

MIKROBIOMOVINY

Informační servis

České mikrobiomové společnosti ČLS JEP, z.s.

Motto měsíce:

„Healthy Gut, Healthy You.“

Upozornění na akce:

20. - 22.6. Bratislava

International Probiotics
Conference

[ZDE](#)

22.- 24.6. Praha

Stánek ČMS na Metronome
Fair v rámci festivalu
Metronome Prague

[ZDE](#)

25.6. Praha

Oslavy světového dne
mikrobiomu, Muzeum
historických nočníků a toalet,
Praha [ZDE](#)

27.6. Praha Motol

Mikrobiom v onkologii -
přednáškové odpoledne

[ZDE](#)

5. - 7. 10. Olomouc

Kongres klinické
mikrobiologie, infekčních
nemocí a epidemiologie

[ZDE](#)



Editorial

Vážení a milí kolegové a příznivci České mikrobiomové společnosti, sluší se začít důležitou novinou. Chceme držet krok, tak jsme i my expandovali do světa sociálních sítí. Najít nás můžete na Twitteru, Instagramu i Facebooku. Pravidelně zde od začátku května umísťujeme edukativní příspěvky pro širokou veřejnost, odkazy na naše výstupy v jiných médiích a samozřejmě i tipy na všemožné akce s mikrobiomovou tematikou. Pokud tedy nechcete o nic důležitého přijít, nastavte si odběr na našich „sociálních sítích“ ([twitter](#), [instagram](#), [facebook](#)).

A co červnové číslo? To se na rozdíl od předchozích vydá trochu více do klinické medicíny, konkrétně do dětské gastroenterologie a léčby Crohnovy choroby. Ač již víme, že v patogenezi nemoci hrají roli změny střevní mikrobioty, stále nevíme, jak toto závažné onemocnění vyléčit. Nicméně existuje mnoho strategií, jak Crohnovu chorobu léčit. U mírného a středně těžkého průběhu jsou součástí komplexní léčby dietní opatření, která významně mění i střevní mikrobiotu. A právě na jednu novou a účinnou dietu změny mikrobiomu se v rozhovoru zeptáme MUDr. Terezy Lerchové, Ph.D., dětské gastroenteroložky z Pediatrické kliniky 2. LF UK a FN Motol, toho času na výzkumné stáži na Univerzitě v Göteborgu.

Na hlavní část pak navážou nejžhavější novinky ze světa mikrobiomového výzkumu. Dozvíme se o práci australských kolegů, kteří se zabývali vztahem výživy kojící matky a rizikem respiračních infekcí u kojených myších mláďat, v kuchyni se pak podíváme na indickou specialitu jménem dhokla. A samozřejmě nemůže chybět oblíbená metodologická sekce Petry Vídeňské, tentokrát o přípravě sekvenačních knihoven pro gen 16S rRNA.

Na závěr nemůže chybět pozvánka na největší akci v českém mikrobiomovém rybníčku. Oslavy Světového dne mikrobiomu proběhnou v neděli 25.6. v Muzeu historických nočníků a toalet v Modřanech (akce pro laické zájemce a rodiny s dětmi) a v úterý 27.6. od 14:00 ve FN Motol (odborný seminář na téma mikrobiom v onkologii). Stay tuned na našich sockách.

Sociálním sítím zdar a těm mikrobiálním zvlášť!

SVĚTOVÝ DEN MIKROBIOMU

Oslavte s námi v neděli 25.6. 2023 od 14:00 do 17:00



Víte jak souvisí lidský mikrobiom s nočníkem Napoleona Bonaparta?

To Vám prozradí odborníci z



ČMS
Česká mikrobiomová společnost ČLS J.E.P.

KDE? Muzeum historických nočníků a toalet

V Potočkách 1020/6, 143 00 Praha 12 Modřany
(Tram 3 a 17 „Čechova čtvrť“)

Téma měsíce:

Jak se mění léčba Crohnovy choroby, a co na to mikrobiom ?

