MIKROBIOMNOVINY

Informační servis

České mikrobiomové společnosti ČLS JEP, z.s.

Motto měsíce:

„V **malém** světě mikrobů se píší **velké** příběhy.“

Inspirováno knihou Lovci mikrobů Paula de Kruifa

(1890 - 1971)

Upozornění na akce:

Konference:

13. 9. - 16. 9. 2025
47th ESPEN Congress, Praha

ZDE

18. 9. -20. 9. 2025
Kongres klinické mikrobiologie, infekčních nemocí a epidemiologie, Hradec Králové
ZDE

Editorial

Milé čtenářky, milí čtenáři

Ať napíše tentokrát editorial AI. Rezonovalo ve mně. Tak to ani náhodou!

Takže: chytrý telefon zůstal „omylem" doma, chytré hodinky se „prostě a jednoduše" vybily, takže jsem z tandemu „wearables-člověk" konečně zůstal jako ten momentálně chytřejší prostě a jenom já.

A tak sedím na pařezu v lese, koukám na mraveniště a přemýšlím, jak mravenci harmonizují vztah ke své mikrobiotě a proč to my tak dobře jako oni často neumíme. A taky trochu přemýšlím, jaký je komunikační standard nejen v mraveništi, ale také třeba jak spolu stromy mluví (odkaz na stejnojmenné představení divadla Tineola www.tineola.cz). Nebo jak jsou **velké a malé světy** propojeny a jak to umí umělci excelentně a především poutavě ztvárnit (gratuluji tímto Michaele Bartoňové a jejímu celému týmu k fascinujícímu představení, které se v české premiéře uskutečnilo 29. března v divadle Dobeška).

8. 10. - 9. 10. 2025

First Conjoint Meeting of RIKEN and International Society of Microbiota, Tokyo, Japan

ZDE

14.10. 2025

IPVZ Kurz – Možnosti využití výsledků výzkumu lidského mikrobiomu v klinické praxi, Praha

ZDE

Jak moc se vlastně snažíme mikrobiální svět kolem nás pochopit? A proč si mnohdy myslíme, že mikroby předběhneme a získáme nad nimi moc?
A že jim budeme diktovat naše mnohdy absurdní podmínky? Odpovědi na tyto otázky jsem nenašel ani v příbězích v papírových (!) knihách v nedávno navštívené knihovně (kde hrála stará krásná hudba nejspíše přímo z elpéčka), ale ani v elektronických databázích, které za mne umělá inteligence bez únavy a do sekundy prozkoumala.

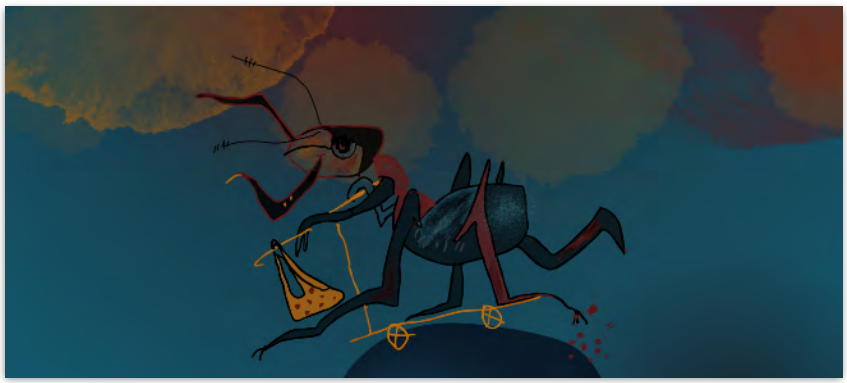
Z úvah mě vytrhl mravenec, patrně sám Ferda se svou supermikrobiotou. A než se vrátím z přírody zpět, tak jenom zdůrazním, že se AI jako užitečnému pomocníčkovi nebráním. Konec konců to právě ona mi pauzu v průběhu práce u počítače rázně doporučila.

Hlavním tématem těchto Mikrobio(m)novin je vaginální mikrobiom. Také se můžete těšit na tradiční metodické okénko, aktuality, zajímavosti a mikrobi nově představí zajímavý tým.

Příjemné čtení a krásnou harmonickou dovolenou (ať už s AI nebo bez ní).

Díky za vaši čtenářskou přízeň, která je zdrojem energie v této složité době.

Jiří Vejmelka



Obsah čísla

Téma měsíce

Vaginální mikrobiom…… str. 4

Metodické okénko

Pozitivní a negativní kontroly…….. str. 10

Mikrobio(m)novinky a zajímavosti

Veganská, vegetariánská a běžná strava – vliv na charakteristické rysy střevního mikrobiomu a zdraví…….. str. 14

Jak antibiotika ovlivňují odpověď kojenců na očkování?…….. str. 18

Mikrobiom v praxi

Orální mikrobiom a zubaři…… str. 22

Mikrobi představují zajímavé týmy

doc. MUDr. Jan Gojda, PhD……. str. 29

Téma měsíce

Vaginální mikrobiom

Dovolím si lehce obšírnější úvod a pokusím se tak téma vaginálního mikrobiomu zasadit do širšího kontextu. Věřím, že to bude zajímavé a motivující pro naše bádání!

Editorka časopisu *Nature* Kerri Smith v roce 2023 velmi výmluvně popsala, jak na výzkum nemocí vyskytujících se převážně u žen jako společnost vynakládáme méně veřejných financí než na výzkum nemocí typických pro muže [1]. Tato disproporce ve financování bývá vysvětlována nedostatečným zastoupením žen ve výzkumných institucích žádajících o granty a v agenturách rozdělujících tyto finance [2].

Kerri Smith uvádí příklad práce analyzující rozdělení financí ve výzkumu nádorových onemocnění. Ukazuje, že ve sledovaném období jedenácti let (2007-2017) byl výzkum gynekologických nádorů podfinancován v porovnání s jinými méně letálními a méně prevalentními nádorovými onemocněními [3].

Investice do výzkumu zdraví žen bezpochyby mají své historické kořeny, ale i v současnosti jsou stále výrazně nižší než investice do zdraví mužů, což má mimo jiné citelné ekonomické dopady. Genderové rozdíly ve zdravotní péči způsobují podle Světového ekonomického fóra (WEF [4]) roční ekonomickou ztrátu až jeden bilion dolarů. Analýza ukazuje, že každý jeden dolar investovaný do ženského zdraví by mohl přinést tři dolary v podobě vyššího pracovního zapojení žen. Ženy v průměru totiž stráví o 25 % více času v nemoci než muži, což ovlivňuje jejich produktivitu a kvalitu života [4]. Tak to pojďme společně měnit!

Nejčastější patologií u žen spjatou s vaginálním mikrobiomem je vaginální dysbióza (VD), která tvoří až 70 % obtíží řešených v gynekologických ambulancích a podle průzkumů jí trpí až třetina žen v USA [5, 6, 7]). Ačkoli často probíhá bez příznaků (svědění, výtok, zápach), i asymptomatická forma zvyšuje riziko nákazy sexuálně přenosných nemocí, potratu nebo předčasného porodu. Z epidemiologických studií víme, že VD je také spjata s rozvojem gynekologických nádorů. Podle dr. Caroline Mitchell z Massachusetts General Hospital v Bostonu se léčba vaginální dysbiózy od r. 1982 skoro nezměnila a po měsíci zůstává 40 % pacientek bez léčebného efektu. Velkým problémem je také častá rekurence [8]. Mimochodem, právě dr. Caroline Mitchell a její tým se jako první vůbec zabývá transplantací vaginálního mikrobiomu pro léčbu VD [9].

Vaginální mikrobiom žen v průběhu života

Dětství, nástup puberty

Hladiny estrogenů jsou u novorozenců vysoké díky estrogenům od matky. Klesají až během prvních týdnů života a obvykle zůstávají nízké až do začátku puberty. Vaginální mikrobiom premenarchálních dívek je osídlený druhy *Peptoniphilus, Porphyromonas, Prevotella, Pseudomonas* a *Escherichia*. Laktobacily, suverénně nejzastoupenější bakterie vaginálního mikrobiomu žen v reprodukčním věku, se vyskytují pouze sporadicky a vaginální pH je neutrální až mírně alkalické. Nástup puberty a zvýšení hladiny estrogenu pravděpodobně iniciuje růst laktobacilů, jejichž koncentrace se zvýší hned o několik řádů [7].

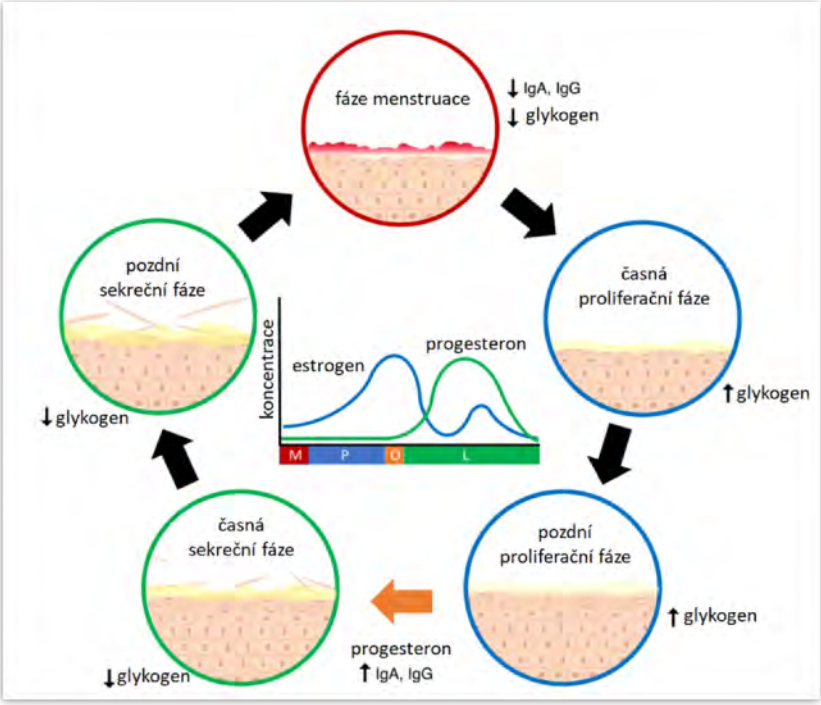
Obecně toho o vaginálním mikrobiomu dívek před nástupem puberty mnoho nevíme. Tento nedostatek znalostí by dle France et al. neměl být interpretován jako odraz mizivého významu vaginální mikrobioty u dívek. Předpokládá se například, že vaginální mikrobiota hraje roli při infekcích močových cest v dětství, kterými trpí 3-7 % pediatrické populace dívek [7].

