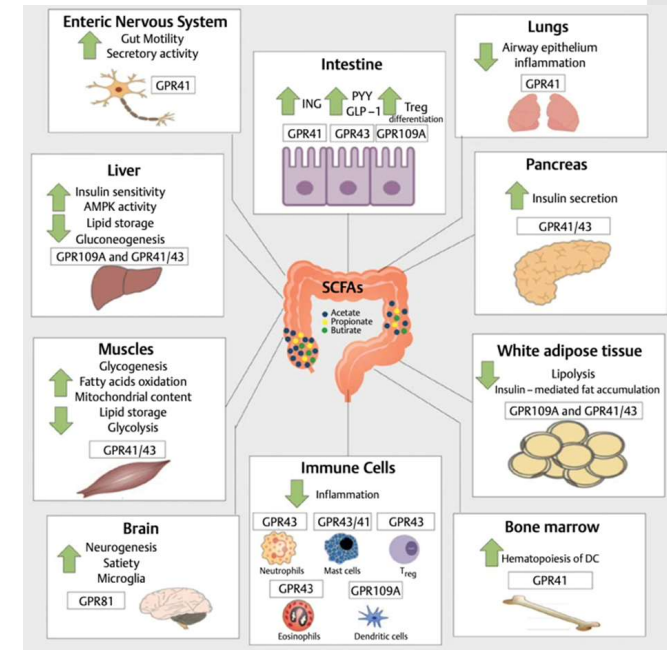
- nestravitelné oligosacharidy, které stimulují růst anebo aktivitu určité bakterie nebo skupiny bakterií, které mají pozitivní účinek na lidské zdraví.
- fermentací prebiotik vybranými skupinami bakterií v tlustém střevě dochází k produkci **SCFA**. Tím se snižuje pH a potlačuje růst patogenních a hnilobných bakterií, je podpořena tvorba střevní ochranné mukózy (slizu).



DEFINICE

SCFA (short-chain fatty acids)

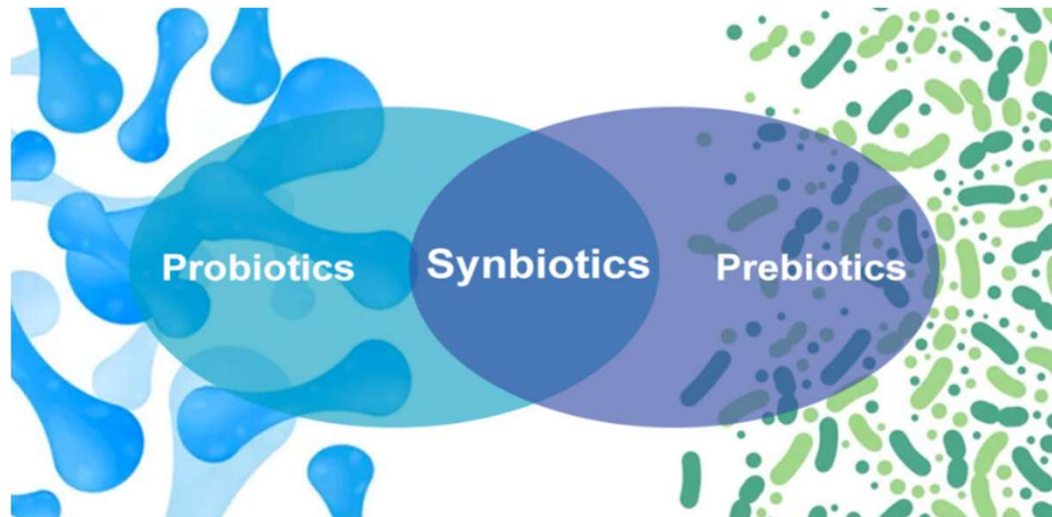
- acetát, propionát, butyrát.
- hlavní zdroj energie pro buňky střevního epitelu inhibice proliferace rakvinných buněk.
- protizánětlivé a imunomodulační účinky.
- normální kolonocyty – **ZABRAŇUJE apoptóze** (v nepřítomnosti butyrátu naopak masivní apoptóza).
- tumorové/maligní buňky – **ZVYŠUJE apoptózu**.
- inhibice pro-metastatických a aktivace anti-metastatických genů.
- malé molekuly: průnik přes hematoencefalickou bariéru a ovlivnění mozkové funkce.
- *Roseburia spp.*, *Faecalibacterium prausnitzii* a *Eubacterium rectale*



DEFINICE

Synbiotika

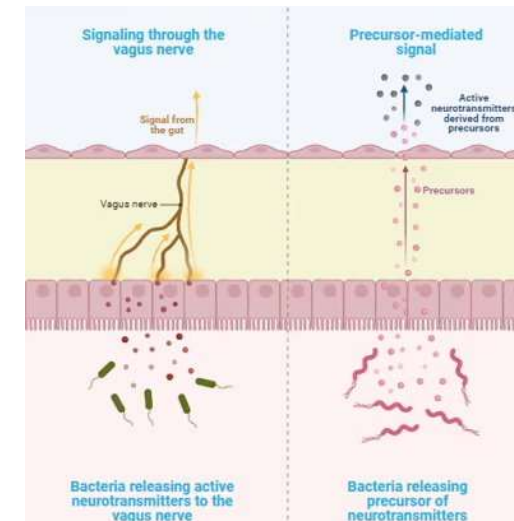
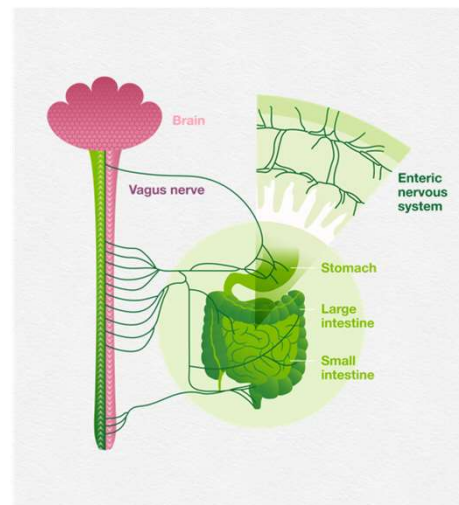
- kombinace probiotik a prebiotik, přičemž se očekává tzv. **synergický účinek** od těchto dvou složek.



DEFINICE

Psychobiotika

- prospěšné bakterie (probiotika) nebo jejich podpora (prebiotika – nestravitelné **oligosacharidy a vláknina**), které ovlivňují vztahy mezi bakteriemi a mozkiem.
- neuroaktivní látky produkované psychobiotikama, jako jsou dopamin, kyselina gama máselná a další, ovlivňují náladu a mají anxiolytické (zmírňující úzkost) a antidepresivní účinky.



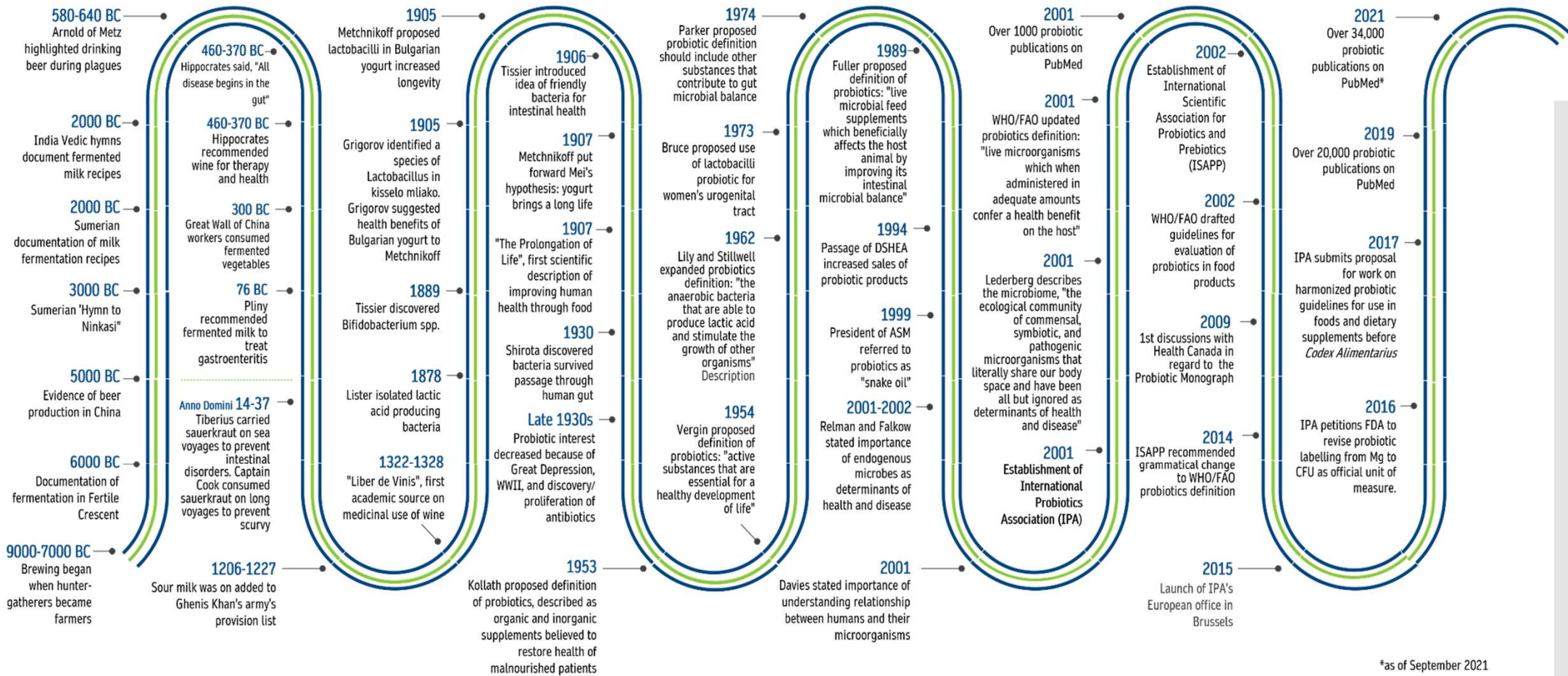
DEFINICE

Postbiotika

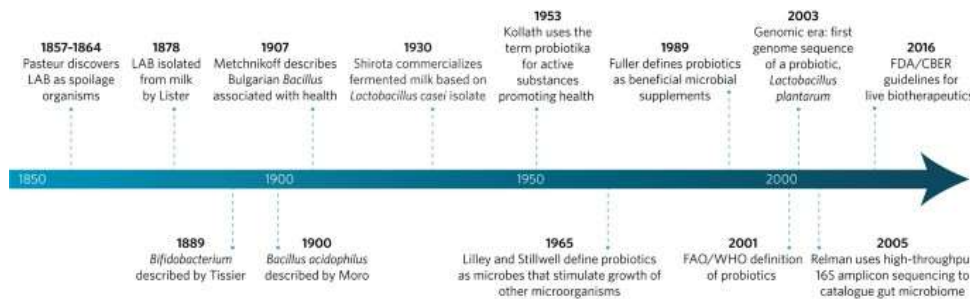
- bioaktivní látky vznikající činností prospěšných bakterií (probiotik), které se běžně nachází v našem trávicím traktu, a také zbytky buněk těchto prospěšných bakterií. Jedná se o látky, jako mastné kyseliny s krátkým řetězcem, enzymy, organické kyseliny, vitamíny a další.

Proteobiotika

- peptidy obsahující přibližně 4 až 8 aminokyselin.