Crohnova choroba (CD) je jedním z fenotypů idiopatických střevních zánětlivých onemocnění (inflammatory bowel diseases, IBD) charakterizovaná chronickým zánětem kterékoli části gastrointestinálního traktu s progresivním a destruktivním průběhem, jejíž výskyt celosvětově narůstá, a to výrazně i mezi děti. Etiologie nemoci je stále nejasná, avšak výrazně se na ní podílí narušená střevní mikrobiota. Onemocnění je typické střídáním období remise, tedy dočasného klidu, a relapsů, tedy vzplanutí aktivního onemocnění s až desítkami průjemových stolic s příměsí krve a hlenu denně, ztrátou hmotnosti významnou únavou a malnutricí (u dětí navíc s rizikem poruchy růstu). Toto onemocnění stále není vyléčitelné, avšak existuje mnoho léčebných strategií jak docílit klinické remise

při samotném začátku projevů. U dětských pacientů se k tzv. indukci remise mírného a středně těžkého průběhu využívají dietní opatření, která pochopitelně významně mění i střevní mikrobiotu. A právě na to, jaké jsou nové trendy v indukci remise CD u dětí, jak tyto přístupy mění mikrobiom a k čemu by se tyto poznatky daly využít, se v rozhovoru zeptáme MUDr. Terezy Lerchové, Ph.D., dětské gastroenteroložky z Pediatrické kliniky 2. LF UK a FN Motol, v současnosti na výzkumné stáži na Univerzitě v Göteborgu.



Terezo, mohla bys nám prosím přiblížit jak ještě nedávno vypadala indukce remise u CD?

Ano, ještě přibližně před třemi lety jsme měli, kromě kortikosteroidů, které v rámci péče o dětské pacienty nevolíme příliš rádi (riziko poruchy růstu, osteoporózy aj.), k dispozici pouze jedno dietní opatření: výlučnou enterální výživu (exclusive enteral nutrition, EEN). Tento terapeutický přístup v praxi znamená, že je pacientovi na dobu šesti až osmi týdnů doporučeno přijímat pouze tekutou enterální stravu (přípravky typu Nutridrink). Zásadní limitací této indukční léčby, která se jinak ukázala jako velmi efektivní, byla tolerance. Pro běžné dítě je obvykle doba šesti až osmi týdnů, kdy mu není dovoleno konzumovat žádné potraviny, poměrně dlouhá a obtížně snesitelná. Podíl úspěchu výlučné enterální výživy v navození remise onemocnění nicméně s velkou pravděpodobností leží právě ve vyloučení potravin, které vedou k negativní změně ve složení střevního mikrobiomu prozánětlivým směrem.

Ale pak se přišel „game changer“ v podobě CDED, že?

Přesně tak. V srpnu 2019 vyšla pilotní kontrolovaná randomizovaná [práce](#), která sledovala dvě ramena. Do první skupiny byli randomizováni pacienti, kteří byli indikováni k tehdy běžnému terapeutickému postupu v podobě EEN. Druhé rameno potom tvořili jedinci, kteří podstoupili intervenci, tedy nově vyvinuté dietní opatření: Crohn's disease exclusion diet (CDED). Tato dieta je založena na teoretické rozvaze pramenící z epidemiologických [dat](#) a studií na animálním [modelu](#). Ze stravy jsou vyloučeny některé složky, u kterých se předpokládá negativní dopad na střevní mikrobiotu a integritu střevní stěny. Zároveň se předpokládá, že u dětských pacientů bude CDED doplněná o částečnou enterální výživu (PEN) tolerována lépe než exkluzivní enterální výživa (EEN).

Co se týče konkrétních pravidel, CDED nepovoluje ve stravě žádný lepek, mléčné výrobky, pečivo (lepkové i bezlepkové), živočišný tuk (konzervované potraviny), průmyslově zpracované maso, výrobky obsahující emulgátory, konzervované zboží a všechny balené produkty s vyznačeným datem spotřeby. Definuje dokonce i potraviny, které je potřeba konzumovat denně (kuřecí prsa, 2 vejce, 2 banány, 1 jablko, 2 brambory) a stejně tak i povolené potraviny: např. bílá rýže, rýžové nudle, vybrané druhy ovoce a zeleniny (např. avokádo, listový salát, okurka atd.). Množství povolené denní konzumace jednotlivých potravin je však přesně definováno a vyžaduje pečlivou edukaci nutričním terapeutem školeným v dané problematice. Co se týče dochucování, některé bylinky (rozmarýn, tymián, máta, koriandr, bazalka,

petržel, kopr) jsou povoleny, ale všechny průmyslově připravené omáčky (kečup, hořčice, majonéza atd.) jsou zakázány. Dieta povoluje 18–20 g vlákniny denně. Platí zde obecně pravidlo: „[Co není povoleno, je zakázáno!](#)“ Je třeba říci, že v rámci této studie byla CDED v prvních šesti týdnech doplněna o 50% denního kalorického příjmu cestou enterální stravy (tzv. parciální enterální výživa, PEN) a ve druhých šesti týdnech již tvořila jen 25% denního kalorického příjmu. Celková doba indukce remise cestou CDED tedy trvá 12 týdnů.