Dospělost

Přirozené pH ve vagíně zdravé pohlavně dospělé ženy je mírně kyselé (3,8–4,5). Kyselina mléčná produkovaná laktobacily udržuje nízké pH, což brání růstu škodlivých bakterií a rozvoji infekcí. Laktobacily také produkují antimikrobiální peptidy (bakteriociny). Produkce peroxidu vodíku laktobacily byla dlouho považována za významnou obrannou strategii, avšak s ohledem na nízkou koncentraci kyslíku ve vaginálním prostředí (cca 5–10× nižší než v atmosféře) je její účinek pravděpodobně omezený a má spíše doplňkovou roli vedle kyseliny mléčné a dalších mechanismů.

Vaginální mikrobiota většiny žen v reprodukčním věku odpovídá složení některého z pěti tzv. vaginotypů neboli community state types (CST). Čtyřem CST dominují druhy laktobacilů: CST I - *L. crispatus*, CST II - *L. gasseri*, CST III - *L. iners*, CST V - *L. jensenii*, pátý typ obsahuje zástupce fakultativních a obligátních anaerobů jako je například *Gardnerella, Atopobium, Prevotella, Candidatus* Lachnocurva vaginae a *Peptoniphilus*. Nejrozšířenějšími vaginotypy jsou CST I, III a IV, které se vyskytují až u 90 % žen v reprodukčním věku. Někdy se používá jemnější klasifikace s uvedením podtypů, případně s popisem neobvyklých mikrobiálních komunit. Zároveň v čase může jeden typ přecházet v druhý, a to i vlivem menstruačního cyklu [7]. Také etnicita se ukázala být důležitým faktorem, jak jsme již psali v Mikrobio(m)novinách 3/2024.

Vaginální mikrobiom žen v reprodukčním věku je silně ovlivněn menstruačním cyklem. Hormonální změny hladin estrogenu a progesteronu ovlivňují složení střevní i vaginální mikrobioty. Ve střevě mohou mít tyto hormony vliv na trávení i imunitní odpověď. Každá fáze menstruačního cyklu je charakteristická určitými podmínkami poševního mikroprostředí, jak vidíme na obrázku níže.



Obr. 1: Vliv menstruačního cyklu na poševní mikroprostředí. Během menstruace (M; červeně) protéká pochvou krev a vyloučená vrstva děložního endometria. Při následné proliferační fázi (P; modrá) podporují vyšší hladiny estradiolu růst a zrání poševního epitelu. Hlen je v této fázi řidší, což má usnadnit průnik spermií. Po ovulaci (O; oranžová) se během sekreční fáze (L; zelená) zvyšuje hladina progesteronu, blokující růst a zrání epitelu. Epiteliální buňky jsou vylučovány a vrstva hlenu je silnější.

Pokud v pochvě převládají laktobacily, brání množení ostatních druhů bakterií. Laktobacily produkují enzym, který rozkládá glykogen (produkují ho epitelové buňky) na menší polymery glukózy, jež jsou následně importovány do laktobacilů a fermentovány na kyselinu mléčnou. Tím dojde k okyselení prostředí na pH <4. Převzato a upraveno dle [7].

Změny v hladinách hormonů vedou v období okolo ovulace k vytvoření stabilnějšího vaginálního mikrobiomu s vyšší koncentraci laktobacilů. Naopak před menstruací se množství laktobacilů snižuje. Během fáze menstruace dochází ke zvyšování pH směrem k neutrálním hodnotám, čímž se zvyšuje riziko rozvoje vaginální dysbiózy. Během menstruace je navíc děložní čípek více otevřený, což může umožnit snadnější průnik bakterií do dělohy. Přítomná krev může navíc sloužit jako živná půda pro růst bakterií.

V těhotenství se zvyšují hladiny estrogenů a progesteronu, což opět vede k podpoře růstu laktobacilů a tedy k udržení kyselého prostředí bránícího infekcím. Víme, že ženy s dostatečným množstvím laktobacilů mají i nižší riziko předčasného porodu. Ani zde však nelze zevšeobecňovat. Zatímco většina zástupců rodu *Lactobacillus* je pro svou

hostitelku prospěšná, najdou se i výjimky. Např. přítomnost *Lactobacillus iners* ve vaginálním mikrobiomu je poměrně diskutovaná a rozhodně ne jednoznačně „ochranná“ ve smyslu zdravého vaginálního prostředí. Naopak, je spojována s vyšší variabilitou mikrobiomu, rizikem předčasného porodu či nižší úspěšností IVF. Během menopauzy, kdy dochází k poklesu hladin estrogenu, dochází i k poklesu počtu laktobacilů. Právě modulace vaginálního mikrobiomu by mohla mít potenciál zabránit suchosti poševní sliznice během menopauzy [7].

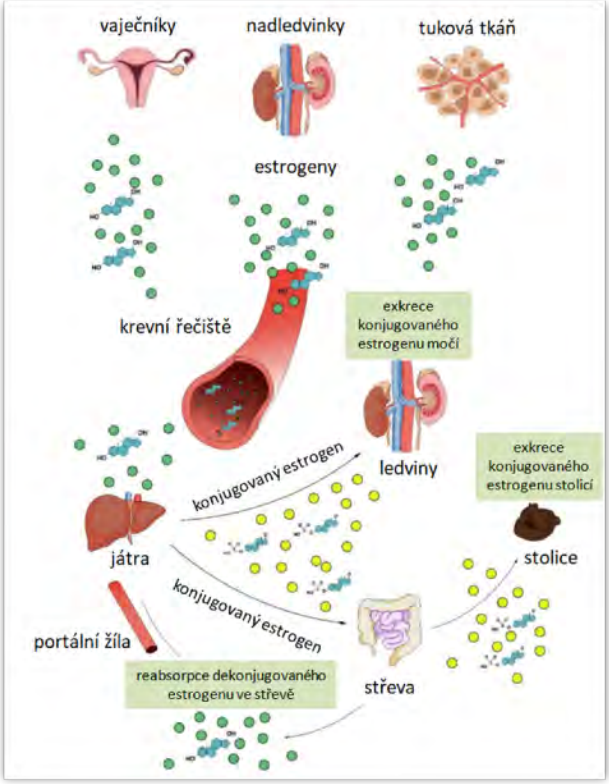
Vaginální mikrobiom v širších souvislostech

Vaginální mikrobiom nelze vnímat odděleně od ostatních mikrobiomů ženského těla. Jeho rovnováha úzce souvisí s hormonálním prostředím těla, které je ovlivňováno i dalšími mikrobiálními lokalitami – zejména střevním mikrobiomem. V játrech dochází k přeměně estrogenu na konjugované formy (například glukuronidáty a sulfáty), které mají sníženou biologickou aktivitu a jsou určeny k vyloučení močí nebo stolicí. Střevní bakterie však produkují enzym β-glukuronidázu, který je schopen tyto konjugované formy dekonjugovat, čímž přeměňuje estrogen zpět na biologicky aktivní formu (viz obr. 2). Tím střevní mikrobiom ovlivňuje celkovou hormonální rovnováhu v těle a může přispět k různým zdravotním problémům, jako jsou endometrióza, metabolické poruchy (projevující se např. během menopauzy) nebo hormonálně závislé nádory [10]. Na složení vaginální mikrobioty má vliv nejen hormonální hladina, ale i imunitní

odpověď. Ženy mají dva chromozomy X, které nesou řadu genů spjatých s imunitou, což může přispívat k vyšší variabilitě reakcí na mikrobiální kolonizaci [11].

Ještě širší souvislosti?

Kromě vlivů uvnitř těla bychom neměli zapomínat ani na ty vnější. Na tomto místě by se slušelo rozebrat, jak různé typy menstruačních pomůcek, intimní hygiena, koupání v bazénu, lubrikanty nebo antikoncepční metody ovlivňují stav vaginálního mikrobiomu. Ale rozhodli jsme se nechat si tato témata zase třeba do dalších čísel! A to se stále vyhýbáme tématu mikrobiomu celé reprodukční soustavy…To zas někdy příště.



Obr 2: Estrogeny jsou produkovány ve vaječnících, v nadledvinkách, ale i v tukové tkáni. Jakmile se dostanou krevním řečištěm do jater, ukončí jejich signální pouť tělem inaktivace, estrogeny zde podléhají glukuronidaci nebo sulfonaci. Tyto konjugované formy estrogenů už jsou dobře rozpustné ve vodě a lze je vyloučit z těla v moči, žluči nebo stolici. V trávicím traktu ovšem může být tato inaktivovaná forma estrogenu dekonjugována právě střevními bakteriemi, a reabsorbována. Převzato a upraveno dle [12].

Estrogen

Estrogeny představují souhrnné označení pro skupinu steroidních hormonů, které hrají klíčovou roli zejména v reprodukčním systému. Tvoří se ve vaječnících, ale i v játrech, nadledvinách nebo tukové tkáni. U mužů mají estrogeny svoji úlohu při vývoji spermií. U žen řídí estrogeny vývoj sekundárních pohlavních znaků a regulují menstruační cyklus. U žen se tedy hladiny estrogenů mění v průběhu života i v rámci jednoho menstruačního cyklu. Hladiny estrogenu v těle se podílí na podobě mikrobiomu, a i sám mikrobiom ovlivňuje hladiny estrogenu.