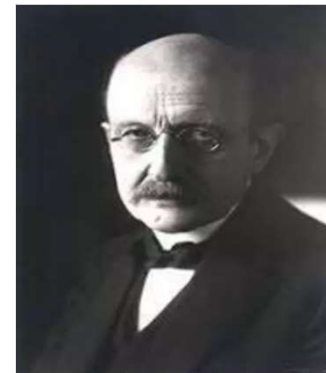
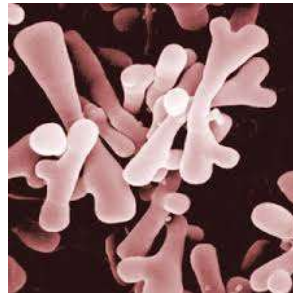


*as of September 2021



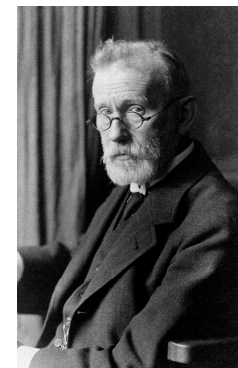
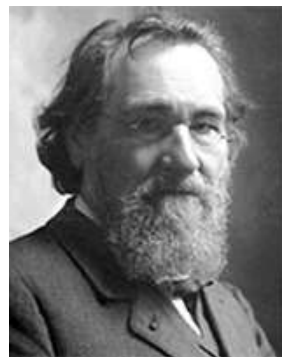
HISTORIE

- V roce 1889 francouzský pediatr Henry Tissier izoloval důležitou probiotickou bakterii *Bifidobacterium*, která je dominantním střevním mikroorganismem u kojených dětí a nazval ji *Bacillus bifidus communi*.
- V roce 1906 zjistil, že stolice dětí s průjmem obsahovala malé množství bifidobakterií ve srovnání se stolicí zdravých dětí. Navrhl proto, aby se tyto bakterie podávaly pacientům s průjmem a pomohly jim obnovit zdravou střevní mikroflóru.



HISTORIE

- Ilya Iljič Mechnikov – ruský přírodovědec vytvořil teorii, že stáří je důsledkem otravy těla produkty některých bakterií ve flóře lidského střeva.
- Jako prostředek proti množení těchto mikroorganismů doporučoval stravu obsahující mléčné fermentované bakterie, především bulharské jogurty a kefír.
- V roce 1908 byl oceněn společně s Paulem Ehrlichem Nobelovou cenou za medicínu, za jejich objevy v oblasti imunity.

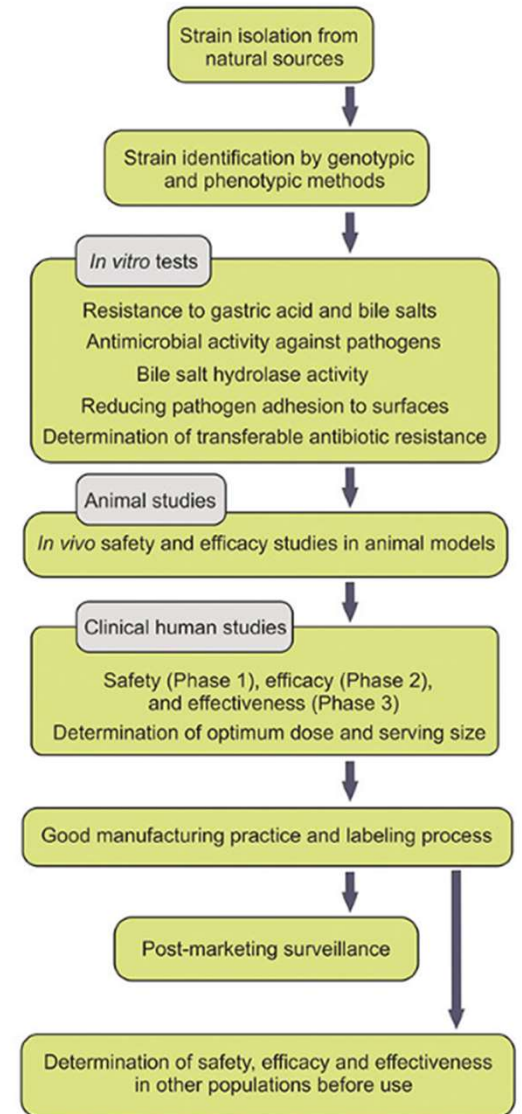


HISTORIE

- Pojem probiotikum použili vědci Lilly a Stillwell v roce 1965 k popsání látky, která byla produkována jedním organismem a která stimulovala růst organismu druhého.
- 2001 FAO (Food and Agriculture Organization) definovalo probiotika jako “live microorganisms which, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host”.
- 2013 the World Gastroenterology Organization published its global guidelines on probiotics and prebiotics, and confirmed that the efficacy of probiotics are strain-specific and dose-specific, dispelling the myth held by many that any yogurt can be considered a probiotic.

VÝBĚR probiotických kmenů

- příznivě ovlivňují zdraví člověka
- nepatogenní
- schopnost odolat procesům trávení, HCl, žluči
- upravují mikrobiální rovnováhu střeva, porušenou slizniční bariérou
- posilují střevní imunitní systém
- usnadňují eliminaci toxinů a eradikaci patogenních mikrobů
- aplikují se v živém stavu
- schopnost adherovat ke kolonocytům
- schopnost kolonizovat tračník
- bezpečnost
- mono nebo smíšené kultury mikroorganismů



Pokyny WHO pro izolaci a aplikaci probiotik.

Léčivý přípravek

- Pokud chcete registrovat léčivý přípravek pouze na území České republiky, můžete podat národní žádost o registraci léčivého přípravku.
- Žádost o registraci léčivého přípravku se podává Státnímu ústavu pro kontrolu léčiv.

Zákon č. 378/2007 Sb.

Zákon o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech)

Částka 115/2007
Platnost od 31.12.2007
Účinnost od 31.12.2007

Zařazeno v právních oblastech
› Správní právo
› Zdravotnictví
› Lékárny, léčiva

Probiotické doplňky stravy

- 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích, ve znění pozdějších předpisů oznamovací povinnost tak, že se přes odkaz na webových stránkách Ministerstva zemědělství přihlásí do svého účtu, kde vyplní složení a další vlastnosti výrobku a případně vloží i etiketu.

LEGISLATIVA

Legislativní požadavky na probiotické doplňky stravy

- doplňky stravy jsou zvláštní kategorií potravin, jsou definovány v § 2 písm. g) zákona o potravinách č. 110/1997 Sb. jako „potravinu, jejímž účelem je doplňovat běžnou stravu a která je koncentrovaným zdrojem vitaminů a minerálních látek nebo dalších látek s nutričním nebo fyziologickým účinkem, obsažených v potravine samostatně nebo v kombinaci, určená k přímé spotřebě v malých odměřených množstvích“.
- problematiku doplňků stravy upravuje na národní úrovni vyhláška č. 58/2018 Sb., o doplňcích stravy a složení potravin. Evropským předpisem pro oblast doplňků stravy je Směrnice Evropského Parlamentu a Rady 2002/46/EC ze dne 10. června 2002 o přiblížení legislativy členských států týkající se doplňků stravy.
- žádný z těchto předpisů však neupravuje minimální počty probiotických bakterií v potravinových doplňcích ani metodiku pro ověřování kvality a kvantity deklarovaných mikroorganismů.
- výrobce je povinen dodržet informace uvedené na etiketě výrobku.

LEGISLATIVA

- tato legislativní mezera tak dává prostor pro nejasnosti a dává možnost výrobcům uvádět nekompletní, resp. nepravdivé údaje.
- deklarované počty a druhové zastoupení se často neshodují se skutečným počtem mikroorganismů v preparátech. V České republice podléhají doplňky stravy doзору Státní zemědělské a potravinářské inspekce (SZPI).
- osoba uvádějící doplněk stravy na trh nese plnou odpovědnost za to, že bude zdravotně nezávadný. Musí vyrábět nebo dovážet výrobek ve stejné kvalitě, ve které byl schválen nebo notifikován.
- podle evropské legislativy, konkrétně Nařízení (ES) č. 1924/2006 o výživových a zdravotních tvrzeních při označování potravin, nelze v EU prodávat výrobky, které uvádějí, že jsou probiotika, že jsou probiotické nebo že mají v této souvislosti specifické zdravotní účinky.
- používání výrazu „probiotikum“ se považuje za neoprávněné zdravotní tvrzení, protože pro probiotika neexistují žádná schválená zdravotní tvrzení ze strany Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA), a to i navzdory mnoha předloženým žádostem. Výrobky tedy musí být označovány pouze konkrétním kmenem bakterií.

LEGISLATIVA

- nicméně přístup k tomuto označení může být v různých státech EU odlišný. Příkladem je i situace v České republice, kde se považuje označení „obsahuje probiotika/prebiotika“ nebo „s bifidokulturou“ ne za zdravotní, ale za výživové tvrzení, které je možné používat při označení potravin v režimu kvantifikace přítomných probiotik.
- použití označení je možné za splnění podmínek pro užití tvrzení „obsahuje (název živiny nebo jiné látky)“ uvedeného v příloze nařízení (ES) č. 1924/2006 o výživových a zdravotních tvrzeních při označování potravin.
- tento přístup je uplatňován při provádění dozorové činnosti u provozovatelů potravinářských podniků ze strany SZPI a Státní veterinární správy (specifikováno v Příručce pro provozovatele potravinářských podniků k označování potravin podle předpisů EU, vydané Ministerstvem zemědělství, 2018).

OVĚROVÁNÍ KVALITY

- v České republice je v současné době registrováno více než 100 druhů doplňků stravy s obsahem probiotik a prebiotik (Registr rozhodnutí hlavního hygienika, 2020).
- obsah mikroorganismů je vyjadřován obvykle jako 10^n v jedné tobolce/kapsli nebo v denní dávce.
- deklarovaná množství mikroorganismů se pohybují v rozpětí řádů 10^6 až 10^{10} buněk.
- **CFU** – colony forming units
- kontrola doplňků stravy na českém trhu: je pověřena Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI). Provádí kontrolu deklarovaných složek, kontrolu nepovolených látek záměrně přidaných (sildenafil u přípravků na podporu erekce), nebo látek kontaminujících (olovo, mykotoxiny). V případě podezření, že doplněk stravy není v pořádku, je možno se na SZPI obrátit prostřednictvím speciálního formuláře uvedeného na webových stránkách SZPI.

OVĚROVÁNÍ KVALITY

Nejčastější nedostatky:

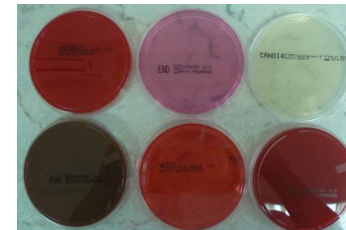
- počet živých mikroorganismů (zejména ke konci doby trvanlivosti), který je v mnoha případech nižší než deklarovaný.
- mikroorganismy nejsou pojmenovány v souladu s platnou vědeckou nomenklaturou.
- tvrzení o účinnosti produktu nejsou adekvátně odůvodněna; termín „probiotický“ je užíván neoprávněně, tj. i v případě, kdy není kmen jasně definován a neexistuje žádná vědecká studie o příznivých účincích na lidské zdraví.
- výrobek je křížově kontaminován druhy, které na etiketě nejsou uvedeny.

OVĚROVÁNÍ KVALITY

Možnosti ověřování kvality probiotických doplňků stravy

Klasické kultivační metody

- lze stanovovat životaschopné buňky a jsou založeny na principu použití selektivního prostředí.
- zvýhodňují růst jednoho druhu nebo cílové skupiny organismů, růst ostatních druhů je inhibován.
- selektivní média obsahují inhibiční složku nebo naopak některá základní složka chybí, což zvýhodňuje a cíleně izoluje prokazované rody a druhy.
- lze využít dostupných selektivních médií a případně norem pro stanovení daných skupin/rodů nebo druhů bakterií.
- normy jsou často vázané na mléčné produkty a omezují se pouze na stanovení počtu charakteristických mikroorganismů v jogurtu (ČSN ISO 7889, ČSN ISO 9232) a stanovení počtu *Lactobacillus acidophilus* (ČSN ISO 20128).



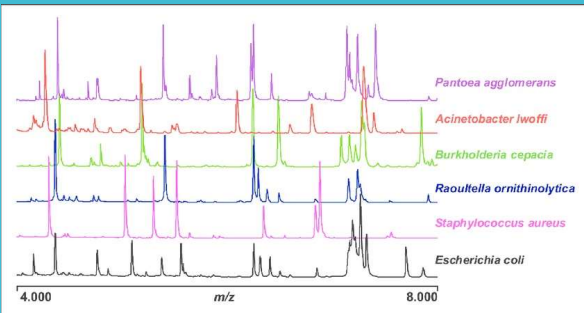
OVĚROVÁNÍ KVALITY

Možnosti ověřování kvality probiotických doplňků stravy

Klasické kultivační metody

- nejsou dosud navrženy žádné závazné legislativní dokumenty pro *Lactobacillus*, neboť selektivita médií je často problematická.
- mezinárodní standard pro selektivní stanovení počtu bifidobakterií v mléčných výrobcích již existuje pod označením ISO 29981:2010 (ISO = International Organization for Standardization).
- transgalaktosylovaný oligosacharid (TOS) propionátový agar doplněný antibiotikem mupirocinem.
- bylo ale zjištěno, že médium doporučené normou ISO nelze považovat za plně selektivní a vhodné pro stanovení všech druhů rodu *Bifidobacterium*.