Shrnutí - co zakazuje CDED ?

Živočišné tuky (máslo, sádlo)

Pšenice a produkty z ní

Mléčné výrobky

Červené maso a uzeniny

Maltodextrin

Karagenan (stabilizátor)

Sice má v názvu exkluzní, tedy restriktivní, přesto je to ale asi pacienty a jejich rodinami vnímáno lépe, ne ?

Ano, minimálně taková je představa, která byla jednoznačně potvrzena i v dříve zmíněné izraelské práci. Nicméně z vlastní zkušenosti musím přiznat, že jsme se často potýkali s komplikacemi i v rámci terapie cestou CDED. Dodržení tohoto dietního opatření je poměrně složité, neboť klade nároky nejen na složení potravin, ale i na jejich zpracování, uchování a čerstvost. Nicméně po představení EEN jako alternativy volila většina pacientů i jejich rodičů jednoznačně CDED jako příjemnější variantu.

Není se čemu divit! Zpátky k té studii, naše čtenáře bude hlavně zajímat, jak CDED mění střevní mikrobiom.

Rozumím. Z klinického hlediska dochází u většiny pacientů při dodržování diety CDED (s adekvátním podílem enterální výživy) ke snížení parametrů odrážejících aktivitu střevního zánětu (fekální kalprotektin, C-reaktivní protein). Pozitivní změny jsou však pozorovány i ve složení střevního mikrobiomu. Na tomto místě je zřejmě důležité zmínit zejména 6. týden, kdy byly popsány pozitivní změny v obou studijních ramenech (CDED + PEN vs. EEN); nárůst ve třídě Clostridia s vysokým podílem producentů mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFA) a současný pokles Proteobacteria, které jsou asociovány se střevním zánětem. Významný rozdíl mezi oběma skupinami se však projevil až ve 12. týdnu, kdy účinek výhradně enterální výživy (EEN) pomalu mizí - autoři pozorovali opětovný nárůst u Proteobacteria a výrazně méně významný nárůst u Clostridia ve srovnání s 6. týdnem. Naopak u osob užívajících CDED s částečnou enterální dietou byl ve 12. týdnu stále patrný významný pozitivní vliv léčebného opatření na střevní mikrobiom - trvalý pokles u Proteobacteria a minimálně srovnatelný nárůst u Clostridia oproti 6. týdnu. Období ukončení indukce remise (12. týden) má pro pacienta zásadní význam, protože rozhoduje o dalším vývoji střevního onemocnění, tj. o jeho vývoji do trvalého klidového stadia nebo relapsu s nutností opakovat indukční léčbu.

| Skupina | Bakteriální taxony | Týden 0 vs 6 | Týden 0 vs 12 |
|-----------|--------------------|--------------|---------------------|
| CDED +PEN | Clostridia | vzestup | výraznější vzestup* |
| | Proteobacteria | pokles | trvalý pokles |
| EEN | Clostridia | vzestup | slabší vzestup* |
| | Proteobacteria | pokles | opětovný nárůst |



Takže pozitivní vliv na střevní mikrobiom vyvolaný EEN je jen dočasný, kdežto CDED má tendenci fungovat dlouhodobě.

Ano. Pravděpodobně stejně jako je CDED pro pacienty stravitelnější, je s ním spokojenější i ta správná část střevní mikrobioty.

On ten celý dietní přístup k léčbě IBD se úplně změnil, že? Dříve se doporučovala bezsezbytková strava a najednou si mají pacienti vařit zeleninu, luštěniny a některé obiloviny, tedy spoustu vlákniny.

Ano, je to tak, doba, kdy pacientům s IBD byla s cílem ovlivnění aktivity střevního zánětu doporučována bezsezbytková strava, je pryč. Významný podíl jde opět za střevní mikrobiotou - ta vlákninu využívá k tvorbě již zmiňovaných SCFA, které, jak známo, přispívají k udržování integrity střevní sliznice.

Existuje ještě nějaká jiná dieta, která se zkouší v indukci remise?

Aktuálně v běžné praxi v rámci každodenní péče o dětské pacienty nikoliv. Existuje ještě jedno dietní opatření, které bylo v tomto kontextu zvažováno – dieta s názvem CD-TREAT. Jde o dietu, která je navržena tak, aby svým složením odpovídala enterální výživě. Nicméně v současné době nemáme dostatek důkazů, abychom tento přístup doporučili jako variantu pro navození remise u dětských pacientů s Crohnovou chorobou.