Kateřina Chudá

Literatura:

[1] Smith, Kerri. "Women's health research lacks funding - in a series of charts." Nature vol. 617,7959 (2023): 28-29. doi:10.1038/d41586-023-01475-2

[2] Stadmark J, Jesus-Rydin C, Conley DJ. Success in grant applications for women and men. Adv Geosci. 2020;53:107-115. doi:10.5194/adgeo-53-107-2020

[3] Rush S, Uppal S, Wang C, et al. Updated funding to lethality measures for National Cancer Institute funding allocation (2007-2017). Gynecol Oncol. 2021;162(2021):S322-S323. doi:10.1016/s0090-8258(21)01262-2

[4] Moley K. Closing the gender health gap is a $1 trillion opportunity. Biopharma Deal. 2024;(June):2022-2024. doi:10.1038/d43747-024-00021-x

[5] Anahtar, Melis N et al. "Cervicovaginal Microbiota and Reproductive Health: The Virtue of Simplicity." Cell host & microbe vol. 23,2 (2018): 159-168. doi:10.1016/j.chom.2018.01.013

[6] Felix, Thais Chimati et al. "Evaluation of Vulvovaginitis and Hygiene Habits of Women Attended in Primary Health Care Units of the Family." International journal of women's health vol. 12 49-57. 30 Jan. 2020, doi:10.2147/IJWH.S229366

[7] France, Michael et al. "Towards a deeper understanding of the vaginal microbiota." Nature microbiology vol. 7,3 (2022): 367-378. doi:10.1038/s41564-022-01083-2

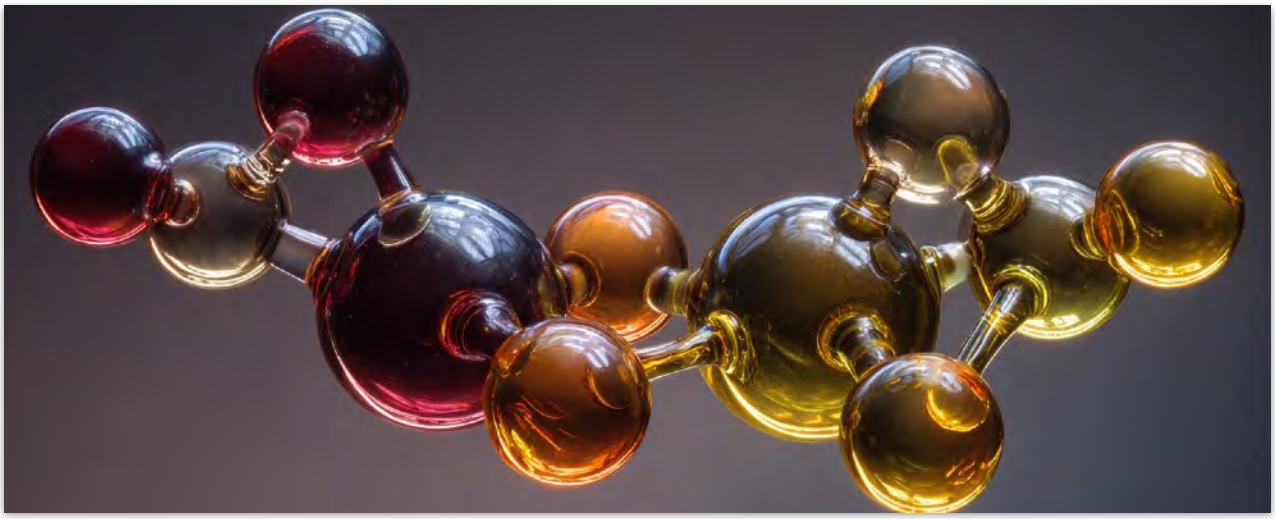
[8] Valenzano N. An uncomfortable truth: How stigma and a lack of funding has set back research and treatments for vulvovaginal disorders. Med Press. Published online 2023:1-6.

[9] Yockey, Laura J et al. "Screening and characterization of vaginal fluid donations for vaginal microbiota transplantation." Scientific reports vol. 12,1 17948. 26 Oct. 2022, doi:10.1038/s41598-022-22873-y

[10] Baker, James M et al. "Estrogen-gut microbiome axis: Physiological and clinical implications." Maturitas vol. 103 (2017): 45-53. doi:10.1016/j.maturitas.2017.06.025

[11] Bianchi, Ilaria et al. "The X chromosome and immune associated genes." Journal of autoimmunity vol. 38,2-3 (2012): J187-92. doi:10.1016/j.jaut.2011.11.012

[12] Valeri, Francesco, and Kristina Endres. "How biological sex of the host shapes its gut microbiota." Frontiers in neuroendocrinology vol. 61 (2021): 100912. doi:10.1016/j.yfrne.2021.100912



Metodické okénko

Pozitivní a negativní kontroly

Delší dobu jsem vás zásobovala pohledy na sekvenování od jiných lidí a snad jste si, stejně jako já, rozšířili obzory. Nyní ale zase naskočíme zpět na vlak a pojedeme v našich analýzách dál. Dnes se budeme věnovat pozitivním (vidíte, tohle slovo ode mě moc často neslýcháte) a negativním (jo, tak tady s tím slovem jsme už doma) kontrolám. Obojí nabývá při analýzách mikrobiomu na významu a není radno je podceňovat – stávají se standardem a pro publikaci v kvalitních časopisech jsou již nezbytné.

Obecně platí, že čím méně bakteriální DNA se ve vzorku nachází, tím více negativních i pozitivních kontrol je potřeba. Musíme totiž zabránit tomu, aby kontaminující DNA zkreslila výsledky. Pokud je ve vzorku bakteriální DNA dostatek (například ve stolici), drobná kontaminace z okolí či reagencií se obvykle výrazně neprojeví. Naopak u vzorků s velmi nízkým obsahem bakteriální DNA může i malá příměs kontaminující DNA zásadně ovlivnit výsledky [1] . V takových případech obvykle děláme sekvenaci genu pro 16S rRNA – protože když je málo bakteriální DNA, bývá tam zároveň hodně jiné (například hostitelské) DNA a metagenomové sekvenování (WMGS) je tak finančně velmi náročné až za hranicí proveditelnosti.

Říkáte si, že když používáte všechno sterilní, tak se vám nic tak ošklivého jako kontaminace nemůže stát? Ale kdepak. Sterilní totiž neznamená „bacterial DNA free“. Pokud si nepřiplatíte za speciální kity, které právě tuto vlastnost deklarují, musíte s určitou mírou kontaminace počítat. Pracujete-li s tímto typem vzorků s nízkou náloží bakteriální DNA, je dobré používat co nejvíce reagencií bez bakteriální DNA nebo je této DNA před použitím zbavit.

Kromě toho je důležité vést si pečlivé záznamy, protože jakákoli odchylka se může snadno projevit na výsledném bakteriálním profilu. Zapisujte si: kdo, kdy, kde, jak, s čím. Samozřejmě existují i reportované zkušenosti, že na výsledek mají vliv i skvrny na Slunci a fáze Měsíce – nicméně jsem nikde v odborné literatuře nenašla, že by to někdo v záznamech opravdu uváděl. 😊

A teď už k hlavnímu tématu – co vlastně pozitivní a negativní kontrola je?

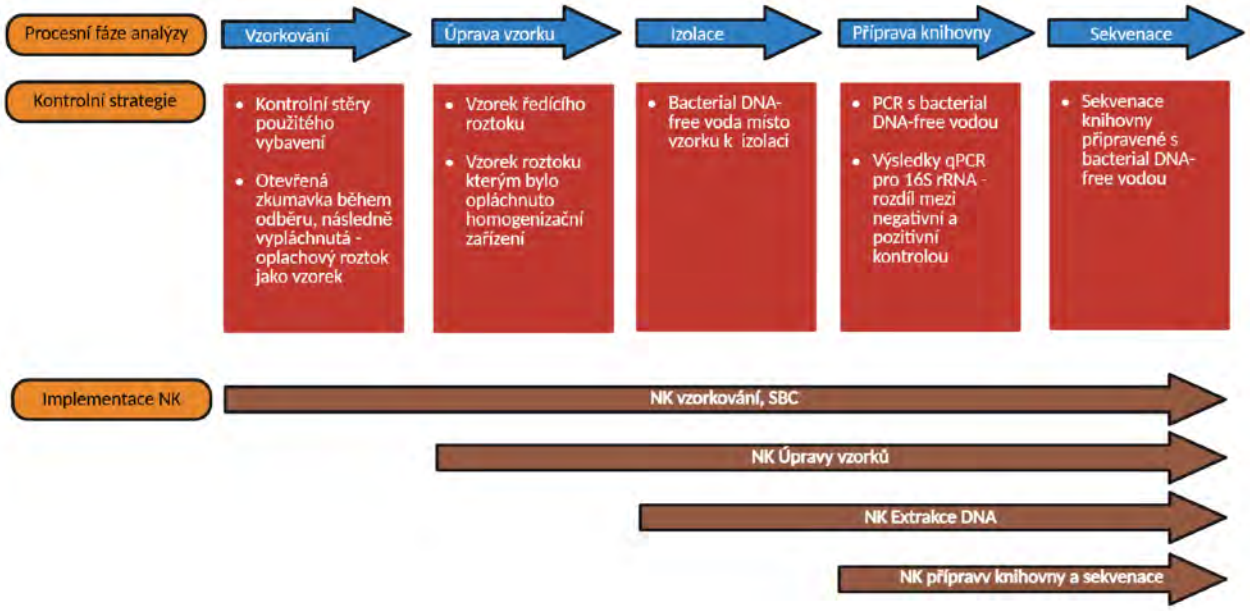
Negativní kontrola

Negativní kontrola slouží k odhalení kontaminace. Ta může pocházet z vnějšího prostředí, z použitých reagencií, ale i od vás samotných. Setkáváme se také se zkříženou kontaminací, kdy se vzorky zkontaminují navzájem svou DNA. Negativní

kontrolu lze zařadit do každého procesního kroku (viz obr. 1) – můžete udělat kontrolní stěry z prostředí, vypláchnout zkumavku nebo nástroj apod. Nejčastěji se ale používá u izolace DNA a PCR, kdy místo vzorku přidáte do reakce super čistou vodu bez bakteriální DNA (pozor, musí se kupovat speciální, klasická DEPC to nesplňuje) nebo pufr příslušného kitu.

Kolik negativních kontrol přidat? Stačí jedna na projekt? Odpověď není jednoduchá a závisí na nastavení konkrétních laboratorních procesů a také na tom, co s těmito daty plánujete dělat. Obecně platí, že by měla být minimálně jedna kontrola na jeden izolační kit. Pokud máte ve vzorku skutečně málo bakteriální DNA (to zjistíte pomocí qPCR), doporučuje se zařadit negativní kontrolu při každé izolaci – ideálně jako první a poslední zkumavku.

Osekvenované negativní kontroly můžete využít i pro bioinformatické odstranění kontaminace pomocí speciálních algoritmů (např. decontam). V takovém případě je vhodné mít minimálně tři nezávislé negativní kontroly. Tento přístup je moderní, ale není bez rizika – nesprávné vyhodnocení, byť jen jednoho taxonu jako kontaminantu nám může do vzorku zanést dodatečné zkreslení. Je proto potřeba dobře promyslet, zda bakterie, kterou algoritmus označil jako kontaminantu, není právě ta klíčová, která do vzorku ve skutečnosti patří.