OVĚROVÁNÍ KVALITY



Možnosti ověřování kvality probiotických doplňků stravy

- MALDI-TOF (hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátozem: matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry).
- rychlá technika pro identifikaci prokaryot, analýzu biomarkerů intaktních virů a spor.
- v případě bakteriálních buněk jsou analyzovány složky bakteriálního proteomu uvolněné narušením buněčné stěny rozpouštědly.
- bakteriální kultura se odebírá buď z tekutého media po centrifugaci nebo z pevného media na agarových plotnách.
- zpracování hmotnostních spekter zahrnuje identifikaci a kvantifikaci píků, výpočet podobnosti mezi proteinovými spektry, seskupení dat a identifikaci vzorku v rámci rodu a druhu, případně typizaci kmene. Profil je druhově i kmenově specifický a proto jej lze využít k identifikaci neznámého vzorku i k autentizaci bakteriálního kmene, což je významné například u nozokomiálních infekcí.
- důležitým předpokladem pro úspěšnou identifikaci na rodovou a druhovou úroveň je mít k dispozici čistou bakteriální kulturu, čemuž předchází kultivace.
- problém v případě multidruhových produktů, jelikož není jednoduché získat zástupce všech přítomných druhů ve výrobku.

OVĚROVÁNÍ KVALITY

Možnosti ověřování kvality probiotických doplňků stravy

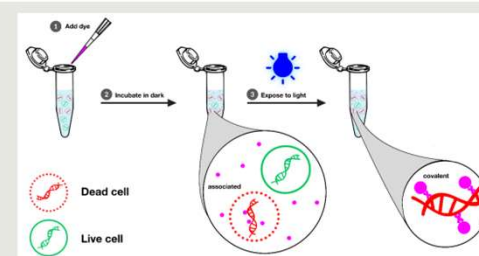
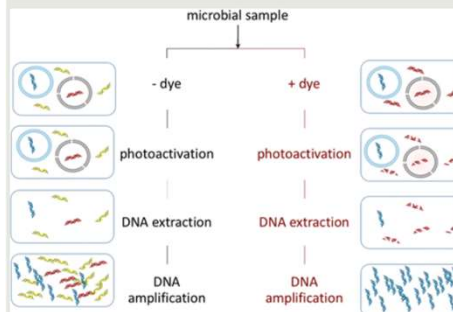
Metody molekulární biologie

- rychlejší, citlivější a specifitější.
- nepoužívanější molekulární metoda pro identifikaci a detekci probiotických bakterií je polymerázová řetězová reakce (PCR) a její modifikace.

Viability PCR

- využívá fotoreaktivní barviva, jako jsou PMA k inaktivaci DNA mrtvých buněk před PCR.

Extracelulární DNA a DNA z mrtvých buněk



Propidium monoazid (PMA) - fotoreaktivní barvivo vázající se přednostně na dsDNA.

Viditelné světlo vyvolá fotoreakci chemické látky, která povede ke kovalentní vazbě PMA s dsDNA.

Tento proces způsobí, že se DNA stane nerozpustnou, což vede k její ztrátě při následné extrakci genomové.

OVĚROVÁNÍ KVALITY

Ukázka testu: rok 2020 - mikrobiologické vyšetření vybraných probiotických přípravků pro dospělé dostupné v ČR

Název produktu	Velikost balení	Forma	Výrobce/distributor	Deklarace v kapsli			Vyhověl/nevyhověl deklarovanému množství v kapsli
				Bifidobakterie	Laktobacily	Kvasinky	
Naturevia Laktobacily 5	66	kapsle	Swiss Herbal	15 miliard			VYHOVĚL
Dr.Max Laktobacily 6	60	kapsle	Dr.Max	5 miliard			VYHOVĚL
Linex FORTE 2	28	kapsle	Novartis	2 miliardy			VYHOVĚL
Apo-Lactobacillus	30	kapsle	Apotex	12 miliard			VYHOVĚL
Biopron FORTE	30	kapsle	Walmark		5 miliard		VYHOVĚL
Bio-Kult 14	60	kapsle	Probiotics Provita	2 miliardy			VYHOVĚL
GS Superky 21	40	kapsle	Green Swan Pharmaceuticals	10 miliard			VYHOVĚL
Biopron 9	40	kapsle	Walmark	4,5 miliardy			NEVYHOVĚL
GS Superky Antibio 40	10	kapsle	Green Swan Pharmaceuticals	20 miliard			VYHOVĚL
Dr.Max Rebiomax	10	kapsle	Dr.Max		11 miliard		VYHOVĚL
Biopron 9 Premium	30	kapsle	Walmark	10 miliard			VYHOVĚL

U všech přípravků, kromě jediného, deklarovaný obsah skutečně odpovídá naměřenému množství a dokonce jej lehce překračuje. Deklarovaného množství nedosáhl pouze jediný přípravek, a tím byl Biopron 9, kde bylo naměřeno 2,9 miliard vs. deklarovaných 4,5 miliard CFU v kapsli. Čím vyšší počet miliard, tak tím z pohledu účinku i lépe.

PROČ UŽÍVAT PROBIOTIKA?

Udržování zdravého mikrobiomu

„přátelská“ střevní mikrobiota soutěží s pronikajícími patogeny

- obsazení attachment sites
- vyčerpání zdrojů živin
- produkce antimikrobiálních látek
- stimulace produkce antimikrobiálních látek hostitelem

Dysbioza

změna složení mikrobiomu

Komenzální bakterie –
oportúnne patogény



PROČ UŽÍVAT PROBIOTIKA?

Orgánová soustava	choroba/příznak
<i>kůže</i>	lupenka (psoriasis) akné atopická dermatitida
<i>trávicí trakt</i>	Ústní mikrobiom zubní kaz a periodontitida Obezita Crohnova choroba jícnový adenocarcinom nekrotizující enterokolitida ulcerózní kolitida syndrom dráždivého tračníku
<i>urogenitální trakt</i>	bakteriální vaginóza sexuálně přenosné choroby
<i>kombinace orgánových systémů</i>	imunodeficience horečnaté stavy

OBLASTI PŮSOBENÍ A FORMA

Oblasti působení

- Ústní dutina – dentální probiotika
- Gastrointestinální trakt
- Urogenitální trakt
- Kůže
- Dýchací cesty
- Imunitní systém
- Centrální nervový systém – psychobiotika

Forma

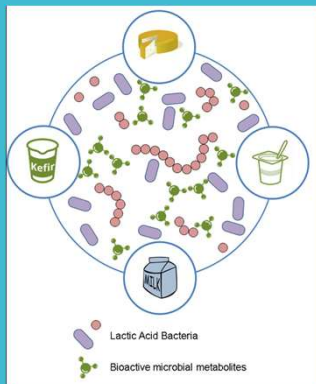
- Prášek – lyofilizované kultury, kapsle, sprej, kapky, čípky, hygienické vložky, probiotické pastilky, žvýkací tablety, zubní pasty

PROBIOTIKA

Nejběžnější probiotické rody

- **Bakterie mléčného kvašení (LAB - Lactic acid bacteria)** představují rozmanitou skupinu grampozitivních, nesporulujících, katalázově negativních organismů, které se vyskytují v řadě biotopů – *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*
- *Bifidobacterium*
- *Bacillus*
- *Escherichia*
- Kvasinky – *Saccharomyces*

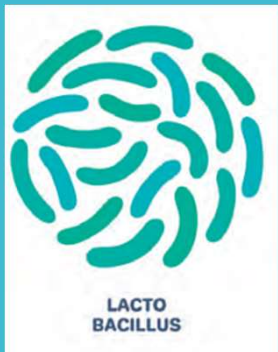
PROBIOTIKA



Bakterie mléčného kvašení (LAB - Lactic acid bacteria)

- produkce antimikrobiálních látek *in situ*.
- vyrovnávání složení střevních komenzálních mikroorganismů a soupeření s invazivními patogeny o ekologické niky a metabolické substráty.
- LAB jsou tradičně přítomny v mléčných výrobcích a podílejí se na různých vlastnostech a kvalitě konečných výrobků, čímž pomáhají udržovat zdraví.
- některé LAB přijímané v mlékárenském průmyslu jako zákysy jsou skutečně klasifikovány jako probiotika díky své schopnosti předcházet nemocem a léčit je a modulovat imunitní reakce hostitele.
- kvašené mléko, sýry, jogurty a keфіry jsou primárními zdroji probiotických LAB a jejich konzumace je prokazatelně spojena s příznivými účinky na zdraví.
- během fermentace mléka jsou některé laktobacily schopny uvolňovat peptidy s vysokou afinitou k ACE2 (angiotensin-konvertující enzym 2), vstupnímu receptoru hostitele viru SARS-CoV-2.
- SARS-CoV-2 je spojena s imunitní dysfunkcí a změnami střevního mikrobiomu, mohlo by podávání probiotik představovat novou a slibnou terapii pro prevenci a léčbu infekce SARS-CoV-2.
- osa mozek – střevo: terapeutická role probiotik LAB u neurodegenerativních onemocnění.

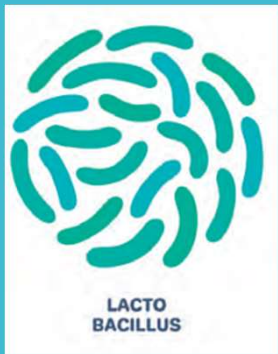
PROBIOTIKA



rod *Lactobacillus*

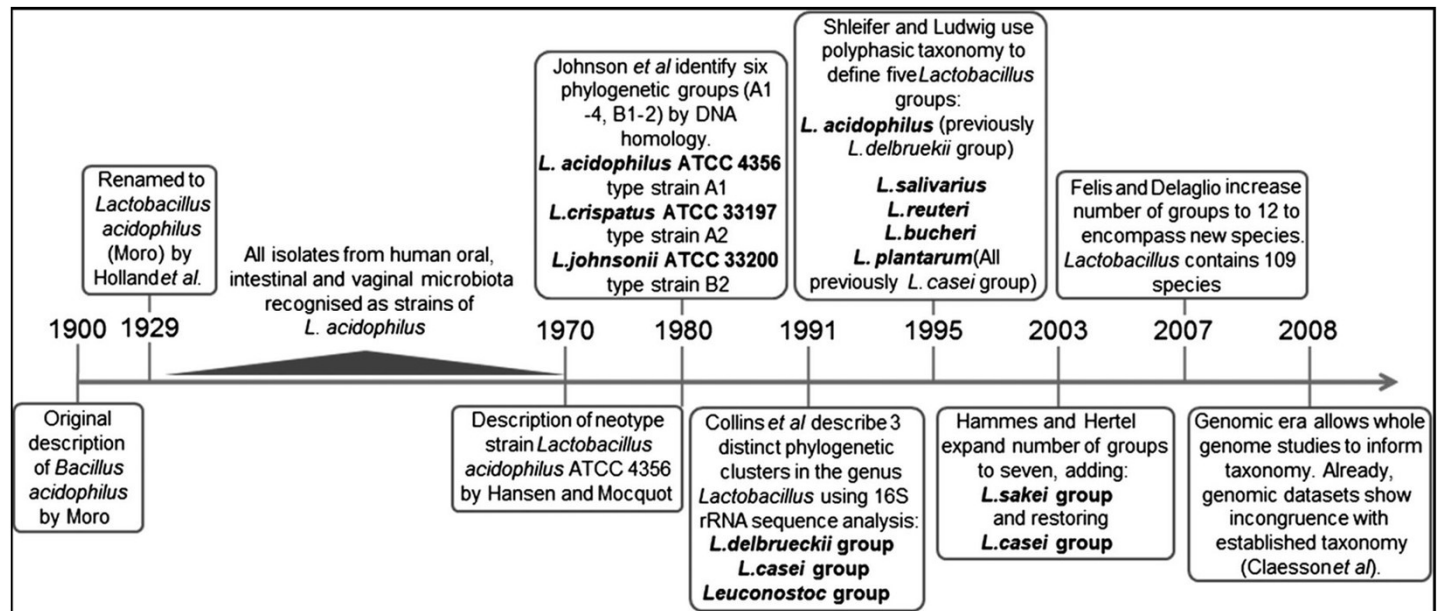
- grampozitivní, rozkládají laktózu a jiné cukry na kyselinu mléčnou.
- součást střevního a vaginálního mikrobiomu.
- některé laktobacily se používají při výrobě jogurtu, sýra, kysaného zelí, nakládaných okurek, piva, cideru, vína, a dalších typů fermentovaných (kvašených) potravin.
- změny v nomenklature rodu *Lactobacillus*:
- rod *Lactobacillus* rekvalifikace cca 261 druhů do 25 rodů včetně pozměněného rodu *Lactobacillus*, který zahrnuje bakterie, které byly označovány jako skupina *Lactobacillus delbrueckii*, *Paralactobacillus* a 23 nových rodů: *Holzapfelia*, *Amylolactobacillus*, *Bombilactobacillus*, *Companilactobacillus*, *Lapidilactobacillus*, *Agri lactobacillus*, *Schleiferilactobacillus*, *Loigolactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Latilactobacillus*, *Dellaglioia*, *Liquorilactobacillus*, *Ligilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Furfurilactobacillus*, *Paucilactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Fructilactobacillus*, *Acetilactobacillus*, *Apilactobacillus*, *Levilactobacillus*, *Secundilactobacillus* a *Lentilactobacillus*.