Terezo, moc děkuji za rozhovor a přeju hodně zdaru ve Švédsku!

Já moc děkuji.



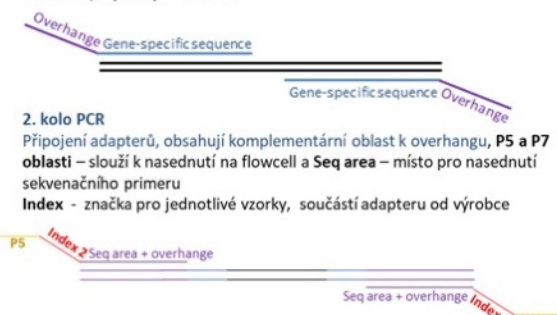

Metodické okénko aneb proč o střevním mikrobiomu stále h...o, pardon, STOLICI víme

Po minulém vzletném okénku, které vás vzalo do světa vyspělé sekvenační technologie, nás čeká návrat na zem. Tedy do prachobyčejné laboratoře. Dneska si totiž řekneme něco k přípravám knihoven (tedy vzorků, které se pak vkládají do sekvenátoru), a na to stačí povětšinou standardní vybavení laboratoře, šikovné ruce a dobře promazané pipety. A vyhrňte si rukávy, začneme zobra přípravou knihovny genu pro 16S rRNA. Tedy amplifikujeme si úsek tohoto genu, který nám umožní získat jakýsi ne zcela přesný,

ale i tak velmi cenný seznam bakterií, které se ve vzorku nachází (nebo, pokud jste se rozhodli nechovat se ke vzorku jako k té nejcennější věci co jste kdy měli tu čest využít pro nabytí nových informací potenciálně spasilších tento svět (za dnešní specialitu prohlašují závorky v závorce; vy si myslíte, že čtete tvrdou vědu přitom společně vracíme do češtiny rychle mizející přechodníky, čímž zvyšujeme její diverzitu), tak seznam kontaminujících přistěhovalců pocházející z vašich chrchlů... nebo prostředí a nebo čehokoliv co se kolem míhlo). Pokud jsem si myslela, že minulé okénko bylo jen pro odvážné čtenáře, připouštím, že tohle už přežijí jen nejsilnější jedinci, kteří mají jisté povědomí o molekulární biologii a již zkoumají nebo plánují mikrobiom zkoumat ve svých laboratořích. Přesto se opět pouštím do relativně vyčerpávajících podrobností, protože právě těmto odvážlivcům mohou následující řádky ušetřit mnoho času, nervů i peněz.

Už jsme si něco řekli k výběru primerů. Nyní k tomu doplníme novou podmínku - když chceme osekvenovat celý amplikon, musí mít právě takovou délku, aby po přečtení readu 1 z jedné strany a readu 2 z druhé strany mohlo dojít k překryvu cca 50 bp. Odvážní mohou jít i níž, tohle je doporučovaný překryv, každopádně je dobré mít spíše větší rezervu než menší, neb ne každý sekvenační run (běh) je dokonalý od začátku do konce. To vám umožní ready spojit a získat tak celistvou sekvenci. Nejčastěji se amplikony sekvenují kity pro 2x250bp nebo 2x300bp. Propočítání je trochu věda, protože si za chvíli představíme 4 strategie přípravy amplikonů a u každé se může to, co přesně sekvenátor sekvenuje, mírně lišit. **Pokud jste inovativní ve výběru primerů nebo strategie přípravy knihovny, doporučuji si vzít papír a tužku a počítat nukleotid po nukleotidu, ať vám nezůstanou dvě hromádky nespojených readů.**

A nyní již ty 4 strategie, které můžete obdivovat v jedinečném grafickém zpracování níže:

| | |
|---|---|
| <p>1. Jednostupňová PCR PCR s primerem, který kromě specifické oblasti nese také sekvence adaptoru nutné pro samotnou sekvenaci Gene specific sequence – komplementární k vybrané konzervativní oblasti genu pro 16S rRNA P5 a P7 oblasti – slouží k nasednutí na flowcell Seq area – místo pro nasednutí sekvenačního primeru - Tyto části nejsou ve výsledné sekvenci Tag - značka pro jednotlivé vzorky, navržena uživatelem *Součástí může být spacer/primer linker, primer pad atd...</p>  | <p>3. Dvoustupňová PCR s vnitřními tagy 1. kolo PCR s primerem, který kromě specifické oblasti nese vnitřní značku a overhange Gene specific sequence – komplementární k vybrané konzervativní oblasti genu pro 16S rRNA InnerTag - vnitřní značka pro jednotlivé vzorky, navržena uživatelem *Součástí může být spacer/primer linker, primer pad atd... Overhange - slouží pro nasednutí adaptoru, komerční, nejčastěji Nextera XT</p>  <p>2. kolo PCR Připojení adaptorů, obsahují komplementární oblast k overhangu, P5 a P7 oblasti – slouží k nasednutí na flowcell a Seq area – místo pro nasednutí sekvenačního primeru Index - značka pro jednotlivé vzorky, součástí adaptoru od výrobce</p> |
| <p>2. Dvoustupňová PCR 1. kolo PCR Gene specific sequence – komplementární k vybrané konzervativní oblasti genu pro 16S rRNA Tag - značka pro jednotlivé vzorky, navržena uživatelem *Součástí může být spacer/primer linker, primer pad atd... Overhange - slouží pro nasednutí adaptoru, komerční, nejčastěji Nextera XT</p>  <p>2. kolo PCR Připojení adaptorů, obsahují komplementární oblast k overhangu, P5 a P7 oblasti – slouží k nasednutí na flowcell a Seq area – místo pro nasednutí sekvenačního primeru Index - značka pro jednotlivé vzorky, součástí adaptoru od výrobce</p> | <p>4. Za pomoci kytu přidávajícího adaptory „na tupo“ 1. Krok PCR Gene specific sequence – komplementární k vybrané konzervativní oblasti genu pro 16S rRNA *Součástí může být spacer/primer linker, primer pad atd... Gene-specific sequence</p>  <p>2. krok Připojení adaptorů pomocí ligace (může následovat PCR dle zvoleného kytu) Seq area – místo pro nasednutí sekvenačního primeru Index - značka pro jednotlivé vzorky, součástí adaptoru od výrobce P5 a P7 oblasti – slouží k nasednutí na flowcell</p> |

*Pro vysvětlení se podívejte [zde](#) .

Každá strategie má své výhody a nevýhody a neexistuje univerzální přístup vhodný pro všechny laboratoře. Vždy je při rozhodování důležitých více hledisek a pro různé laboratoře může být ekonomičtější a výhodnější jiná strategie (např. rozhodují počty vzorků, adekvátnost optimalizačních postupů apod.).

1. Jednostupňová PCR

Jedná se o sekvenaci přímo produktů amplifikace, kde používáte primery, které obsahují kromě sekvence komplementární k oblasti zájmu také všechny oblasti, které jsme si popisovali v minulém okénku, že musí obsahovat adaptor. Nevýhodou takového přístupu je to, že pokud sekvenujete např. 200 vzorků, musíte mít 201 (v případě jednoho univerzálního reverse primeru bez značky (tagu) pro všechny vzorky) nebo 400 primerů (reverse primerů bude stejně jako forwardů a každý bude opatřen značkou (tagem), což pomůže odhalit chiméry vzniklé sekvenací). Každopádně jich musíte hned na počátku nakoupit velké množství, a protože jsou hodně dlouhé, nepatří mezi nejlevnější. Navíc je tento přístup velice neflexibilní (pokud se časem rozhodnete pro jinou specifickou oblast zájmu, celou vysokou úvodní investici můžete spláchnout do záchodu a vzít si další hypotéku). Nicméně pokud víte, že specifickou oblast měnit nebudete, ale naopak budete sekvenovat jako o život tisíce vzorků, pak se jedná o neekonomičtější a i nejrychlejší přístup. Druhým problémem je, že vždy mícháte 200 vzorků najednou, což je velice citlivé na správnost měření koncentrace a pipetování během poolování (smíchávání vzorků). Velice snadno se může stát, že máte vzorky ve výsledné knihovně nerovnoměrně zastoupené, takže u některých vzorků máte velice hlubokou prosekvenovanost a u jiných zase tak nízkou, že jsou takřka nevyhodnotitelné.