Obr. 1 Negativní kontroly během procesu zpracovávání vzorků pro mikrobiomové analýzy

Pozitivní kontrola

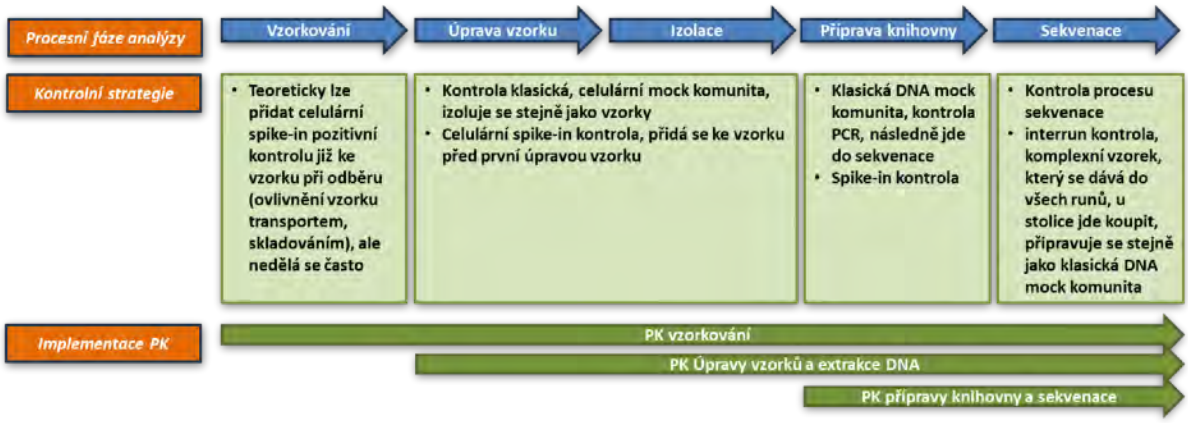
Pozitivní kontroly (PK) slouží k ověření, že proces probíhá správně a dává očekávaný výsledek. V mikrobiomových studiích nejčastěji používáme tzv. Mock Community (MC) – směs mikrobiálních buněk nebo DNA ve známém poměru a přesně definované koncentraci. PK může mít podobu buněčné suspenze (celulární MC), purifikované DNA (MC DNA standard) nebo syntetické sekvence.

PK si můžete zakoupit (např. Zymo Research), sami namíchat, nebo si je nechat nasyntetizovat a pomnožit např. v plazmidech. Záleží, jaký typ vzorku máte a čeho chcete dosáhnout. Kromě použití stejného poměru mikroorganismů můžete použít i různé koncentrace a tím zjistit např. citlivost procesu, bias při nízké abundanci nebo limit detekce.

Pozitivní kontrola se může zpracovávat stejně jako vzorek (tzv. klasická PK), nebo se může přidat přímo do vzorku jako vnitřní – spike-in – kontrola. Obě lze použít v různých fázích procesu (viz obr. 2), nejčastěji ale opět při izolaci DNA a PCR.

Klasická kontrola pomáhá optimalizovat proces, např. pomocí série ředění lze zjistit účinnost extrakce a limit detekce. Pomáhá také odhalit zkřížené kontaminace. Při izolaci využíváme obvykle celulární MC, při PCR spíše MC DNA standard. Minimálně MC DNA standard by měl být v každé mikrobiomové studii zahrnut – mimo správné laboratorní praxe je také vyžadován při publikaci.

Spike-in kontrola se přidává přímo do vzorku, proto musí být jasně odlišitelná. U izolace se používá celulární MC, u PCR obvykle DNA (MC DNA standard nebo syntetickou sekvenci). Syntetická sekvence má tu výhodu, že je unikátní, a tedy nemá shodu s žádnou známou bakterií, je stejně dlouhá jako váš amplikon, obsahuje vazebná místa pro primery a je přesně kvantifikovatelná. Na rozdíl od běžných spike-in kontrol z DNA známých mikroorganismů tak neinterferují s mikrobiálním profilem vzorku a umožňují přesné určení počtu kopií. Taková spike in kontrola vám umožní analyzovat i vzorky, které by byly jinak jen velmi těžce zpracovatelné z důvodu malého množství amplifikovatelné DNA, pomůže odhalit PCR inhibice a bioinformaticky odstranit kontaminace. Můžete přidat i syntetickou sekvenci tak, aby vznikly amplikony pro bakterie i eukaryota a následně pak zjistit poměry mezi těmito doménami ve vzorku.



Obr. 2 Pozitivní kontroly během procesu zpracovávání vzorků pro mikrobiomové analýzy

Představili jsme si tedy hromadu možností, které můžete využít. Zásadní roli hraje, jak nízký je obsah bakteriální DNA ve vzorku. V současnosti se však i u vzorků, kde se očekává dostatek bakteriální DNA (například stolice), považuje za minimální standard zařazení negativní kontroly izolace a klasické pozitivní kontroly (MC DNA standard) pro PCR. Zvážila bych také tzv. inter-run kontrolu – komplexní kontrolní vzorek, který zařazujete do každého runu. Pro stolici lze zakoupit komerčně, nebo si můžete sami připravit směs DNA z několika typických vzorků a tuto směs si zamrazit pro opakované použití. A rozhodně není na škodu osekvenovat také negativní kontrolu PCR.

Na co všechno tedy myslet? Pokud pracujete se vzorky s nízkým obsahem bakteriální DNA, je dobré vše promyslet už při psaní projektu – kontroly totiž mohou výzkum výrazně prodražit (může dokonce nastat situace, kdy budete mít více kontrol než vlastních vzorků). A taky: kontroly nestačí jen „udělat", ale musíte je také vyhodnotit – a to už neprojde přes běžnou „standardní" pipeline. Navíc vám nikdo neřekne, co je „už nepřijatelně špatně" a co „ještě tak nějak ujde". Neexistují žádné mezinárodně uznávané cut-offs – ta těžká rozhodnutí budou jen a jen na vás. Nicméně ať se rozhodnete jakkoli – prosím (!!!), napište to co nejpřesněji do popisu metodiky. Nesmírně pomůžete těm, kteří budou chtít vaše výsledky s něčím srovnávat nebo váš postup zopakovat. Zaručeně si polepšíte v karmě alespoň o jeden level 😊

Nejednotnost používání kontrol, a hlavně jejich vyhodnocování se podepisuje na tom, proč o střevním mikrobiomu stále h…o, pardon, STOLICI víme.

Petra Vídeňská

Literatura

[1] Eisenhofer, Raphael et al. "Contamination in Low Microbial Biomass Microbiome Studies: Issues and Recommendations." Trends in microbiology vol. 27,2 (2019): 105-117. doi:10.1016/j.tim.2018.11.003

Mikrobio(m)novinky a zajímavosti

Veganská, vegetariánská a strava „všežravců" – vliv na charakteristické rysy střevního mikrobiomu a zdraví

V této Mikrobio(m)novince se čtenáři mohou dočíst opět novinky z oblasti vlivu diety na střevní mikrobiom. Není překvapením, že strava úzce souvisí se zdravím – a stále více výzkumů ukazuje, že zásadní roli v tomto vztahu hraje také střevní mikrobiom. Rostlinná strava podporuje střevní homeostázu např. produkcí mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFA), které vznikají fermentací jinak nestravitelných rostlinných polysacharidů.

Naopak strava s nízkým podílem nezpracovaných rostlinných složek a vysokým obsahem živočišných produktů bývá spojována se zvýšenou fermentací bílkovin ve střevě, produkcí potenciálně škodlivých metabolitů, narušením střevní bariéry a zánětlivými procesy. Zároveň může vést ke snížené produkci prospěšných SCFA. Potraviny živočišného původu navíc výrazně zatěžují životní prostředí – mohou přispívat ke klimatickým změnám, vyšší spotřebě vody a dalším ekologickým problémům. I proto roste počet lidí, kteří do své stravy zařazují více rostlinných potravin.

Vědecký tým Fackelmann et al. [1], se zaměřil na sledovaní charakteristických rysů střevního mikrobiomu u osob, které se mají různé stravovací návyky – vegani (strava bez masa, mléčných výrobků a dalších živočišných produktů), vegetariáni (strava bez masa) a všežravci (strava obsahující vše včetně masa, mléčných výrobků a zeleniny). Článek byl publikován v časopise *Nature Microbiology*.

Popularita rostlinné stravy v posledních letech stoupá. Není tedy překvapením, že se vědci zaměřují na dopad této diety na střevní mikrobiom. V této studii byla analyzována data z 5 nezávislých, mezinárodních kohort (celkem 21 561 osob) a byly sledovány následující cíle:

- Porovnat střevní mikrobiom napříč třemi hlavními stravovacími vzorci – veganským, vegetariánským a omnivorním (běžnou stravou zahrnující jak rostlinou stravu, tak maso).
- Identifikovat mikrobiální znaky (taxony), které jsou společné napříč kohortami a geografiemi – tzv. *diet-associated gut microbiome signature*.
- Zhodnotit vztah mezi dietními vzorci, mikrobiálními znaky a zdravotními parametry, především kardiometabolickými (BMI, krevní tlak, krevní lipidy aj.).
- Zaměřit se na tzv. environmentální bakterie (např. půdní a mléčné bakterie) a sledovat, jak se jejich výskyt liší podle typu stravy.

Tři hlavní kohorty pocházely ze studie ZOE PREDICT: smíšená kohorta P1 (90 % účastníků z Velké Británie, 10 % z USA; n = 1062), britská kohorta P3 UK22A (n = 12 353) a americká kohorta P3 US22A (n = 7931). Dále byly zahrnuty dvě menší veřejně dostupné italské kohorty (n = 118 a n = 97). Rozdělení účastníků na vegany, vegetariány a omnivory bylo provedeno na základě vlastního sebehodnocení účastníků. To probíhalo prostřednictvím dotazníků o frekvenci konzumace potravin (FFQ – Food Frequency Questionnaire) nebo dalších dietních průzkumů podle typu kohorty. Účastníci tak uvedli, jak často a v jakém množství konzumují jednotlivé druhy potravin, což umožnilo zařazení do konkrétní stravovací skupiny. Celkem bylo analyzováno 656 veganů, 1 088 vegetariánů a 19 817 omnivorů. Profilování střevního mikrobiomu u sledovaných skupin probíhalo pomocí celometagenomového sekvenování.