PROBIOTIKA



rod *Lactobacillus*

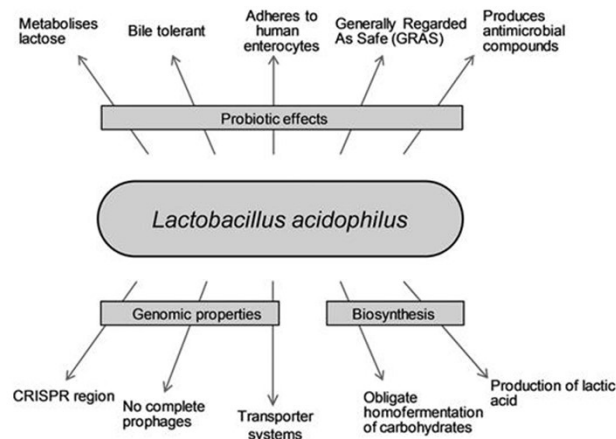
- *Lactobacillus acidophilus* má všeobecně uznávané probiotické účinky a je jedním z nejčastěji používaných probiotických mikroorganismů.



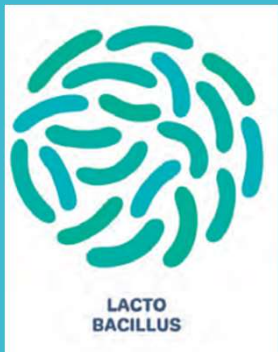
rod *Lactobacillus*

Lactobacillus acidophilus

- hlavní komerční druh bakterií mléčného kvašení (LAB), který je k dispozici ve výrobcích včetně mléka, jogurtů a kojenecké výživy, jakož i v doplňcích stravy s uváděnými probiotickými účinky.
- je součástí mnoha nedefinovaných startovacích kultur pro fermentaci mléka, což je konzervační proces vyvinutý v raném neolitu a používaný při výrobě tradičních fermentovaných potravin již více než 10 000 let.
- jeho pomalý růst v mléce znamená, že většina fermentace v mléčných výrobcích se provádí pomocí jogurtové startovací kultury (např. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*) a *L. acidophilus* se následně přidává pro další probiotickou hodnotu.



PROBIOTIKA



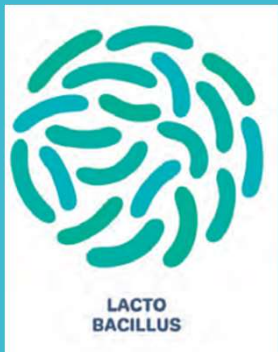
rod *Lactobacillus*

1935 Minoru Shirota

- v Japonsku izoloval a kultivoval kmen rodu *Lactobacillus* schopný přežít průchod trávicím ústrojím.
- tato kultura byla pojmenována *Lactobacillus casei* kmen Shirota a začala se používat k výrobě fermentovaného mléka zvaného Yakult.



PROBIOTIKA



rod *Lactobacillus*

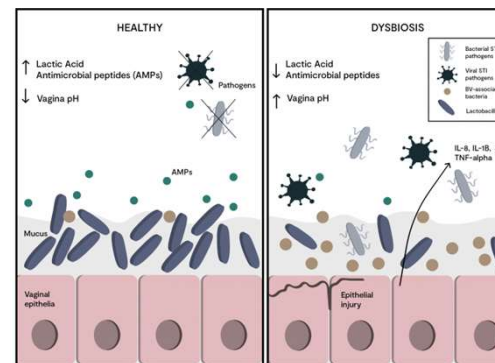
Vaginální mikrobiom – vaginózy, předčasné porod.

Bakteriální zánět pochvy – colpitis bacterialis

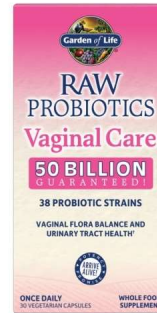
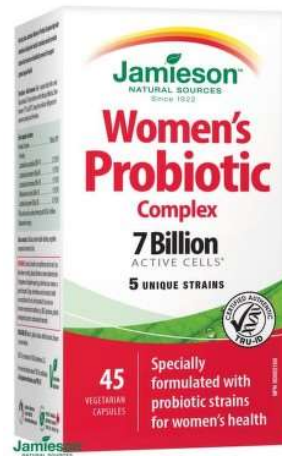
- přítomny známky zánětu, pocity pálení až bolesti v oblasti pochvy a zevních rodidel. Potíže postupně ustupují, ale často přechází do chronicity.
- zánět je nejčastěji způsoben přemnožením a agresivním chováním některými obligatorně patogenními kmeny bakterií, převážně aerobních, jako jsou streptokoky, stafylokoky, enterokoky, a hlavně *Escherichia coli*.

Bakteriální vaginóza

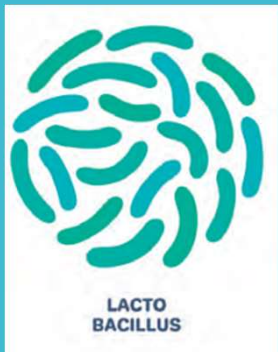
- bakteriální vaginóza u 40–50 % žen s výtokem .
- pokles počtu laktobacilů, vzestupem počtu obligátních anaerobů – *Gardnerella vaginalis* a převážně anaerobních bakterií, *Bacteroides*, *Peptostreptococci*, *Mycoplasma hominis* a *Mobiluncus*. Klinicky je typický vodnatý fluor páchnoucí po rybách.



Probiotické přípravky (nejen) s laktobacilmi – čípky, vločky..



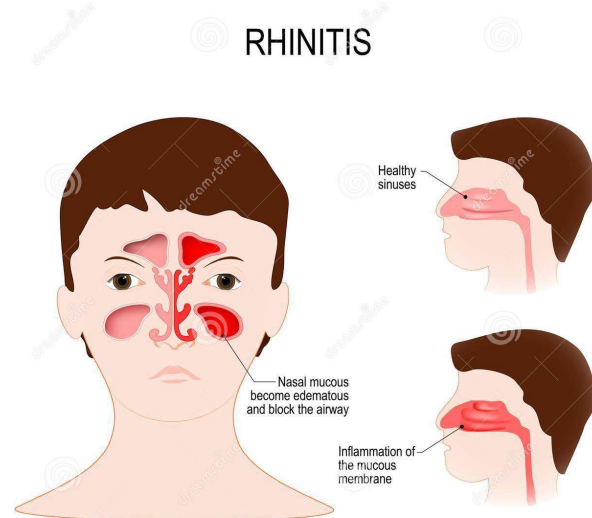
PROBIOTIKA



Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium longum, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus brevis, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus casei, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus kefirianofaciens, Lactobacillus kefirgranum, Lactobacillus rhamnosus, Lactococcus lactis, Lactococcus cremoris, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus kefir, Lactobacillus parakefir, Lactobacillus plantarum, Lactococcus lactis biovar diacetylactis, Leuconostoc lactis, Leuconostoc mesenteroides, Leuconostoc cremoris, Leuconostoc dextranicum, Kluyveromyces marxianus, Brettanomyces anomalus, Debaryomyces hansenii, Saccharomyces unisporus, Saccharomyces turicensis, Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces exiguus, Torulaspora delbrueckii

NASÁLNÍ MIKROBIOM

- chronická rhinosinusitida: snížení diverzity
- *Lactobacillus sakei* – ochranná funkce
- *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium tuberculostrictum*



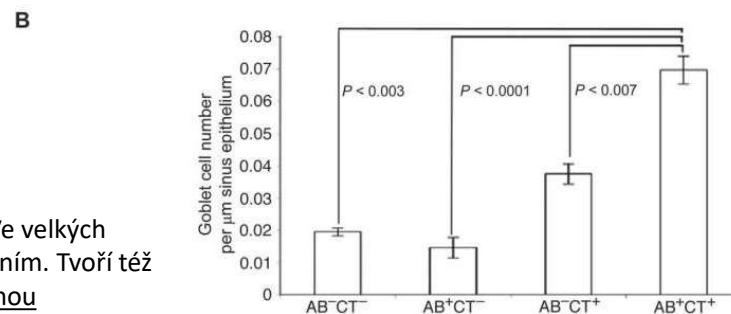
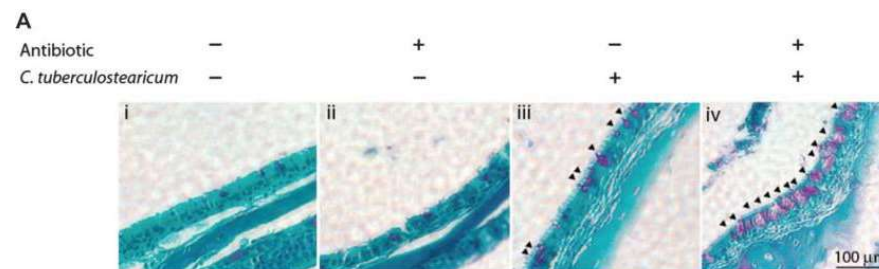
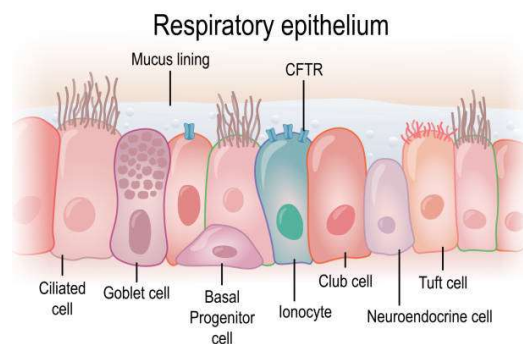
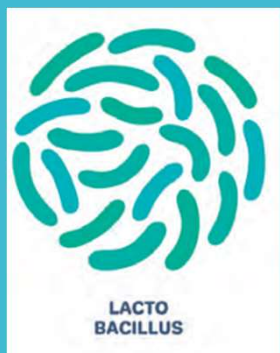
Chronickou rhinosinusitidu definujeme jako zánět sliznice paranazálních dutin trvající déle než 12 týdnů nebo recidivující častěji než 8x do roka. Chronická rhinosinusitis představuje jednu z nejčastějších problematik řešených v otorhinolaryngologické praxi. Podle statistik NIH je prevalence tohoto onemocnění v USA přibližně 152/1000 obyvatel (včetně případů alergické rhinosinusitis), každoročně je v USA diagnostikováno okolo 34,9 milionu pacientů s chronickou rhinosinusitidou.

Nasální mikrobiom

Histological examination of the sinus mucosa demonstrated that the untreated control and the antibiotic-treated animals did not exhibit aberrant epithelial physiology, whereas instillation of large numbers of *C. tuberculostearicum* in the presence of a replete sinus microbiota elicited a modest increase in the number of mucin-secreting goblet cells

Because **mucin hypersecretion** is a hallmark of respiratory infection and chronic sinusitis, these data confirm that *C. tuberculostearicum* is capable of inducing a characteristic host response to pathogenic microbes and that this phenotype is significantly augmented under conditions of depleted sinus microbiota.

PROBIOTIKA



Mucin je označení pro velkou skupinu glykoproteinů produkovaných epitelovou tkání u většiny zvířat. Ve velkých koncentracích se nacházejí na sliznicích a ve slinách, kde usnadňují polykání a chrání ústa před poškozením. Tvoří též hlen (mucus). Mucin na povrchu sliznice žaludku tvoří jemný film a chrání ji tak před natrávením kyselinou chlorovodíkovou, která je součástí žaludečních šťáv.