2. Dvoustupňová PCR

U této strategie použijete primer, který kromě specifické sekvence komplementární k oblasti zájmu obsahuje tzv. overhang, který usnadňuje při druhém kole PCR nasednutí adaptoru. Oproti strategii předchozí tak potřebujete pouze jeden pár primerů do prvního kola PCR. Vzorky mezi sebou odlišujete až v druhém kole PCR, kdy k nim přidáváte adaptory se značkami. Nejčastěji se jedná o komerční adaptory (a z těch komerčních je to nejčastěji Illumina Nextera XT). Výhodou tohoto protokolu je to, že lze postupovat dle [protokolu](#) přímo vydaného pro metagenomické studie od Illumina a vyhnout se tak zdoluhavým optimalizačním postupům. Také připojování adaptorů přes overhang je velice účinné a nenastávají tak s druhým kolem PCR povětšinou žádné problémy. Nevýhodou je opět míchání všech vzorků najednou, cena za komerční adaptory (při 200 vzorcích nebo při počtu vzorků 200) a také velký počet reakcí a tím pádem celkové náklady (zatímco v při předchozí strategii děláte na 200 vzorků 200 PCR reakcí, zde na 200 vzorků děláte reakcí 400, tedy dvojnásobné náklady na PCR mixy, špičky, destičky a další).

| Vzorek | Primery s vnitřní značkou – 1.PCR | Indexy - 2.PCR |
|--------|-----------------------------------|----------------|
| 1-20 | 1-20 | 1 |
| 21-40 | 1-20 | 2 |
| 41-60 | 1-20 | 3 |
| ... | ... | ... |

3. Za pomoci kitu přidávajícího adaptory „na tupo“

Tato strategie je v podstatě neflexibilnější ze všech. Můžete vzít jakékoliv primery, co v laboratoři máte (a výsledný produkt má vhodnou délku pro sekvenování), a po PCR k produktům nalignujete (připojíte) komerční adaptor. Stačí vám tu tedy zase jeden pár primerů, u něhož se nemusíte trápit se žádnými specialitami typu overhang. Adaptor se může pouze nalignovat (jedná se o adaptory a upravené postupy z kitů, které jsou tzv. PCR free, tzn. pro připojení adaptorů se nepoužívá PCR), nebo nalignovat a celá sekvence se ještě zmnoží v druhém kole PCR. V případě že použijete PCR free kit, ušetříte několik cyklů a to se vždy počítá (více k tomuto tématu v příštím okénku), ale zase můžete mít zoufale málo produktu a také ne vždy je ligace dostatečně účinná a tak máte hodně amplikonů z prvního kola PCR bez adaptoru, což znesnadňuje určit správnou koncentraci těch s navázanými adaptory. Další nevýhodou tohoto postupu je už staré známé poolování všech 200 vzorků najednou. Tento postup se vyplatí zejména tam, kde se míchá vícero amplikonových knihoven z různých zdrojů. Stačí pouze uživatele informovat o tom, jak dlouhý má být amplikon, následně vytvořené amplikony sesbírat a všechny teď už stejnou metodou opatřit adaptory.

Tak, to hlavní máme za sebou a ještě než se spolu rozloučíme, dovolím si tu něco napsat k tzv. fázovaným primerům. Jak od minula víme, sekvenátor sekvenuje tak, že vytvoří klastry z každé sekvence a pak sekvenuje pomocí fluorescenčně značených terminálních nukleotidů. Tedy po každé inkorporaci nukleotidu nám to zasvítil nějakou barvičkou, sekvenátor určí, ke kterému písmenku konkrétní signál (barva) patří, a jede se dál. Tento systém je ale velice citlivý na to, aby nesvítily všechny klastry najednou stejně, protože pak je pro detektor (kameru) velmi obtížné od sebe klastry odlišit a přiřadit správný nukleotid. A my si dokonce dovoluujeme sekvenovat s dovolením takovou prasárnu, jako jeden jediný amplikon, který notabene začíná v konstantní oblasti genu pro 16S rRNA a tudíž je homogenita naprosto skandální a hlavně těžce sekvenovatelná.

Bojujeme proti tomu třemi strategiemi. Za prvé, knihovny mírně podklastrujeme, což znamená, že dáváme trochu nižší koncentraci než u genomových knihoven, které jsou dostatečně heterogenní. Za druhé přidáme více PhiX, což je cizorodá DNA kupována přímo od Illumina, která je heterogenní a slouží v nízké koncentraci jako taková pozitivní kontrola runu a ve vyšší koncentraci nám pomáhá zvýšit rozmanitost naší jinak homogenní knihovny. Samozřejmě místo PhiX můžete přidat i jakoukoliv genomovou knihovnu a nevyhodíte tak x % sekvencí oknem jako při použití PhiX. Mno a za třetí můžete použít [fázované primery](#), tedy ještě přidáte před specifický primer vzestupný počet nukleotidů (ale zase asi není vhodné přidávat více než 8-10 nukleotidů, protože pak už by se zase zbytečně prodlužoval primer). Tím se relativně efektivně zheterogenizuje knihovna, protože už nám všechny amplikony nezačínají stejnými nukleotidy, ale je to vždy u části posunuto o nukleotid až několik nukleotidů. Nic na světě není zadarmo, a i tento velmi elegantní postup má své nevýhody. Díky nestejně délce primeru vzniknou produkty o nestejně délce, se kterými si nejčastěji používané bioinformatické pipeline (např. DADA2) neumí poradit. Nicméně každý problém má řešení a o tomto si povíme někdy příště, až dojdeme k problematice bioinformatické analýzy dat.