Mikrobiální diverzita se významně lišila v závislosti na stravovacích návycích. Alfa diverzita střevního mikrobiomu byla nejnižší u veganů, což bylo překvapivé, vzhledem k všeobecně panující představě, že rostlinná strava diverzitu zvyšuje. Ukazuje se tedy, že vyšší diverzita nemusí být synonymem zdravějšího stavu mikrobiomu, ale je důležité také sledovat zastoupení prospěšných druhů, jako jsou *Roseburia hominis* a *Butyricicoccus*, které produkují butyrát – mastnou kyselinu s krátkým řetězcem s protizánětlivým účinkem. Naopak u omnivorů byla sice diverzita vyšší, ale zahrnovala i bakterie, které nejsou spjaty s pozitivními zdravotními efekty.

Vliv stravy na celkové složení střevního mikrobiomu byl analyzován několika různými přístupy. Pomocí analýzy beta diverzity bylo možné pozorovat zřetelné shluky mikrobiálních profilů podle typu stravy, které se částečně překrývaly, ale zároveň vytvářely výrazně odlišné skupiny.

Autoři rovněž použili metody strojového učení k predikci typu stravy na základě mikrobiálních dat. Ukázalo se, že zejména u veganů a omnivorů bylo možné dietní

režim odhadnout s vysokou přesností – model založený na random forest dosáhl AUC až 0,90, což svědčí o velmi silné vazbě mezi dlouhodobými stravovacími návyky a mikrobiálním složením.

Autoři identifikovali třicet mikrobiálních markerů – tedy bakteriálních druhů, které nejvýrazněji odlišovaly jednotlivé dietní skupiny a zároveň vykazovaly silnou a konzistentní statistickou souvislost se stravovacími návyky. Nejvíce korelací se našlo u omnivorů, tedy skupiny bez jakékoliv restrikce. Ale protože se jedná o velmi heterogenní skupinu, autoři kromě dietního zařazení sledovali také vliv tzv. food groups, např. množství konzumovaného červeného masa, mléčných výrobků nebo vlákniny, což dává přesnější obraz o vlivu jednotlivých složek potravy na střevní mikrobiom.

U osob konzumujících červené maso se častěji vyskytovaly mikroorganismy jako *Ruminococcus torques*, který je spojován s degradací ochranné hlenové vrstvy střevní sliznice a zánětlivými procesy, *Bilophila wadsworthia*, známá svou schopností růst za přítomnosti žlučových kyselin a spojovaná se zánětem a dysbiózou, a *Alistipes putredinis*, která se podílí na fermentaci bílkovin a v této studii negativně korelovala s kardiometabolickým zdravím. Množství těchto bakterií navíc úzce souviselo s množstvím konzumovaného masa. U vegetariánů a veganů se naopak tyto druhy vyskytovaly jen velmi vzácně nebo vůbec.

Pozitivní mikrobiální markery byly naopak pozorovány u veganů a u těch omnivorů, kteří konzumovali vyšší podíl rostlinné stravy. V jejich mikrobiomu se častěji vyskytovali producenti butyrátu, jako *Roseburia hominis*, *Butyricicoccus* nebo zástupci

Lachnospiraceae – tedy bakterie spojované s příznivými účinky na střevní prostředí a kardiometabolické zdraví.

Studie sledovala i výskyt tzv. environmentálních bakterií, které se do střeva dostávají přímo s potravou. Konzumace mléčných výrobků se ukázala jako jeden z hlavních rozlišovacích faktorů mezi vegany a ostatními skupinami. V mikrobiálním profilu vegetariánů a omnivorů byly totiž častěji přítomny tzv. mléčné bakterie, např. *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. delbrueckii* nebo *Lactococcus lactis*, které běžně pocházejí z fermentovaných mléčných produktů. Tyto bakterie byly naopak u veganů vzácnější.

U veganů byly častěji detekovány půdní bakterie jako: *Enterobacter hormaechei, Citrobacter freundii, Raoultella ornithinolytica, Klebsiella pneumoniae*.

Výsledky tak potvrzují, že dlouhodobé stravovací návyky se výrazně otiskují do složení střevního mikrobiomu – a některé změny mohou mít přímý vztah ke zdraví.

Pozn. Pokud si chcete osvěžit nejnovější poznatky o složení bakteriálních profilů, na kterých se podílejí bakterie přijaté potravou můžete se podívat na Mikrobio(m)novinku 5/24).

Hana Sechovcová a Petra Vídeňská

Literatura

[1] Fackelmann, Gloria et al. "Gut microbiome signatures of vegan, vegetarian and omnivore diets and associated health outcomes across 21,561 individuals." *Nature microbiology* vol. 10,1 (2025): 41-52. doi:10.1038/s41564-024-01870-z

Jak antibiotika ovlivňují odpověď kojenců na očkování?

V prvních týdnech života se formuje nejen mikrobiom, ale i imunitní systém – a obojí spolu úzce souvisí. Když do tohoto procesu zasáhnou antibiotika, může to mít širší dopady, než jsme si doposud mysleli. Nedávno publikovaná studie v časopise *Nature* od Ryan et al. [1] ukazuje, že změny ve vývoji mikrobiomu po expozici antibiotikům mohou významně ovlivnit i účinnost očkování v kojeneckém věku.

Australská prospektivní kohortová studie sledovala 191 donošených, vaginálně narozených dětí od porodu do 15 měsíců věku. Děti byly podle typu antibiotické expozice rozděleny do čtyř skupin. Skupinu Neo-ABX tvořily děti (n = 32), které dostaly systémová antibiotika přímo do 48 hodin po porodu. Další dvě skupiny tvořily děti, které byly exponovány antibiotikům nepřímo. IP-ABX skupina (n = 49) zahrnovala děti, jejichž matky dostaly antibiotika během porodu. Do skupiny PN-ABX (n = 30) patřily děti, jejichž matky užívaly antibiotika po porodu. Kontrolní skupina No-ABX (n = 80) nebyla antibiotikům žádným způsobem vystavena.

Děti byly očkovány podle Australského národního imunizačního programu. V rámci studie byly z krevních odběrů analyzovány hladiny protilátek (IgG) vůči antigenům obsaženým ve vakcínách Prevenar 13 (PCV13, kapsulární polysacharidy několika sérotypů *Streptococcus pneumoniae*), Infanrix Hexa (6v1, toxoidy záškrtu a tetanu, pertusový antigen a polysacharidy *Haemophilus influenzae* typu b) a 4CMenB/Bexsero (u podskupiny dětí očkovaných proti meningokoku B). Protilátkové odpovědi byly hodnoceny ve třech časových bodech – po narození, v 7 měsících (po dokončení základního schématu) a v 15 měsících.

Vliv antibiotik na koncentraci protilátky

Výsledky ukázaly, že děti z Neo-ABX i PN-ABX skupiny měly signifikantně nižší relativní množství protilátek vůči několika antigenům – především proti pneumokokům. Kromě snížené koncentrace byla u skupiny kojenců přímo exponovaných antibiotikům prokázána i nižší funkčnost protilátek (např. opsonofagocytóza[1] vůči pneumokokům). Děti exponované antibiotikům přes intrapartální profylaxi (IP-ABX) nevykazovaly žádné významné rozdíly.

Jakou roli hraje mikrobiom?

Vzhledem k těmto rozdílům ve vakcinační odpovědi se autoři studie zaměřili i na možnou roli střevního mikrobiomu jako jednoho z faktorů, který by mohl odpověď imunitního systému ovlivňovat. Tato hypotéza navazuje na výsledky dřívějších studií, které odhalily, že složení raného mikrobiomu může ovlivnit odpověď na různé dětské vakcíny – včetně perorální vakcíny proti polioviru nebo tetanového toxoidu [2 , 3]. Nedávná práce také poukázala, že u dětí narozených císařským řezem, které v této studii nejsou zahrnuty, může jejich pozměněný střevní mikrobiom modulovat imunitní odpověď na očkování během prvního roku života [4].

Metagenomická analýza této studie ukázala, že ve věku 6 týdnů (před očkováním) měla Neo-ABX skupina výrazně sníženou relativní abundanci několika zástupců rodu *Bifidobacterium* – konkrétně *B. breve, B. bifidum a B. longum*. Vyšší přítomnost těchto bakterií korelovala s vyššími koncentracemi protilátek. Na druhé straně změny ve složení střevního mikrobiomu u IP-ABX skupiny byly patrné pouze v prvním týdnu života a do 6. týdne (tedy do doby očkování) se bez signifikantních rozdílů podobaly mikrobiálnímu profilu kontrolní skupiny kojenců.

Kauzální mediační analýza[2] pak ukázala, že pozitivní efekt *B. breve* a *B. bifidum* na hladinu IgG vůči pneumokokovému sérotypu PPS6B je zprostředkován aktivací zánětlivých transkripčních modulů, nikoli přímou aktivitou B buněk. Aby autoři ověřili, zda se skutečně jedná o příčinný vztah, provedli sérii experimentů na myších.

Pokusy na myších

Reakce na imunizaci byla porovnána u germ-free (GF) myší, které postrádají jakoukoli mikrobiotu a myší s běžnou mikrobiotou (SPF). Po imunizaci vakcínou 6v1 měly GF myši významně nižší hladiny IgG proti původcům záškrtu a tetanu, zatímco odpověď na původce černého kašle byla srovnatelná s SPF zvířaty. Po očkování vakcínou PCV13 byly odpovědi GF myší rovněž významně oslabené, zatímco u vakcíny proti meningokoku B (4CMenB) se odpovědi mezi skupinami nelišily.

Navíc se u GF myší po očkování PCV13 prokázala porušená tvorba germinálních center[3] a snížený počet T-folikulárních pomocných buněk, což ukazuje, že střevní mikrobiota je důležitá pro optimální aktivaci T-dependentní humorální odpovědi, zejména u konjugovaných polysacharidových vakcín[4].

Může pomoci probiotikum?