PROBIOTIKA

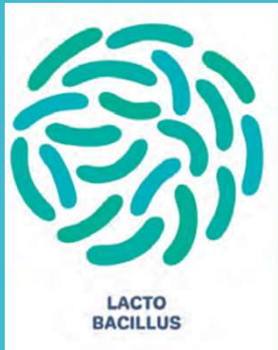


Aktivní látky: *Lactobacillus paracasei* (GMNL-32 a GMNL-133) 120 mg (**), Biotin (D-biotin) 50 mcg (120 %*), Vitamín D (cholekalciferol) 2,5 mcg (50 %*).



Obsahuje postbiotiká z *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*

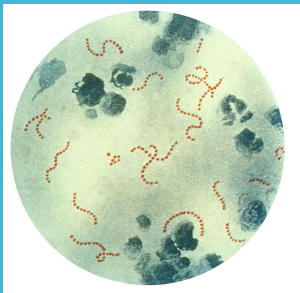
PROBIOTIKA



Riziko – oslabení jedinci

- *Lactobacillus rhamnosus* GG - příčina sepse související s probiotiky u předčasně narozených dětí díky své schopnosti tvořit biofilm.
- pacient s Crohnovou chorobou a HIV - bakteriémie způsobená *Lactobacillus*, která byla spojena s konzumací vlastnoručně vyrobeného jogurtu.
- 46letá žena s diabetes mellitus - bakteriémie způsobená *L. acidophilus*.
- jedinci s imunosupresí jsou náchylnější k bakteriémii vyvolané probiotiky.
- pacienti na jednotkách intenzivní péče - významně vyšší riziko bakteriémie vyvolané *Lactobacillus rhamnosus* u jedinců léčených probiotiky ve srovnání s neléčenými jedinci.

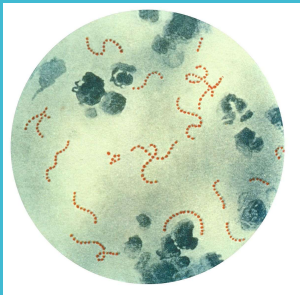
PROBIOTIKA



Streptococcus

- grampozitivní rod bakterií mléčného kvašení (LAB).
- *S. thermophilus* – jediný druh v rámci rodu *Streptococcus* (který se skládá především z komezálů a patogenních druhů), kterému byl Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv udělen status obecně uznávané bezpečnosti (GRAS).
- údaje o jeho schopnosti přežít žaludeční tranzit a mít příznivé účinky v lidském střevě nejsou jednoznačné.
- vzhledem k citlivosti *S. thermophilus* na gastrointestinální podmínky zůstává jeho probiotický status předmětem neustálých diskusí a zkoumání.
- několik studií naopak prokázalo, že *S. thermophilus* měl schopnost přežít průchod gastrointestinálním traktem - navzdory těmto problémům je důležité poznamenat, že *S. thermophilus* stále disponuje určitými probiotickými vlastnostmi a je spojován s potenciálními zdravotními přínosy.
- schopnost produkovat antimikrobiální látky, soutěžit s patogenními bakteriemi a modulovat imunitní systém - pozitivně vliv na zdraví střev.
- neobsahuje žádné geny rezistence vůči antibiotikům a že je citlivý na více antibiotik.

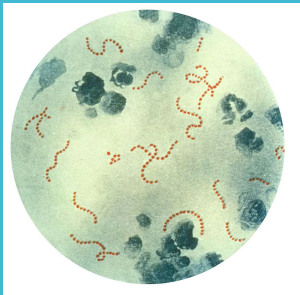
PROBIOTIKA



Streptococcus

- *S. thermophilus* - multifunkční zákysová kultura k výrobě fermentovaných mlék včetně jogurtů a tvrdých italských a švýcarských sýrů.
- během fermentace roste v symbióze s *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* za vzniku kyseliny mléčné a acetaldehydu, který je zodpovědný za charakteristickou jogurtovou chuť.
- v sýrech přispívá *S. thermophilus* k okyselení mléka a k chuti během zrání.
- řada funkčních aktivit, jako je produkce extracelulárních polysacharidů, bakteriocinů a vitaminů.
- potenciál jako probiotikum, což dokazují různé zdravotní účinky, přechodné přežívání a mírná adherence v gastrointestinálním traktu.
- ve Spojených státech má status obecně uznávané bezpečnosti (GRAS) a v Evropské unii status kvalifikované presumpce bezpečnosti (QPS).
- lidská populace ročně pozře více než 10^{21} živých buněk *S. thermophilus*.

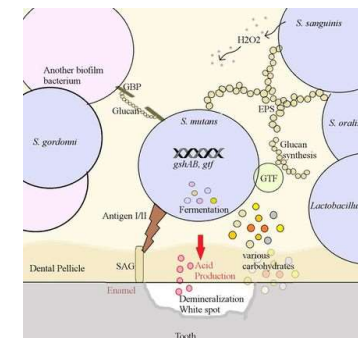
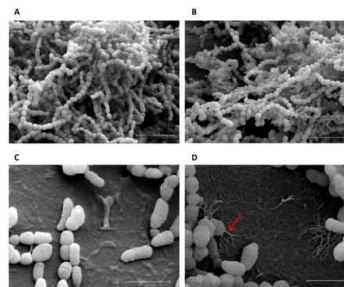
PROBIOTIKA



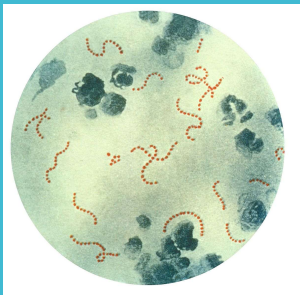
Streptococcus salivarius – orální mikrobiom

- po narození - *Streptococcus salivarius* (98%)
- prořezávání zubů *S. mutans* a *S. sanguis*.
- zubní kaz a periodontitida.
- endokarditida, diabetes, předčasný porod/potrat.
- zubní kaz – *Streptococcus mutans*.
- přenos bakterií ze skupiny *S. mutans* se realizuje v útlém dětství, nejčastěji blízkým kontaktem matky s dítětem.
- zkvašováním cukrů vytváří organické kyseliny (octovou, mravenčí, propionovou, máselnou či mléčnou), které snižují pH v dutině ústní z 6,5 až na hodnoty pod 5,5. To vede k demineralizaci tvrdých zubních tkání.

Streptococcus mutans - biofilm



PROBIOTIKA

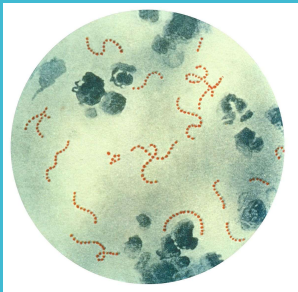


Biofilm

- přisedlá společenství mikroorganismů na pevném podkladu.
- buňky biofilmu jsou s povrchem navzájem mezi sebou ireversibilně spojeny extracelulárními polymerními látkami (EPS) které tvoří až 85 % celkové hmoty biofilmu.
- poskytuje ochranu před antimikrobiálními látkami, UV zářením, změnou pH, osmotickým šokem a dehydratací
 - umožňuje zachytit živiny
 - zabraňuje přístupu biocidu, toxinu, těžkých kovů
- složité struktury s kanálky, připomínají tkáně vyšších organismů
 - tvoří cirkulační systém. Proudění vody těmito kanály zajišťuje přísun živin, kyslíku a výměnu metabolických produktů
 - umožňují buněčnou komunikaci prostřednictvím nízkomolekulárních látek

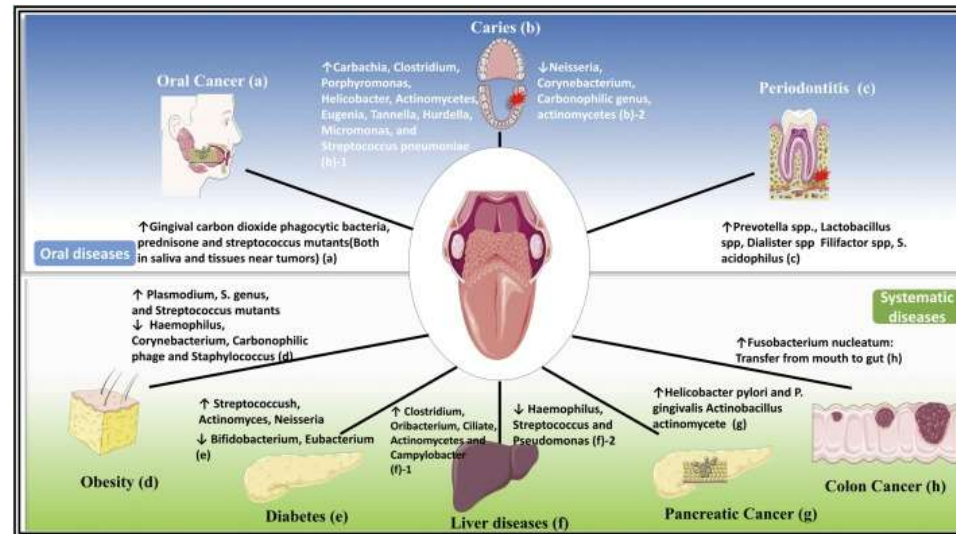


PROBIOTIKA



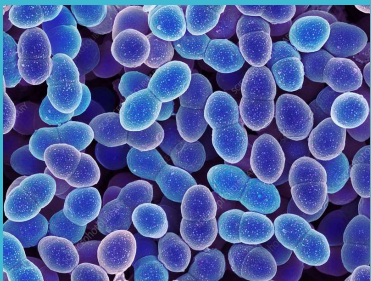
S. salivarius – orální mikrobiom

- zubní kaz a periodontitida
- endokarditida, diabetes, předčasní porod/potrat, CRC?



Porphyromonas gingivalis, asi nejznámější orální patogen, jedna z bakterií známého červeného komplexu, kromě parodontitidy spojovaná například také s rakovinou tlustého střeva, endokarditidou, rizikem předčasněho porodu a mnoha dalšími patologickými stavy.

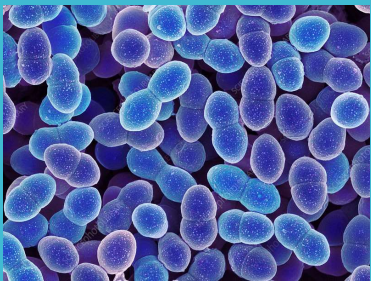
PROBIOTIKA



Enterococcus

- grampozitivní rod bakterií mléčného kvašení (LAB).
- přirození obyvatelé lidského gastrointestinálního traktu (GIT) a teplokrevných zvířat.
- izolovány z rostlin, vody a půdy, pravděpodobně v důsledku kontaktu s fekálními zdroji a některými potravinami.
- enterokokové infekce pocházející z potravin nebyly nikdy zaznamenány.
- zástupci rodu *Enterococcus* spp. - vnitřní rezistence k několika antimikrobiálním látkám a flexibilita při získávání determinantů rezistence kódovaných na široké škále konjugativních plazmidů, transpozonů a bakteriofágů.

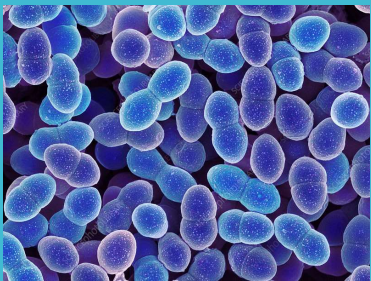
PROBIOTIKA



Enterococcus

- v oblasti mlékárenského průmyslu a výroby sýrů mají enterokoky velkou technologickou úlohu, zejména při vývoji organoleptických vlastností (charakteristiky, které lze hodnotit lidskými smysly - teplota, barva, zákal, průhlednost, pach, chuť...) fermentovaných mléčných výrobků, pokud jsou použity jako zákysové nebo přídavné kultury.
- to je do značné míry způsobeno jejich specifickými biochemickými vlastnostmi, jako je lipolytická, proteolytická a esterolytická aktivita a schopnost fermentovat citrát za vzniku diacetylu a několika těkavých sloučenin, které jsou vyhledávány pro své organoleptické vlastnosti během období zrání.
- různé kmeny splňují probiotické předpoklady z hlediska tolerance vůči kyselinám a žluči, adhezivního potenciálu, absence cytotoxicity a produkce enterocinů.
- kmen *E. faecium* 11181, který byl schválen panelem Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) jako doplněk krmiva pro výkrm a zvýšení růstové výkonnosti mnoha zvířat.
- *E. faecium* SF68® (NCIMB 10415; Cerbios-Pharma SA, Barbengo, Švýcarsko) – se hojně používá jako doplněk krmiva pro řadu zvířat a jako léčivo u lidí.
- *E. faecalis* Symbioflor 1 (SymbioPharm, Herborn, Německo) - používá se k prevenci nebo léčbě průjmu u prasat, drůbeže, hospodářských a domácích zvířat a k léčbě opakujících se onemocnění horních cest dýchacích u lidí.