Jak vidíte, i jen výběr správné strategie přípravy amplikonů je nelehká věda a i to je důvod, proč o střevním mikrobiomu stále h...o, pardon, STOLICI víme.



Novinky: Strava kojících matek může změnit mikrobiotu potomků a zabránit rozvoji infekce dýchacích cest.



Co je již známo. Špatná strava matky může u jejího potomka zvýšit riziko závažného průběhu infekcí dolních cest dýchacích, které jsou hlavní příčinou dětské úmrtnosti. Přestože je známo, že vláknina ve stravě může měnit složení střevní mikrobioty, zůstává nejasné, jak strava kojící matky ovlivňuje riziko respiračních infekcí u kojeného potomka.

Co tento výzkum přináší nového? Při práci na myších došel tým australských vědců k závěru, že mají-li kojící matky ve stravě nízký obsah vlákniny, zvyšuje se tím závažnost infekcí dolních cest dýchacích u jejich potomků - pravděpodobně v důsledku změněných reakcí imunitního systému. Strava s nízkým obsahem vlákniny mění totiž složení mateřské mléčné mikrobioty a následně i složení střevní mikrobioty kojenců. Takto kojeným myším mláďatům chyběly bakterie produkující propionát – jednu z mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFA), tedy zásadní pro střevní zdraví. Navíc, tyto změny vedly k nižší produkci Flt3L, molekuly, která zvyšuje počet imunitních buněk aktivací jejich progenitorů. Oproti tomu myši mláďata osídlená bakteriemi produkujícími propionát nebo mláďata, kterým byl propionát podáván, byla chráněna před závažnými infekcemi dolních cest dýchacích. Výsledky byly recentně publikovány v prestižním časopise [Immunity](#).

Závěry. Tato zjištění naznačují, že změny střevní mikrobioty vyvolané stravou s nízkým příjmem vlákniny u kojících matek mají negativní vliv na zdraví kojených potomků. A naopak, dostatečný přísun vlákniny u kojících matek může poskytnout ochranu před respiračními infekcemi kojených myších mláďat tím, že reguluje vývoj klíčových složek imunitního systému v boji s možnou infekcí.

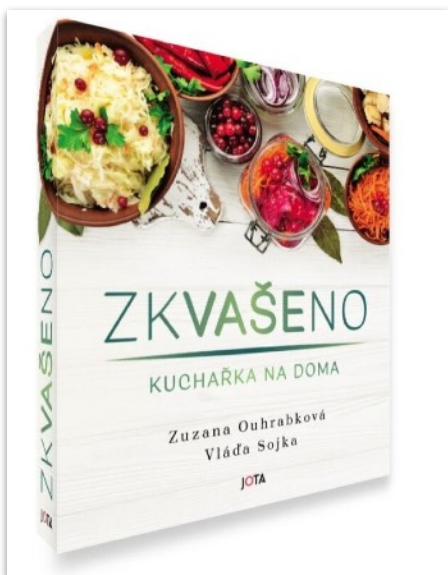
Kuchyňské okénko

Dhokla

Tentokráté nám v mikrobiomové kuchyni připraví milí mikrobi specialitu zvanou Dhokla, která je zároveň přehlídkou excelentních koření. Jedná se o pikantní specialitu pocházející z Indie. Připomíná „dort“, kdy se „těsto“ připravuje z rýže a cizrny (typ Bengal gram) a toto těsto následně podléhá fermentaci. Někdy se cizrna nahrazuje kajanem indickým nebo fazolemi mungo.

Sušená rýže a loupaná pūlená cizrna (chana dal) se namáčí na noc, vlastní fermentační proces probíhá alespoň 4 hodiny. Přidává se koriandr, zázvor, chilli. Fermentované „těsto“ poté 15 minut vaříme v páře a následně nakrájíme na kousky, které okrášíme hořčičným semínkem nebo kmínem, zelenými chilli papričkami a kari lístky.