Pokud je mikrobiom v raném věku narušen například podáním antibiotik, nabízí se otázka, zda může cílená modulace mikrobiomu, například pomocí probiotik, podpořit imunitní odpověď na očkování. Autoři studie proto otestovali dvě probiotické strategie u GF myší. V první variantě kolonizovali březí GF samice směsí tří kmenů bifidobakterií (*B. breve, B. longum* a *B. infantis)* tak, aby potomstvo bylo osídleno od narození. Tyto myši měly po dvoudávkové aplikaci PCV13 výrazně vyšší hladiny specifických IgG, IgG1 a IgM, obnovila se u nich tvorba germinálních center i počet T-folikulárních pomocných buněk. Po jedné dávce vakcíny se však tyto rozdíly ještě neprojevily, což naznačuje, že ke stimulaci imunitního systému je třeba dostatečný antigenní podnět.

Ve druhé strategii dostaly GF myši týden před očkováním probiotikum Infloran, obsahující *B. bifidum* a *Lactobacillus acidophilus*. I zde došlo ke zlepšení protilátkové odpovědi vůči PCV13, ale pouze při podání kombinace obou probiotických kmenů – samostatně nebyl žádný z nich účinný. To podtrhuje často zmiňovaný synergický efekt mikrobiálních komunit.

Závěrem lze říci, že ačkoli studie pracuje s relativně malými počty dětí v jednotlivých skupinách a obdobné omezení platí i pro experimenty na zvířatech, její závěry rozšiřují naše chápání vlivu antibiotik na mikrobiom i odpověď na očkování. Ukazuje se, že narušení mikrobiomu může mít širší imunologické dopady – což jen podtrhuje naléhavost hledání cest, jak tuto rovnováhu u nejmenších dětí chránit.

Eliška Pivrncová

Vysvětlivky k odborným termínům

[1] **Opsonofagocytóza** – Proces, při kterém protilátky nebo jiné molekuly označí (opsonizují) bakterii, aby ji mohly imunitní buňky (např. makrofágy) snadněji rozpoznat a pohltit. Je to důležitá součást efektivní obrany proti bakteriálním infekcím – i když je protilátka přítomná, její funkčnost bez opsonofagocytózy může být nedostatečná.

[2] **Kauzální mediační analýza** – Statistická metoda, která pomáhá určit, jakým způsobem určitý faktor ovlivňuje výsledek. Zkoumá, zda působí přímo, nebo svůj účinek zprostředkovává (mediuje) přes jiný biologický mechanismus. Například: Pokud probiotikum zvyšuje hladinu protilátek, mediační analýza pomůže určit, zda je to přímým vlivem na B buňky, nebo nepřímo, přes aktivaci jiných zánětlivých drah.

[3] **Germinální centra** – Specializované struktury uvnitř lymfatických uzlin, které vznikají po kontaktu s antigenem (např. při očkování). Právě zde dozrávají a selektují se B buňky, které produkují protilátky. Aby byla protilátková odpověď silná a dlouhodobá, je nezbytná přítomnost T-folikulárních pomocných buněk (Tfh). Tyto buňky pomáhají B buňkám vybrat ty nejúčinnější protilátky a zásadně tak ovlivňují kvalitu celé imunitní odpovědi.

[4] **Konjugované polysacharidové vakcíny** – Speciální typ vakcín, které cílí na bakterie s cukerným (polysacharidovým) obalem – např. pneumokoky. Samotné cukerné antigeny nejsou pro imunitní systém příliš stimulující, proto se navazují na bílkovinný nosič. Ten pomáhá spustit silnější a déle trvající imunitní odpověď.

Literatura

[1] Ryan, Feargal J et al. "Bifidobacteria support optimal infant vaccine responses." Nature vol. 641,8062 (2025): 456-464. doi:10.1038/s41586-025-08796-4

[2] Huda, M Nazmul et al. "Bifidobacterium Abundance in Early Infancy and Vaccine Response at 2 Years of Age." Pediatrics vol. 143,2 (2019): e20181489. doi:10.1542/peds.2018-1489

[3] Huda, M Nazmul et al. "Stool microbiota and vaccine responses of infants." Pediatrics vol. 134,2 (2014): e362-72. doi:10.1542/peds.2013-3937

[4] de Koff, Emma M et al. "Mode of delivery modulates the intestinal microbiota and impacts the response to vaccination." Nature communications vol. 13,1 6638. 15 Nov. 2022, doi:10.1038/s41467-022-34155-2

Mikrobiom v praxi

Orální mikrobiom a zubaři

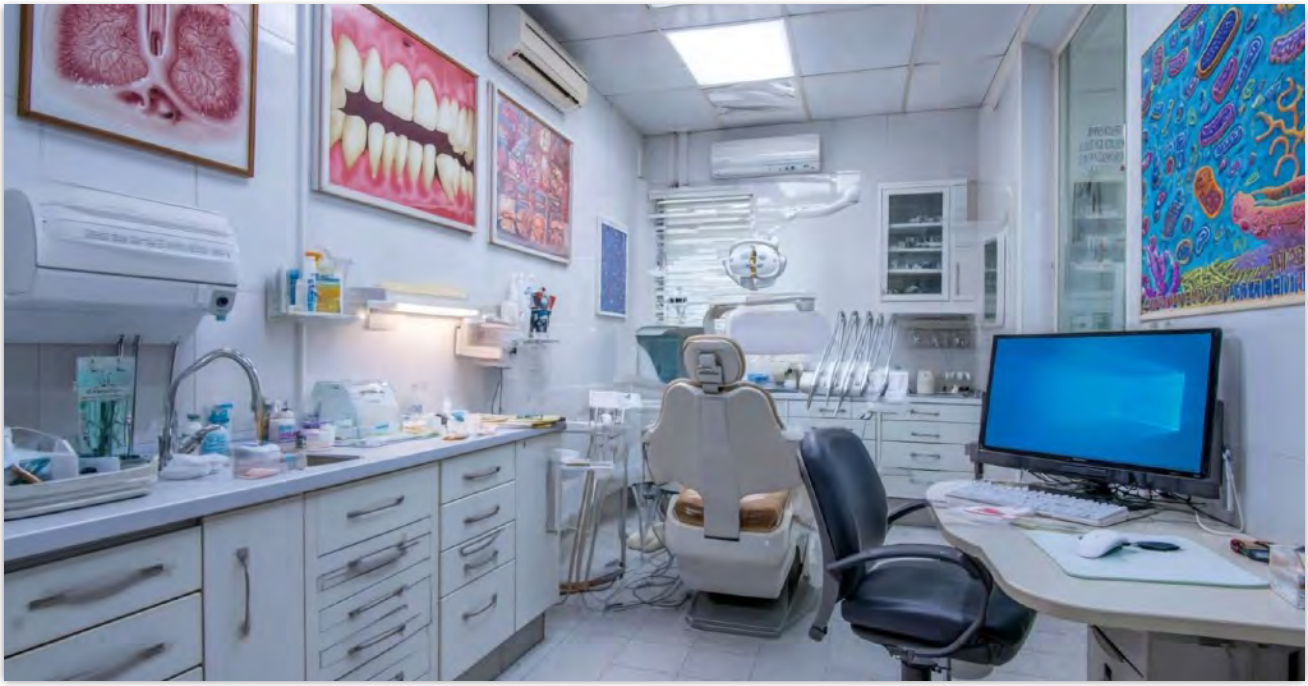
Novou rubriku Mikrobiom v praxi začneme pěkně na vstupu do systému, tedy v dutině ústní.
Pro „střevocentristy“ se pokusím vysvětlit, proč by měl orální mikrobiom (OM) vůbec někoho zajímat (více najdete v jednom z prvních čísel Mikrobio(m)novin z května 2021:

1) Zubní kaz a parodontitida jsou dvě snad nejčastější lidská onemocnění spojovaná s působením bakterií.

2) Parodontitida a související dysbióza OM a zánět jsou rizikovými faktory pro rozvoj snad všech nepřenosných civilizačních onemocnění, kam patří mimo jiné i kardiovaskulární choroby, diabetes 2. typu, neurodegenerativní onemocnění nebo některé druhy rakoviny.

3) Včasná informace o orální dysbióze a riziku rozvoje výše uvedených chorob by mohla být pro pacienty motivací pro radikální zlepšení péče (a taková změna má potenciál rozvoj nemoci zvrátit či alespoň výrazně zpomalit). Samozřejmě, zlepšit péči můžeme i bez analýzy, ale jsme lidé – líní lidé – asi občas potřebujeme trochu postrčit.

4) Na českém trhu je k dispozici několik produktů, které analýzu OM nabízejí, a to jak soukromým klientům, tak zubním lékařům – jeden z nich je dokonce hrazený zdravotní pojišťovnou (za velmi přesně definovaných podmínek). Jsou to testy jak velmi jednoduché založené na PCR nebo hybridizaci se specifickými sondami, tak i komplexní sekvenační využívající nejmodernější metody a recentní poznatky (bohužel,



pojišťovnou je hrazen jeden z těch dřevních hybridizačních testů určující pouze 5 patogenů).

Důvody, proč o OM něco zvědět tedy nechybí a nabídka testů existuje, a to od velmi jednoduchých, které nesdělí nic, co by se nedalo odvodit pohledem do dutiny ústní, až po ty moderní sekvenační (opět v provedení kvalitním i v provedení zavrženíhodném).

Jak je ale tato nabídka vnímána lékaři? Vědí o ní? Využívají ji? Může pacientům přinést prospěch – tedy je získaná informace rentabilní?

Na zkušenosti jsem se vyptala několika kolegyň a kolegů z nejpovolanějších. Paní doktorky a páni doktoři společně pokrývají široké spektrum specializací orální medicíny i věkových skupin pacientek/ů. Své lékařské praxe provozují v Praze, Brně, Třeboni i Českých Budějovicích, vyučují na pražské UK i brněnské MUNI, působí v představenstvu České stomatologické komory i v American Academy of Oral Medicine. Všem patří dík za jejich čas a péči, s jakou na mé otázky odpovídali:

Radka Makovská (RM) – praktická zubní lékařka (+ specializace z parodontologie)

Iveta Janatová (IJ) - praktická zubní lékařka (všechny věkové kategorie od miminek po seniory)

Markéta Janovská (MJ) - lékařka Oddělení orální medicíny Stomatologické kliniky 1. LF UK a VFN Praha – kromě výuky se věnuje zejména péči o pacienty se slizničními příznaky systémových chorob, je členkou American Academy of Oral Medicine (AAOM)

Jaroslav Myšák (JM) – parodontolog a stomatochirurg

Libor Zdařil (LZ) - praktický zubní lékař se specializací v zubní chirurgii, člen představenstva ČSK

Vojtěch Peřina (VP) -ústní čelistní a obličejová chirurgie, člen představenstva a vědecké rady ČSK

Jakému oboru se v rámci stomatologie věnujete? Prosím stručně vysvětlit:

(RM): Pracuji jako praktická zubní lékařka. Ošetřuji děti i dospělé. Náplní mé práce jsou preventivní prohlídky, výplně, extrakce zubů, protetické řešení fixními pracemi (korunky, můstky), snímací protetika (částečné nebo celkové náhrady). Mám dále specializaci z parodontologie a úzce spolupracuji s dentální hygienistkou. Těží z toho hlavně moji pacienti.