PROBIOTIKA



Enterococcus

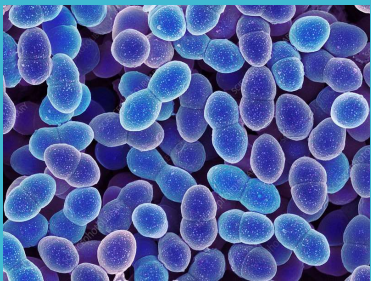
- vybrané kmeny enterokoků, které jsou užitečné pro mnoho zdravotních vlastností nebo technologických aplikací v potravinářských systémech nebo v oblasti zdraví lidí a/nebo zvířat:
- *E. durans* M4-5 (produkce butyrátu - mastná kyselina s krátkým řetězcem (SCFA), indukce významných protizánětlivých účinků a příspěvek k integritě střevního epitelu).
- *E. durans* LAB18s (zdroj dietního doplňku selenu).
- *E. durans* KLDS 6.0930 a *E. faecium* ^{M74}® (snížení hladiny cholesterolu v séru).
- *E. mundtii* ST4SA (produkce bakteriocinů).
- *E. faecium* LCW 44 a *E. durans* 6HL (produkce antimikrobiálních látek proti gram pozitivním a gram negativním bakteriím).

PROBIOTICKÉ produkty

Commercial Product	Amount per Serving [†]	Marketing and Uses [¶]
<i>E. faecalis</i> *		
Bifilac	30 million CFU per sachet or capsule	Treatment of diarrhea (traveler's, antibiotic-associated, viral, bacterial, or protozoal); lactose intolerance; stomatitis; inflammatory bowel disease
Bioflora	n.d.	Restoration of flora following antibiotic treatment or chemotherapy; atrophic vaginitis; mild-to-moderate bacterial vaginosis and candidiasis
Pro-symbioflor	1.5–4.5 × 10 ⁷ CFU per 14 drops	Preparation of immune system for stomach and intestinal complaints
Shin-Biofermin S	2 mg per tablet	Intestinal regulation and treatment of diarrhea, constipation and meteorism
Symbioflor1	1.5–4.5 × 10 ⁷ CFU per 12 drops	Treatment of recurring sinusitis, bronchitis, pharyngitis; training of immune system
ThreeLac/FiveLac	500 million CFU	Elimination of symptoms of candidiasis; maintenance of intestinal health
Essential Formulas O'Hara Probiotic 12 plus OMX PROFESSIONAL Formula (<i>E. faecalis</i> TH10)	7.8–10 × 10 ⁷ CFU per capsule	Improvement of digestive and bowel function; decrease stomach disorders; treatment of Crohn's disease; increase nutritional absorption; boosting appetite; decrease yeast infection; enhancement of liver health, circulatory, joint, and muscle function; improvement of sleep, vitamin synthesis, and resistance to allergies; lactose intolerance
<i>E. faecium</i> *		
BIO-THREE (<i>E. faecium</i> [§] T-110)	n.d.	Homeostasis of intestinal microflora; inhibition of sturdy pathogens; facilitation of proliferation of <i>Bifidobacterium</i> ; reduction in cholesterol; treatment of ulcerative colitis; prevention of colon cancer
N. American Herb & Spice Health-Bac Probiotic	n.d.	Support a healthy digestive response
Natural Factors Probiotics: <i>Acidophilus</i> with <i>E. faecium</i>	0.8 billion CFU per capsule	n.d.

* Only enterococcal species listed; products may contain other bacteria. Strains used cannot be identified except two products. [†] CFU, colony forming units. [¶] None of these claims or probiotics are approved by the U.S. FDA. [§] Although the manufacture claims it as *E. faecalis*, it is reported as an *E. faecium* [44]. n.d.: not defined.

PROBIOTIKA



RIZIKO - *Enterococcus*

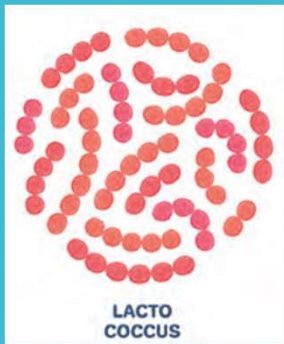
- někteří zástupci - oportunní a patogenní rysy, nesou některé faktory virulence, které jsou přítomny především u *E. faecalis* a v menší míře u *E. faecium*.
- Evropsky úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) určil, že enterokoky nesplňují status "QPS,, (qualified presumption of safety) - rozhodnutí, které zpochybňuje vhodnost těchto komenzálů jako probiotik.
- enterokoky nejsou považovány za vysoce virulentní, protože k vyvolání infekce potřebují imunokompromitovaného hostitele, což odráží jejich oportunní způsob, jakým přispívají ke vzniku infekcí, jako je bakteriémie, nitrobřišní infekce, infekce močových cest a nozokomiální infekce, komunitní endokarditida.
- rozšíření enterokoků rezistentních vůči vankomycinu (VRE) významně zvýšilo mortalitu a zátěž onemocnění způsobenou enterokokovou infekcí, což vyvolává obavy o bezpečnost při používání enterokoků jako probiotik.

RIZIKO

- Rostoucí počet nozokomiálních infekcí způsobených bakteriemi, zejména enterokoky, dále zvyšuje obavy o bezpečnost a vyžaduje větší opatrnost při používání enterokokových probiotik
- Při používání těchto komenzálních mikrobu jako probiotik je zapotřebí přesná analýza rizik a přínosů spolu s relevantními důkazy o klinické účinnosti.

Enterococcal Virulence Factors	Gene(s)	Reported Biological Effect
Virulence factors that promote colonization		
Aggregation substance (AS)	<i>agg</i> , <i>prgB</i> <i>asa1</i>	Binding to host cells, enables cell-to-cell contact between donor and recipient strains for conjugation; facilitating binding of donor and recipient cells; to mediate adhesion of <i>E. faecalis</i> to eukaryotic cells and internalization; enhancement of bacterial vegetation; synergetic regulation of quorum via Cyl; protection against neutrophilic killing
Collagen-binding protein (Ace)	<i>ace</i>	Colonization by binding to proteins of the extracellular matrix (ECM); participation in binding type I and IV host collagen; adherence to host fibronectin, fibrinogen, and/or laminin
Microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules (MSCRAMMs)	<i>acm</i> , <i>fss1</i> , <i>fss2</i> and <i>fss3</i>	
Cell wall adhesin (Efa A)	<i>efaA</i>	Virulence factors associated with infective endocarditis
Enterococcal surface protein (Esp)	<i>esp</i>	Surface adhesion, colonization, and persistence; association with biofilm formation
Extracellular superoxide	<i>menA</i> , <i>menB</i> , <i>cydA</i> , and <i>frdA</i>	Bacterial invasion; clastogen and mutagen
Pilus	<i>ebp</i> (A–C), <i>srtA</i> , <i>bps</i> (<i>srtC</i>), and <i>bee</i> locus	Adherence to host cells; enhances biofilm formation
Virulence factors with affect tissues		
Cytolysin (<i>Cyl</i>),	<i>cylL_L</i> , <i>cylL_S</i> , <i>cylM</i> , <i>cylB</i> , <i>cylA</i> , <i>cylI</i> , <i>cylR1</i> , and <i>cylR2</i>	Bactericidal properties towards Gram-negative bacteria; toxic properties (β -hemolysis) towards mammalian erythrocytes (not sheep or goat), leukocytes, macrophages; destroys neural tissues; bacteriocin; quorum regulation
Gelatinase (<i>GelE</i>)	<i>efaA_{fs}</i> , <i>efaA_{fm}</i> , <i>gelE</i> , <i>sprE</i> , <i>fsrA</i> , <i>fsrB</i> , and <i>fsrC</i>	Hydrolysis of gelatin, elastin, collagen, hemoglobin, polymerized fibrin as well as other bioactive peptides, e.g., proteins bound to pheromones; cleavage of human complement C3 and C5a; clearing misfolded bacterial surface proteins and extracellular pheromones; maintaining diplococcal morphology
Hyaluronidase (<i>Hyl</i>)	<i>hyla</i>	Playing a key role in destroying mucopolysaccharides of the connective tissue and cartilage

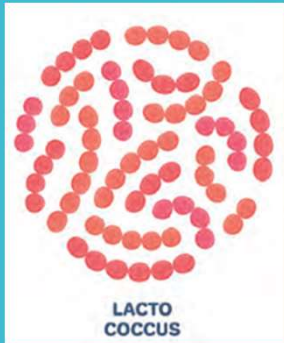
PROBIOTIKA



Lactococcus

- grampozitivní rod bakterií mléčného kvašení (LAB).
- přeměnu mléka na sýr zajišťuje mikrobiální populace, která tvoří komplexní a dynamický ekosystém, díky němuž dochází k četným biochemickým reakcím.
- tyto kultury dominují během rané fáze výroby sýra a i když jsou postupně nahrazovány sekundární mikrobiotou, přetrvávají během celého procesu zrání.
- proces působení startovací mikrobity způsobuje rychlou tvorbu kyseliny mléčné, přispívá k tvorbě sýřeniny, zabraňuje růstu patogenních bakterií a vytváří, zejména produkcí enzymů, optimální biochemické podmínky pro zrání.
- ovlivňuje sensorické vlastnosti produktů.
- *Lactococcus lactis* - startovací kultura pro výrobu sýrů a fermentovaných mlék.
- pečlivě vybírány kmeny, aby neprodukovaly nepříznivé chutě nebo jiné vady.
- divoké kmeny laktokoků často kontaminují syrové mléko, a pokud není mléko uchováváno v dostatečném chladu, produkují kyselé a jiné nepříjemné chutě a pachy.
- některé z těchto kmenů produkují ovocnou příchuť díky produkci esterů, jako je ethylhexanoát a ethylbutyrát.

PROBIOTIKA



Lactococcus lactis

- *Lactococcus* – GRAS
- navzdory jejich dobře zavedené startovací kultuře v různých fermentovaných potravinách, jejich komerční použití jako probiotika je méně rozšířené.

- **Riziko**

izolován z mnoha klinických případů

z mozku stříbrného kapra s laktokokózou

z jater a sleziny nemocného vodního ptactva

ze vzorků mléka a vycpávkového materiálu při mastitidě krav (v chovu, kde se používal jako probiotikum)

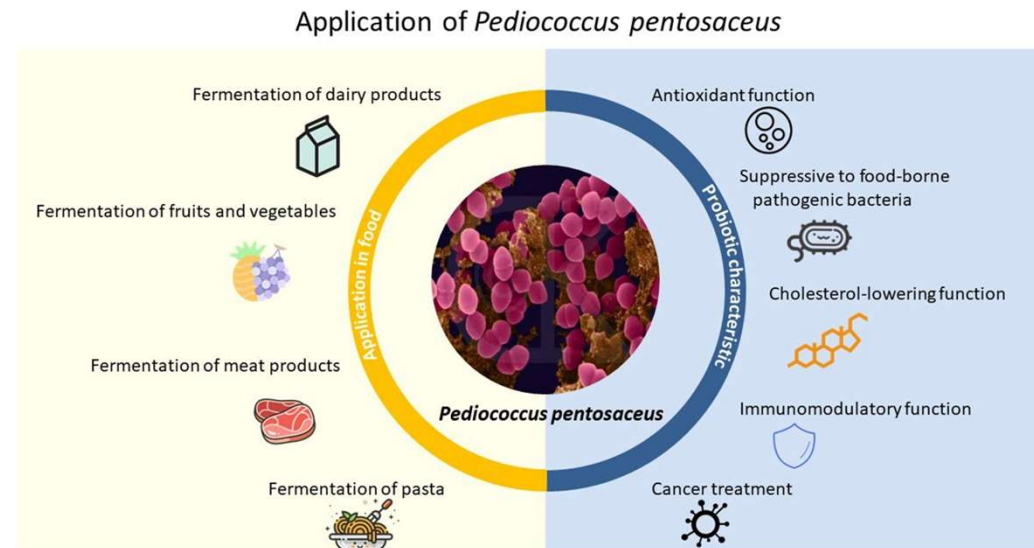


PROBIOTIKA

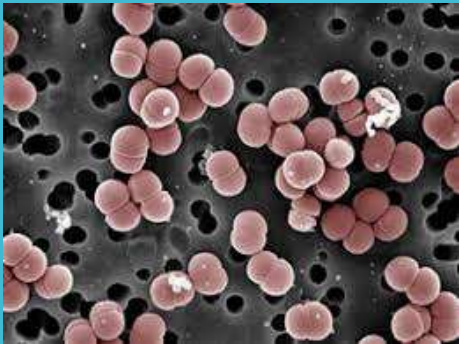


Pediococcus

- grampozitivní rod bakterií mléčného kvašení (LAB).
- po staletí používají při výrobě tradičních fermentovaných potravin.
- fermentační schopnosti při použití pediokoků jako startovacích kultur, umožňujících výrobu fermentovaných potravin s odlišnými vlastnostmi.
- **bakteriociny – pediociny (antimikrobiální látky)** jsou stále více zkoumány jako biokonzervační látky v různých potravinových maticích.