Dhokla se servíruje např. s fritovanými chilli papričkami, můžeme přidat i čerstvý koriandr, případně strouhaný kokos.

A pokud byste hledali, kdo připravil tuto dobrotu, tak jsou to: *Lactiplantibacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* a *Enterococcus faecium*. Více se o *Lactiplantibacillus plantarum* v indické kuchyni dočtete [zde](#), typy Dhokly uvádí [wikipedia](#). Recept samozřejmě nechybí na zkvaseno.cz, jejichž novou knihu již netrpělivě vyhlížíme.

Tak dobrou chuť!



Zkusili jsme za vás:

Tentokrát se do víru všeho kvašeného a fermentujícího vrhla naše odvážná vědkyně, redaktorka a gurmánka Lucie Najmanová.

Pozdní jaro bylo letos nabito kvašením všeho druhu. Odstartoval to Miso & Kimčchi workshop s Vládou Sojkou. Pokud jste vyznavači těchto asijských pochoutek, vřele doporučuji – domácí výroba se surovinami z e-shopu Fermentarium.cz a asijské velkoobchodnice SAPA vyjde na zlomek ceny, a chutě lze ladit přesně dle požadavků strávníků (více chili, bez česneku, hodně zázvorové, nebo třeba veganské – fantazii se meze nekladou).



Společné vaření, nakládání a povídání bylo spojeno s degustací asi deseti druhů domácích MISO past (neuvěříte, co všechno se dá zkvásit do lahodného misa), několika variant kimčchi, misocibulačky s čerstvými smrží a domácím kváskovým chlebem. Všechno jsme to zapíjeli kombuchou a vodním kefirem. Součástí MISO-story bylo i důvěrné seznámení s několika kmeny kropidláků *Aspergillus oryzae*, ochutnali jsme koji rýži a připravili z ní japonský dezert amazaké – to vše ve stylovém prostředí pražírny kávy Respekt Coffee.

Jen o pár týdnů později jsem měla to štěstí v rámci semináře „CO/SENSE AND RE/CREATE“, který pořádala Doc. Tereza Stockelová ze Sociologického ústavu (znáte z únorového čísla mikrobio(m)novin) nakouknout do tajů kvašení na ukrajinský způsob. Autentická kvašená rajčata, zelí, okurky, květák nebo houby můžete ochutnat i vy, v ukrajinské polévkárně [The Boršč](#) v Praze na Vinohradech.



Velmi osvěžující slaný kvašený vodní meloun bohužel v restauraci na jídelním lístku nenajdete. Z melounů, které máme v naší obchodní síti, prý dobře zkvasí tak sotva polovina. Pokud se ale vypravíte na dovolenou někam jižněji, tuhle zajímavost si nenechte ujít.

Poslední, s kým bych Vás chtěla seznámit, je Václav Smolík, který provozuje kousek od Dobříše rodinnou [ocetérii](#). Na seminář nám přinesl mimo jiné ochutnat i své jablečné octy. Věděli jste, že ve středověku se balsamické octy používaly jako desinfekční prostředek pro uchování pitné vody na dlouhých cestách? A také jako léky na nejrůznější potíže od nachlazení po porodní bolesti? A že se dávaly jako vysoce ceněné svatební dary nebo dědily? My jsme si balsamicem od Václava připili na zdraví a bylo skutečně lahodné.

Celý seminář byl zakončen divadelním představením „Já kimchi“ a ochutnávkou kimchi zmrzliny. Kontakt na producentku této neobvyklé pochoutky v redakci máme, a pokusíme se pro Vás zařídit degustaci na některou z letních akcí ke Světovému dni mikrobiomu.



Toto číslo pro vás připravila redakční rada.

Hlavní téma zpracovala:
MUDr. Tereza Lerchová, Ph.D.

Redakční rada Mikrobio(m)novin:

MUDr. Jiří Vejmelka
Doc.RNDr. Monika Cahová, Ph.D.
Mgr. Lucie Najmanová, Ph.D.
MUDr. Jakub Hurych
Mgr. Petra Vídeňská, Ph.D.

Grafické zpracování :

Mgr. Michaela Bartoňová
www.michaelabartonova.cz

Těšíme se na vaše reakce, podněty a zajímavé příspěvky, které můžete zasílat na adresu:

cms@mikrobiom-cms.cz