(IJ): Mým oborem je všeobecné zubní lékařstvi. Všechny věkové skupiny od miminek po seniory. Od prevence, přes výplně, kořenové kanálky, parodontologii, protetiku

(korunky můstky) po jednoduché extrakce. Na komplikovanější výkony odesílám na specializovaná pracoviště.

(MJ): Zabývám se obsahově velmi náročnou, multidisciplinárně zaměřenou stomatologickou specializací – orální medicínou. V rámci této stomatologické disciplíny, která má významný přesah do dalších medicínských oborů, se věnujeme péči o pacienty se slizničními příznaky systémových chorob (například nespecifických střevních zánětů, hematoonkologických onemocnění). Mnohdy nás orální projevy předcházející typickým manifestacím konkrétních celkových chorob vedou k podezření na určité systémové onemocnění. Naším úkolem je poté doplnit, a to ve spolupráci příslušnými lékařskými obory, další potřebná vyšetření. Naše pole působnosti je ale daleko širší a zahrnuje například i diagnostiku a terapii potenciálně maligních onemocnění dutiny ústní, řešíme do určité míry také příznaky lékové nesnášenlivosti a mnoho dalšího.

(JM): Věnuji se především parodontologii a stomatochirurgii. Parodontologie je jedním ze suboborů stomatologie, který se zabývá prevencí a terapií onemocnění tkání nacházející se vedle zubu, proto označení parodont. Mezi tři nejzákladnější onemocnění, se kterými se v ordinaci setkáváme patří gingivitis (zánět dásní různé etiologie), parodontitis (zánět zahrnující i resorpci alveolární kosti) a obnažování zubních krčků (gingivální recesy).

(LZ): Praktickému zubnímu lékařství se specializací v zubní chirurgii. Působím také jako člen představenstva ČSK, kde jsem pověřeným garantem projektu Republika bez kazu, a dále jako člen poradních skupin Ministerstva zdravotnictví ČR pro řešení nedostupnosti zubní péče a pro prevenci ve stomatologii.

(VP): Ústní čelistní a obličejová chirurgie, tzv. "velká zubní chirurgie". Řešíme úrazy, nádory, vývojové anomálie a těžké záněty v oblasti obličeje a krku.

Je pro Váš obor téma orálního mikrobiomu zajímavé? Pokud ano, tak v jakém smyslu?

(RM): Téma orálního mikrobiomu je jistě zajímavé v oblasti parodontologie, při sestavování léčebného plánu nebo u pacientů s vysokou kazivostí. U kardiaků, pacientů s cukrovkou, před zavedením implantátů by bylo někdy také dobré znát složení mikrobiomu v dutině ústní.

(IJ): Téma orálního mikrobiomu je pro mě zajímavé v tom smyslu, že ovlivňuje mou práci každý den. Při prevencích se snažím pacientům zjednodušeně a zrychleně vysvětlit, že máme v puse spoustu bakterií a některé způsobují kazy a některé

onemocněni dásní a proti těm je třeba neustále, pravidelně bojovat čištěním. Při vzniku kazu vysvětluji, že je to způsobeno kombinací několika faktorů: bakterie, cukr (zdroj potravy), čas. A že až kaz odstraníme opět začíná náš boj proti škodlivým bakteriím. Při endodoncii (čištění kořenových kanálků) zdůrazňuji důležitost mechanického a chemického očištění kanálků spolu s hermetickým uzávěrem opět proti bakteriím. Korunky musí dobře těsnit a být dostatečně čištěny.... Vypadá to, že o bakteriích mluvím neustále jen negativně a přehlížím všechny jejich pozitivní vlivy a nutnost soužití našeho organismu s obrovským množstvím mikroorganismů. Z mého pohledu se jedná o praktické zjednodušení situace.

(MJ): Téma orálního mikrobiomu z mého pohledu zcela pochopitelně rezonuje orální medicínou. Řada mých kolegů se intenzivně zabývá kupříkladu studiem zánětlivých slizničních změn v terénu kvasinkové infekce, zajímá je mikrobiální osídlení orálních projevů chorob primárně imunitního nebo autoimunitního původu. Za mě je asi nejzajímavější propojení orálního a střevního mikrobiomu u nemocných s nespecifickými střevními záněty.

(JM): Pro náš obor je orální mikrobiom – bakterie a viry, jedním z nejvýznamnějších etiologických faktorů vyvolávajících gingivitis a parodontitis. Bez anaerobních bakterií bychom žádnou parodontitis neměli. V současné době známe sice celou řadu bakteriálních taxonů, které se podílejí na vzniku a rozvoji parodontitis a jejich DNA dokážeme detekovat pomocí metod PCR, ovšem výsledky kvantitativní ani kvalitativní analýzy pro úspěšnou terapii multifaktoriálního onemocnění, jakým je parodontitis, nestačí.

(LZ): Pochopení vztahů zubního mikrobiomu pro zubní zdraví je zcela zásadní pro nastavení základních parametrů a principů systematické a individuální zubní prevence.

(VP): Rozhodně, diskutuje se podíl mikrobiomu na kancerogenezi a jeho vliv na různém průběhu infekcí u jinak velice podobných pacientů.

Využíváte nějaké/jakékoli analýzy mikrobiálního osídlení v dutině ústní, nebo víte o tom, že by již v praxi někdo využíval? Pokud ano tak jaké – a máte zkušenost s úpravou terapie na základě výsledků analýzy mikrobiomu?

(RM): Ano, mám zkušenosti se stanovením parodontálních patogenů (odběr z gingiválního sulku pomocí papírových čepů a následně stanovení přítomnosti/nepřítomnosti několika vybraných patogenů hybridizačními metodami). Firma na základě výsledku doporučuje pro konkrétní pacienty i možné kombinace antibiotik. Kombinace doporučené medikamentózní

léčby spolu s mechanickým ošetřením (kyretáží zubů) přináší výborné výsledky při léčbě parodontitidy.

(IJ): Nevyužívám žádnou analýzu orálního mikrobiomu. Znám testy pro semikvantitativní stanovení *S. mutans* v dutině ústní, který má pomáhat k odhalení přítomnosti kazů a určovat kazivost. V praxi test nevyužívám, protože pro sanaci kazů je nutné znát přesnou lokalizaci – kterou zjišťuji z klinického vyšetření a RTG - BW. Kazivost určuji kombinací: nové kazy, množství zhotovených výplní, hygiena, věk...

(MJ): Některými parodontology je využívána mikrobiální analýza biofilmu. V České republice se v případě podezření na orální kandidózu rutinně provádí stěr z dutiny ústní a kultivační vyšetření, v zahraničí se více preferuje cytologické-mikroskopické vyšetření, které bych si přála pro diagnostiku orální kandidózy rozšířit více i u nás, nicméně problémem je mimo jiného i jeho cena. Na druhou stranu i kultivace nám dává důležité informace, zejména co se citlivosti na příslušná antimykotika týče. Podle toho můžeme lépe zacílit naši terapii. V diagnostice zvláště méně frekventních onemocnění ústních sliznic virové etiologie bych v blízké budoucnosti ráda viděla další upřednostňování PCR testování, kdy se materiál odebírá přímo z ložiskové změny (ulcerace apod). Právě toto vyšetření může být opravdu hodnotné zvláště u nejasných či komplikovaných případů…

(JM): Ve své klinické praxi žádné analýzy orálního mikrobiomu u pacientů s parodontitis nevyužívám, jelikož klinicky se nemusí projevit nepříznivý výsledek DNA analýzy a naopak. Proto nelze posuzovat míru postižení závěsného aparátu zubu (parodontu) pouze dle výsledků analýzy bakteriální DNA.

Komerční testy, které nám umožňují detekovat DNA přibližně 8-12 bakteriálních taxonů, jsou stále k dispozici. V době, kdy tyto testy byly uvedeny na trh, patřily bakterie, jejichž DNA je testována, mezi ty s nejvyšší patogenitou vůči tkáním parodontu. Dnes se ale objevují i další bakteriální taxony s vysokou patogenitou vůči tkáním parodontu, které tyto starší testy neobsahují. Přiložená informace o možném podání antibiotik v rámci terapie parodontitis je sice výhodou, ovšem vzhledem k rozvíjející se bakteriální rezistenci by mělo být jejich podání velmi přísně indikováno. Velmi omezená nabídka systémově podávaných antibiotik a jejich časté použití v terapii parodontitis může u pacienta ještě akcentovat rozvoj bakteriální rezistence. Bez podrobného a pravidelně se opakujícího klinického vyšetření doplněného o rentgenologické vyšetření zahrnující intraorální („malé“) rentgenové snímky nelze stanovit diagnózu a správně vést

terapii. **(LZ):** Nepoužívám.

(VP): Zatím pouze ve výzkumu.

Doporučili byste analýzu svým klientům a proč? Přináší to pacientům nebo lékařům nějaké benefity?

(RM): Benefitem pro lékaře je přesná znalost složení mikrobů u daného pacienta. Lépe pak může zvolit účinnější léčbu. Většinou pacient, když vidí výsledky vyšetření, lépe spolupracuje.

(IJ): Spíše než u kazů si umím představit přínos analýzy u pacientů s parodontitidou. Možnost sledovat vývoj v průběhu léčby a pro dlouhodobé sledování a udržení stability léčby.