PROBIOTIKA



Pediococcus

- pro široké inhibiční spektrum pediocinů jsou intenzivně zkoumány nejen v potravinářském průmyslu, ale také ve veterinární a humánní medicíně.
- nejpoužívanějším bakteriocinem je **pediocin PA-1**:
- používaný v potravinářském průmyslu jako biokonzervační prostředek, zejména k prevenci a kontrole kontaminace gram pozitivními patogeny, zejména *Listeria monocytogens*.
- Probiotické vlastnosti pediokoků:
- imunomodulace, kontrola patogenů, zlepšení rekonvalescence po COVID-19, antibiotické terapie a zlepšení zdravotního stavu.
- zlepšení růstu hospodářských zvířat, snížení výskytu infekcí dýchacích cest a zvládnání intolerance laktózy, odolnost vůči infekcím.

PROBIOTIKA



Bifidobacterium

- střevní mikrobiom tvoří především šest mikrobiálních fylů: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, Tenericutes a Fusobacteria.
- u dospělého člověka představují Firmicutes a Bacteroidetes, které mohou dohromady tvořit až 90 % celkové střevní mikrobioty.
- ve střevě kojenců, kde běžně převažují Actinobacteria a konkrétně rod *Bifidobacterium*.
- bifidobakterie rychle kolonizují tlusté střevo kojenců během prvních týdnů života – přítomny v mateřském nebo umělém mléku.
- u kojených dětí je dominantním druhem *B. breve*.

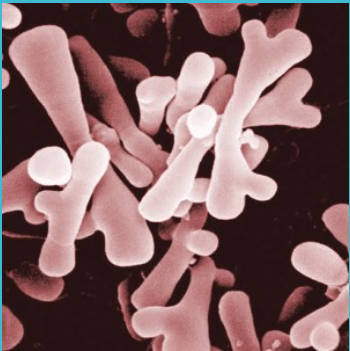
PROBIOTIKA



Bifidobacterium

- pomáhají udržovat vhodnou rovnováhu střevního mikrobiomu.
- některé druhy jsou schopny syntetizovat některé vitaminy. Například thiamin, kyselinu listovou, biotin ..
- zjištěné zdravé prospěšné vlastnosti spojené s požitím *Bifidobacterium* spp.:
 - zlepšují trávení laktózy.
 - zvýšení počtu bifidobakterií ve stolici
 - prevence nebo léčba akutního průjmu způsobeného infekcí z potravin.
 - prevence nebo léčba rotavirového průjmu
 - působení proti *Helicobacter pylori*
 - stimulace střevní imunity
 - zkrácení doby přenášení *Salmonella* spp
 - zlepšení imunity vůči různým onemocněním
 - potlačení některých druhů rakoviny
 - snížení hladiny cholesterolu v séru

PROBIOTIKA



Bifidobacterium

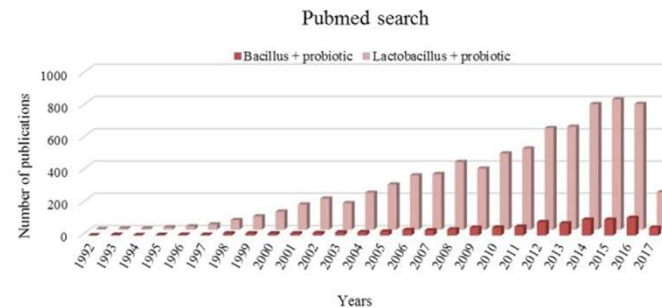
- za určitých okolností zaznamenána bakteriémie.
- kazuistika dítě s těžkým srdečním selháním - diagnostikována bakteriémie způsobená *Bifidobacterium* spp. při léčbě probiotiky v souvislosti s průjmem spojeným s podáváním antibiotik.
- kojenci na novorozenecké jednotce intenzivní péče - zaznamenány případy bakteriémie způsobené *Bifidobacterium breve*, které byly způsobeny podáváním probiotik. 298 pacientů, v období let 2014 až 2019 podáván kmen *B. breve* Yakult, a byla zjištěna míra výskytu bakteriémie *B. breve* 2 % (6/298).

PROBIOTIKA



Bacillus

- grampozitivní, sporulující tyčinkovité bakterie. Obecně je rod *Bacillus* označován jako skupina půdních obyvatel. *Bacillus* spp. však mohou být izolovány z různých zdrojů včetně vzduchu, vody, lidských a zvířecích střev a také ze zeleniny a potravin.
- sporulující bacily se zkoumají pro výrobu a konzervaci potravin již po mnoho staletí.
- vyšší odolnost vůči kyselinám a lepší stabilita při tepelném zpracování a skladování při nízkých teplotách v porovnání s LAB.
- schopnost produkovat velké množství sekrečních bílkovin, enzymů, antimikrobiálních sloučenin, vitaminů a karotenoidů.
- význam ve výzkumu funkčních potravin souvisejících s lidským zdravím, a to díky jejich zvýšené toleranci a schopnosti přežít v nepříznivém prostředí gastrointestinálního traktu.
- stabilnější během zpracování a skladování potravin a farmaceutických přípravků.



Pubmed trends for key words "*Bacillus*+ probiotic" and "*Lactobacillus* + probiotic" for last 25 years.

Elshaghabee et al. 2017

PROBIOTIKA



Bacillus

- bioterapeutický potenciál – produkce různých antimikrobiálních peptidů a malých extracelulárních efektorových molekul.
- *Bacillus* se používá k výrobě potravinářské amylázy, glukoamylázy, proteázy, pektinázy a celulázy v různých potravinách.
- různé druhy bakterií rodu *Bacillus* byly rovněž použity k výrobě dalších nutraceutik včetně vitaminů (např. riboflavin, kobalamin, inositol) a karotenoidů pro syntézu několika doplňků stravy pro lidskou spotřebu.
- probiotikum nebo patogen? Nedůvěra ze strany běžné populace
- o několika zástupcích rodu *Bacillus* spp., zejména o druzích *B. cereus*, *B. weihenstephanensis*, *B. anthracis* a *B. thuringiensis*, je známo, že produkují různé toxiny.
- toxin cereulidin produkovaný *B. cereus* je hlavní příčinou intoxikací z potravin
- toxiny *B. anthracis* jsou spojovány se smrtelnými onemocněními u lidí a zvířat.

PROBIOTIKA



Bacillus

- předpokládá se, že *Bacillus* spp. není přirozeným obyvatelům střev.
- do střevního traktu se dostávají po konzumaci zeleniny nebo potravinových surovin kontaminovaných půdní mikrobiotou.
- také požitím fermentovaných obilovin nebo fazolí, jako jsou Iru a Natto.
- s přirozenou fermentací sóji, kukuřice, rýže a mnoha dalších substrátů je spojena různorodá škála druhů *Bacillus*. Například Natto (Japonsko), Douchi (Čína), Ugba (Nigérie) atd. patří mezi oblíbené funkční potraviny, které přirozeně obsahují směs *Bacillus* spp. a LAB.
- tyto fermentované výrobky vykazují jedinečné sensorické vlastnosti, pravděpodobně díky aktivitě extracelulárních enzymů rozkládajících sacharidy a bílkoviny původem z *Bacillus* spp.
- kmeny *B. subtilis*, *B. subtilis* var. natto, *B. clausii*, *B. licheniformis* a *B. coagulans* atd. jsou celosvětově využívány ke zlepšení kvality a poptávky po funkčních potravinách.

PROBIOTIKA



Bacillus

Natto (Japonsko) - tradiční japonský pokrm z fermentovaných celých sójových bobů.



Douchi (Čína) - tradiční čínské fermentované a solené černé sójové boby



Ugba (Nigérie) - alkalicky fermentovaný listový olej z afrických fazolí (*Pentaclethra macrophylla*), který vyrábějí Ibosové a další etnické skupiny v jižní Nigérii.



UGBA

PROBIOTIKA



Bacillus

- vegetativní buňky a spory *B. cereus* se mohou dobře bránit stresu GIT a přilnout ke střevnímu epitelu.
- spory *Bacillus* spp. lze snadno získat v rozmezí 10^3 - 10^8 CFU/g lidských výkalů. Stolice 30 dobrovolníků - prokázaná přítomnost 10 různých druhů *Bacillus* - nejčastěji dva druhy, *B. clausii* a *B. licheniformis*
- po perorálním podání *Bacillus* spp. následuje přechodná kolonizace střeva. Nicméně se ukázalo, že vliv alochtonních kmenů *Bacillus* na profil fekální flóry hostitele v přechodném období je významný.
- po 28denní léčbě *Bacillus coagulans* u starších osob byly výchozí populace *Faecalibacterium prausnitzii*, *Clostridium lituseburense* a *Bacillus* spp. významně vyšší ve srovnání s placebovou skupinou.
- podobně studie na modelu selat rovněž prokázala, že podávání *Bacillus coagulans* CNCM I-1061 zvýšilo počet aerobních a anaerobních sporulátorů, snížilo počet laktokoků, enterokoků, anaerobních koků a fekálních koliformních bakterií v léčené skupině.

PROBIOTIKA

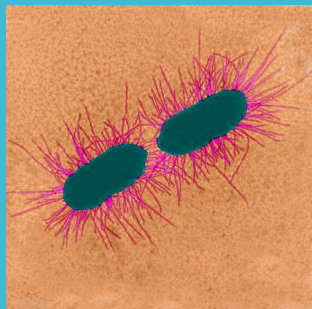


Escherichia coli

- Mutaflor (*E. coli* Nissle), Colinfant New Born, Symbioflor 2

	EcN	Ref.	Symbioflor 2	Ref.	Colinfant newborn	Ref.
Information about the product						
Description	Single <i>E. coli</i> strain		Six <i>E. coli</i> genotypes		Single <i>E. coli</i> strain	
Product	Mutaflor capsules ^a		Symbioflor 2 suspension		Powder for preparation of per oral solution	
Contents	2.5-25-10 ⁹ CFU/capsule	^b	1.5-4.5 10 ⁷ CFU/ml	^c	0.8-1.6 10 ⁸ CFU/dosis	^d
Recommended daily dose	1-2 Capsules/day (2.5-50-10 ⁹ CFU)		2-4 ml (3.0-18 10 ⁷ CFU)		0.8-1.6 10 ⁸ CFU three times/week	
Maximum daily dose	4 Capsules (10-10 ¹⁰ CFU)		18 10 ⁷ CFU		Not specified, maximum treatment 4 weeks	
Information about the <i>E. coli</i> present in the product						
Isolation date	"1917" (see main text)	[58]	1954	[88]	Data not available	
Serotype	O6:K5:H1	[56]	Variable including O35,129, O:169, rough, all H-	[27]	O83:K24:H31	[105]
Plasmid content	2 Cryptic plasmids	[56]	12 Plasmids	[88]	No plasmids	[10]
Microcin production	Microcin M, H47	[106]	Microcin S	[107]	Data not available	
Motility	Motile (flagella present)	[58]	Nonmotile (flagella absent)	[27]	Data not available	

PROBIOTIKA

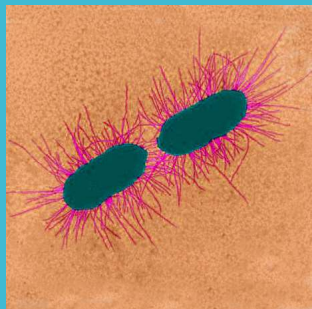


Escherichia coli

- Mutaflor (*E. coli* Nissle), Colinfant New Born, Symbioflor 2

Retrieved with	"Nissle" or "Mutaflor"	"Symbioflor" or "DSM"	"Colinfant" or " <i>E. coli</i> strain"
Subject of publication	<i>N</i> = 228 ^a	17252" <i>N</i> = 21	A0 34/86" <i>N</i> = 11 ^b
<i>In vitro</i> studies	49	2	0
Mouse model studies	40	2	0
Rat model studies	11	0	1
Pig model studies	14	0	2
Human studies	30	7	4
Reviews and commentaries	31	3	0
Genome analysis and comparisons	7	3	2
Various	29	3	2
Other or unclear	3	1	0
Publications by Alfred Nissle	14	Not applicable	Not applicable

PROBIOTIKA



Alfred Nissle 1917 – *E. coli* Nissle 1917

- kmen byl původně izolován ze stolice neonemocných příslušníků vojenské roty postižené dysentérií v průběhu první světové války v srbochorvatské Dobrudži.
- v klinické praxi používá jako probiotikum pod názvem Mutaflor.