(MJ): Pro mě by bylo nejzajímavější vypracovat jasně definovaný guide-line pro hodnocení orálního mikrobiomu u nemocných s Crohnovou chorobou nebo ulcerózní kolitidou a orálními manifestacemi těchto onemocnění. Zajímalo by mě, zda by racionální implementace určitých probiotických mikroorganismů vedla ke zlepšení mnohdy velmi obtížně terapeuticky řešitelných orálních příznaků těchto závažných chorob, které v některých případech perzistují navzdory veškerým léčebným snahám. To by mohlo být jak pro lékaře, tak samozřejmě pro pacienty významným benefitem. Co je pro mě takovou futuristickou představou je zhodnotit, do jaké míry se může změnit orální mikrobiom u pacientů, co podstoupili fekální transplantaci indikovanou pro klostridiovou kolitidu. Ač je efektivita fekální transplantace u ulcerózní kolitidy pořád víceméně rozporuplná, opravdu by bylo zajímavé určit, zda by taková specifická terapeutická modalita mohla pomoci nemocným s touto formou střevního zánětu a závažnými, kvalitu života limitujícími orálními projevy. Toto je zcela určitě na možnou diskuzi s tuzemskými experty zaměřenými na problematiku fekální transplantace, tedy panem docentem Pavlem Kohoutem a panem doktorem Jiřím Vejmelkou z Fakultní Thomayerovy nemocnice v Praze.

(JM): V současné době bych paušálně analýzu orálního mikrobiomu svým pacientům nedoporučil. I když se již objevily na trhu pokročilé analýzy DNA, díky jejichž výsledku získáme komplexní přehled o orálním mikrobiomu daného pacienta. Bohužel stále narážíme na omezené možnosti modifikace terapie a vlastně i modifikace dlouhodobého monitoringu klinického stavu parodontu v souvislosti se změnami orálního mikrobiomu v případě opakovaného testování pacienta.

(LZ): V současné době zvažujeme využití screeningových testů k verifikaci množství orálních laktobacilů a streptokoků u pacientů se zvýšenou kazivostí.

(VP): Momentálně ne.

Dokážete odhadnout, jak moc nebo málo mikrobiomová tématika mezi stomatology rezonuje? Považujete znalosti v problematice orálního mikrobiomu za přínosné pro lékaře ve vašem oboru?

(RM): Znalosti této problematiky jsou jistě pro zubaře velkým bonusem. Myslím si ale, že spousta zubařů má v této oblasti značné rezervy, zvláště ti, kteří se parodontologii věnují pouze okrajově.

(IJ): Myslím, že téma orálního mikrobiomu je spíše na okraji zájmu. Přednášky na toto téma mají nižší návštěvnost než jiné – například nové metody v implantologii, 3D RTG i pedostomatologie (dětské zubní lékařství), nové nástroje na ošetření kanálků... Možná je to škoda. Uvidíme, jestli s rostoucím zájmem o střevní mikrobiom a jeho vliv na celý organismus naroste i zájem o orální mikrobiom a jeho vliv na celkové zdraví.

(MJ): Orální mikrobiom oslovuje mnoho zubních lékařů a tato tématika se promítá do jednotlivých stomatologických specializací. Hodně se řeší mikrobiální zastoupení v kořenových kanálcích zubů u jedinců s gangrénou nervově-cévního svazku (výskyt *Streptococcus faecalis*). Samostatnou kapitolou je osídlení dutiny ústní u pacientů s některou chorobou spadající do skupiny potenciálně maligních onemocnění dutiny ústní, například s leukoplakií. V tomto ohledu se diskutuje kupříkladu význam sekundární kvasinkové infekce a potenciál *Candida albicans*, jakožto nejčastějšího zástupce *Candida* spp. v dutině ústní, indukovat zánět a další patologické změny u této kohorty pacientů.

(JM): Základní znalosti o orálním mikrobiomu se každý zubní lékař dozvídá v rámci pregraduálního studia. Parodontologové jistě vnímají potřebu rozšiřovat si znalosti o orálním mikrobiomu a vždy vítají nové informace týkající se této problematiky. Vzhledem k omezeným možnostem terapie a multifaktoriální etiologii parodontitis ale stejně zatím nemůžeme výsledky DNA analýz (byť již dnes poskytují komplexní kvalitativní i kvantitativní obraz mikrobiálního osídlení parodontu) ve větší míře využít k modifikaci terapie parodontitis.

(LZ): V posledních letech je spolu s pokroky ve výzkumu střevního mikrobiomu téma orálního mikrobiomu mezi kolegy vnímáno se zvýšenou pozorností. Přednášky k danému tématu mají vysokou sledovanost. Perspektivu vnímám v upřesnění odhadu pacientů se zvýšeným rizikem zubního kazu a agresivních forem parodontitidy.

(VP): Téma je nyní mezi stomatology aktuální. Myslím, že určité povědomí o problematice existuje. Známý je koncept Socranského komplexů – různá skladba orální mikroflóry zdravého a nemocného paradontu. Což je ovšem značné zjednodušení problematiky orálního mikrobiomu.

Mikrobi představují zajímavé týmy

Vedoucí týmu: doc. MUDr. Jan Gojda, PhD

Tým: Laboratoř inzulínové rezistence, Oddělení klinického výzkumu, Interní klinika 3. lékařské fakulty UK a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady

Web: https://www.fnkv.cz/interni-klinika-veda-a-vyzkum-oddeleni-klinickeho-vyzkumu.php

Představení témat:

Naše pracoviště se profiluje ve třech oblastech. První je regulace energetické homeostázy a inzulínové senzitivity. Tato oblast je prakticky směřována směrem k životosprávným intervencím v léčbě obezity a diabetu. Zkoumáme klinické parametry, metabolismus tukové a svalové tkáně s cílem identifikace prediktorů úspěchu intervencí. Druhou oblastí je nutriční epidemiologie, zejména se zaměřením na rostlinnou stravu a její zdravotní účinky. Realizujeme prospektivní kohortovou studii rodin s rozdílnými stravovacími návyky (běžná omnivorní dieta, vegetariáni, vegani). Třetí oblastí je potom metabolismus pacienta s nádorovým onemocněním, kde pracujeme s modelovou populací pacientů s nádorovou kachexií. Střevní mikrobiom je zastřešující orgán, který zkoumáme ve všech výzkumných liniích, jako důležitý metabolický kompartment, který zprostředkovává vazbu mezi prostředím a intermediárním metabolismem jedince.

Naší expertízou jsou zejména klinické fyziologické modely: glukózové clampy, tkáňové biopsie, měření energetického výdeje v klidu a v zátěži, mikrodialýza tukové tkáně. Spolupracujeme s evropskou diabetologickou společností v problematice prevence diabetu 2. typu a vzdělávání lékařstva napříč Evropou. Máme etablovanou spolupráci s předními pracovišti a vedeme zahraniční postgraduální studenty.

Zásadní projekty:

DELISA: The Role of De Novo Lipogenesis in Regulation of Insulin Sensitivity in AT (19-01-00263 2019-2023)

KOMPAS: Cohort prospective study of emerging nutritional factors among families (NU21-09-00362)

ETAPA: The Role of De Novo Lipogenesis in Regulation of Insulin Sensitivity in AT (NU21-01-00469 2011-2024)

AMETIS: The role of Adipose tissue and Muscle cross-talk in regulation of Metabolic flexibility: Exploration of novel predictors of the lifestyle intervention success in people with obesity (NU23-01-00509, 2023-2026)

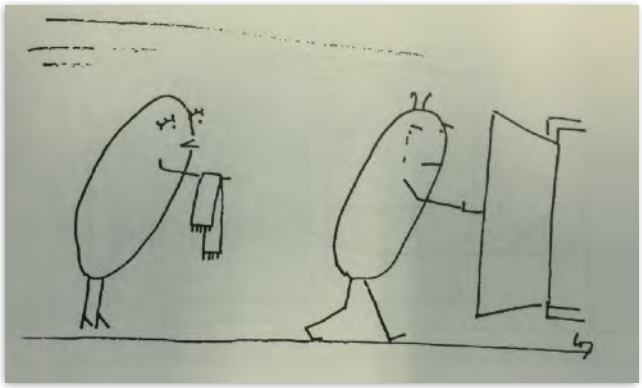
VEGANScreener, JPI HDHL Stamify 2021

Tým: Oddělení je součástí Centra pro výzkum výživy, metabolismu a diabetu 3. lékařské fakulty UK. Toto centrum zahrnuje nejen klinické pracoviště, ale také výzkumné laboratoře zaměřené na studium tukové tkáně, bioenergetiky a metabolismu železa. Klinické pracoviště tvoří vedoucí oddělení, tým seniorních pracovníků, postdoktorandi a doktorandi, dále technický personál a zdravotní sestry. Pravidelně zde působí také nutriční terapeutky a studenti pregraduálního studia.

Tužby: Rádi spolupracujeme napříč expertízami a obory. Spolupráce vždy stimuluje a posouvá dále a každá ruka přiložená k dílu se hodí. V našem týmu jsou třeba lidé s expertízou jak klinickou, tak laboratorní. S ohledem na běžící projekty bychom rádi přivítali kolegyně a kolegy se zájmem o klinickou fyziologii metabolismu, nutriční epidemiologii a zátěžovou fyziologii.

Petra Vídeňská

Mikrobio(m)humor



„Poslouchej mě, vezmi si tu šálu! Nejsi přece psychrofilní!"

Velké poděkování patří rodině pana Leoše Mandela za svolení ke zveřejnění laskavého mikrobiálního kresleného humoru a také RNDr. Iljovi Trebichavskému, CSc., který obrázky Leoše Mandela shromáždil a knižně vydal.

Redakční rada Mikrobio(m)novin:
Šéfredaktorka
Mgr. Petra Vídeňská, Ph.D., Mendelova univerzita v Brně, Ústav chemie a biochemie, Brno
Hlavní editorka
Mgr. Lucie Najmanová, Ph.D., Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha
Redaktoři
doc. RNDr. Monika Cahová, Ph.D., IKEM,Praha
MUDr. Jakub Hurych, Ph.D., Ústav lékařské mikrobiologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha
Ing. Mgr. Hana Sechovcová, Ph.D., Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i, Praha; Česká zemědělská univerzita v Praze
Mgr. Eliška Pivrncová, Ph.D.
Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha
MUDr. Jiří Vejmelka, MBA, Interní klinika 3. LF UK a Fakultní Thomayerova nemocnice Praha
Grafické zpracování: Mgr. Michaela Bartoňová www.michaelabartonova.cz
Ilustrace jsou autorská tvorba někdy generovaná s pomocí AI

ISSN 3029-5408
Vychází 4x/rok

Těšíme se na vaše reakce, podněty a zajímavé příspěvky, které můžete zasílat na adresu: cms@mikrobiom-cms.cz