Mutaflor = Léčivý přípravek!

Symbioflor 2 = doplněk stravy – 6 *E. coli* kmenů

- *Escherichia coli* G3/10 je součástí probiotického přípravku Symbioflor 2.
- v testu in vitro s lidskými střevními epiteliálními buňkami je *E. coli* G3/10 schopna potlačit adhezenci enteropatogenní *E. coli* E2348/69.
- za toto chování je zodpovědný zcela nový mikrocin (mikrocin S – antibakteriální peptid).



PROBIOTIKA

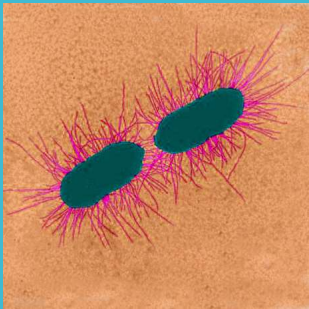


Escherichia coli

- Colinfant New Born (Dyntec, CZ) = Léčivý přípravek
- jedna dávka obsahuje *Escherichia coli criodesiccata* (O83:K24:H31) v počtu $0,8 \times 10^8$ až $1,6 \times 10^8$ bakterií.
- 1967 – čeští autoři popsali, jak byla pěti kojenným dětem (3 dny starým) podána dávka $5 \cdot 10^8$ CFU *E. coli* O83, kmene popsaného jako "nepatogenní pro novorozená selata bez zárodků", aniž by byly uvedeny další informace.
- 1998 – název Colinfant uveden ve vědecké literatuře.
- podle této publikace obsahuje Colinfant kmen *E. coli* A0 34/86, popsaný jako "enterotoxin negativní" na základě (nepublikovaných) pokusů s třídními myši a pokusů se střevními kličkami potkanů.
- kmen *E. coli* A0 34/86 byl popsán jako hemolytický v důsledku produkce HlyA (přítomnost operonu *hlyABCD*), ale delecí *hlyA* vznikl mutantní kmen nazvaný "O83", který již nebyl hemolytický.
- z literatury zůstává nejasné, zda tehdy popsané pokusy s 230 novorozenci byly prováděny s hemolytickým rodičovským kmenem nebo s nehemolytickým mutantním kmenem O83.



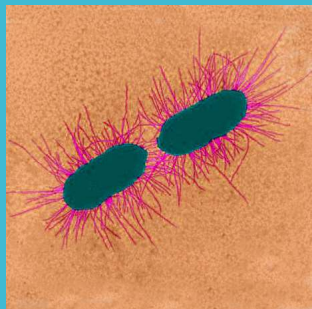
PROBIOTIKA



Escherichia coli

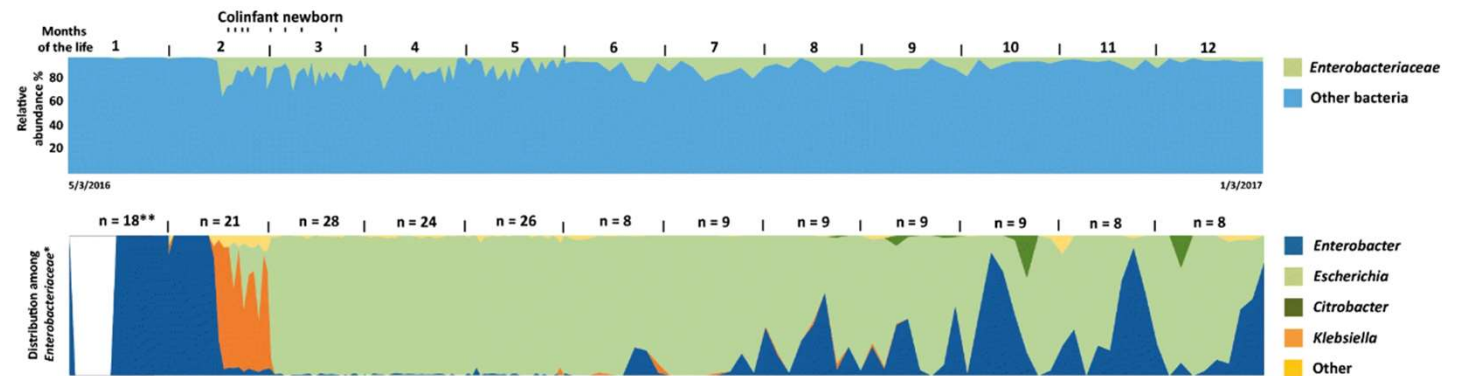
- Colinfant New Born (Dyntec, CZ)
- rok 2015 byl testován komerční produkt a z bakterií v něm obsažených byla stanovena hemolytická aktivita (T. Wassenaar, A. Siegl a C. Beifmohr, nepublikované údaje).
- kolonie produkovaly slabou, ale zjiitelnou hemolytickou aktivitu na agarových plotnách z ovčí krve.
- obavy o bezpečnost při podávání přípravku dětem - je etické poskytovat hemolytický kmen novorozencům a dokonce i předčasně narozeným dětem?
- v článku Shesko et al. 2006 je popsána inaktivace operonu *hlyA* v *E. coli* A0 34/86, aby se získal produkt, který je bezpečný pro použití u prasat.
- v Hejnová et al. 2006 - se zkoumají genetické vlastnosti kmene A0 34/86, je popsáno, že kmen byl zakoupen od společnosti Dyntec s.r.o., která vyrábí Colinfant, takže lze předpokládat, že se zjištění týkají tohoto hemolytického kmene

PROBIOTIKA



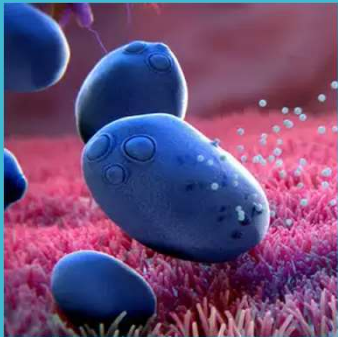
Escherichia coli

- Colinfant New Born (Dyntec, CZ)



Characterization of the relative abundance of *Enterobacteriaceae* in 177 DNA fecal samples isolated at different time-points during the first year of the infant's life. A total of 177 DNA stool samples collected at different time-points during the first year of life were analyzed (5 March 2016–1 March 2017). The Probiotic preparation Colinfant New Born containing *E. coli* A0 34/86 (O83:K24:H31) was added to the infant's diet in eight doses during the second and third month of the life (marked with arrows; Table S1). Sequencing results revealed the prevalence of the genera *Escherichia*, *Enterobacter*, and *Klebsiella*. *Relative abundance of different *Enterobacteriaceae* genera. **Number of samples isolated and sequenced in the individual month

PROBIOTIKA

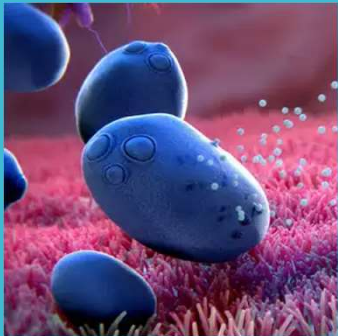


Saccharomyces

- *Saccharomyces boulardii*
- tropická kvasinka, kterou poprvé izoloval francouzský vědec Henri Boulard v roce 1923 ze slupek liči a mangostanu.
- používá se se od poloviny 20. století a poskytuje empirické důkazy o své účinnosti jako pomocného prostředku při léčbě průjmu a prevenci průjmů spojených s antibiotiky.
- *S. boulardii* je přirozeně rezistentní vůči antibiotikům, může být předepisována pacientům užívajícím antibiotika.



PROBIOTIKA



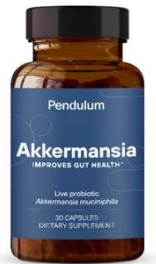
Saccharomyces boulardii

- **RIZIKO – fungémie**
- u kojenců trpících imunodeficiencí může být příčinou fungémie *S. cerevisiae* léčba probiotickým kmenem *S. boulardii*.
- podobné případy byly také hlášeny u dospělých, z nichž většinu tvoří fungémie související se *S. cerevisiae* způsobená suplementací probiotik nebo léčbou (pseudomembranózní kolitidy spojené s antibiotiky) obsahující *S. boulardii*.
- studie provedená ve Finsku na lidských vzorcích odebraných z pěti univerzitních nemocnic během devítiletého období mezi lety 2009 a 2018 zjistila, že nejméně 43 % pacientů, kteří měli *Saccharomyces* fungémii, bylo podrobeno léčbě *S. boulardii*, tedy opětovné potvrzení zdravotního rizika probiotické léčby nejen u pacientů, kteří jsou kriticky nemocní, ale také u pacientů s narušenou integritou gastrointestinálního traktu.

PROBIOTIKA

PROBIOTIKÁ NOVÉ GENERACE

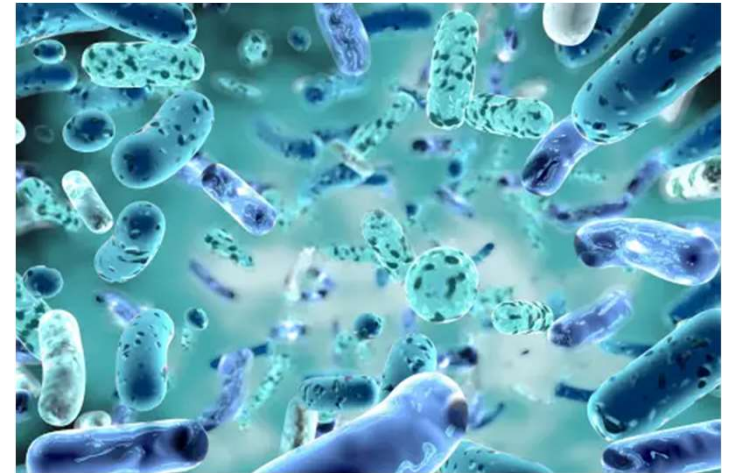
- *Akkermansia muciniphila*
 - zvýšená hladina *A. muciniphila* ve střevě má za následek silnější střevní stěnu.
 - asociace mezi abundancí *A. muciniphila* a mucinovou vrstvou (ztenčená mucinová vrstva vede k nadměrnému průchodu tuků a toxinů do organismu, a je mimo jiné spojena s rozvojem nadváhy a zánětlivých procesů).
- *Veillonella atypica*
 - *Veillonella* využívá laktát jako jediný zdroj uhlíku.
 - zlepšuje tým např. délku běhu prostřednictvím metabolické přeměny laktátu vyvolaného cvičením na propionát. Dochází tak k přirozenému, mikrobiálně zakódovanému enzymatickému procesu, který zvyšuje sportovní výkon.
 - testuje se.
- **Budoucnost – cílena modulace mikrobiomu.**



ZÁVĚR

Závěr

- Léčivý přípravek nebo doplněk stravy?
- Počet CFU v probiotiku
- Počet kmenů
- Jaké kmeny?
- Rizika



DĚKUJI ZA POZORNOST

