



VĚDECKÝ VÝBOR FYTOSANITÁRNÍ A ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Klasifikace:	Draft	<input type="checkbox"/>	<i>Pro vnitřní potřebu VVF</i>
	Oponovaný draft	<input type="checkbox"/>	<i>Pro vnitřní potřebu VVF</i>
	Finální dokument	<input type="checkbox"/>	<i>Pro oficiální použití</i>
	Deklasifikovaný dokument	<input checked="" type="checkbox"/>	<i>Pro veřejné použití</i>

Název dokumentu:

MOŽNOSTI VYUŽITÍ BIOLOGICKÝCH AGENS V OCHRANĚ POTRAVNÍHO ŘETĚZCE ČLOVĚKA

Poznámka:

VVF-08-04
Zpracovatel: Ing. Jana Kohoutková, Ph.D. (VŠCHT)

Obsah:

1. ÚVOD	2
2. Základní pojmy	3
3. Historie	8
4. Možnosti využití	9
Účinky probiotik	10
Faktory ovlivňující účinek probiotik	11
Průmyslová výroba a prodej probiotik.....	14
5. Přehled biologických agens	15
A) skupina nepatogenních <i>E. coli</i>	15
B) skupina laktobacilů a bifidobakterií	18
C) skupina dalších mikroorganismů.....	19
6. Trávicí systém	20
7. Výzkum a perspektiva.....	25
8. Závěr	30
Literatura	31

1. ÚVOD

Je všeobecně známo, že pro zdraví člověka má velký význam mikroflóra, která působí především v tlustém střevě, tedy v jedné z nejdůležitějších částí lidské trávicí soustavy. Střevní mikroflóra aktivně přispívá k řádnému průběhu metabolických procesů a mimo to také funguje jako bariéra bránící usazení patogenních bakterií. K tomu, aby se kolonizující bakterie dlouhodobě udržely v trávicím traktu, potřebují vhodné živiny, z nichž většina pochází z potravy. Přijatá potrava je ale nemusí vždy obsahovat v množství nebo formě pro metabolismus bakterií nejvhodnější. Toto jsou základní skutečnosti, ze kterých vychází moderní představy o možnostech využití některých „biologických prostředků“ ve výživě člověka a v pozitivním ovlivňování střevní mikroflóry.

Potraviny, které při pravidelné konzumaci příznivě ovlivňují zdravotní stav člověka, označujeme termínem „funkční potraviny“. A právě problematika tzv. „funkčních potravin“ je v současnosti hitem v oblasti lidské výživy ve všech vyspělých státech světa. Téměř deset let již existují výzkumné programy podporované Evropskou komisí, které v této souvislosti studují významné faktory ovlivňující lidské zdraví.

Tato práce se snaží zpřehlednit tematiku mikroorganismů dodávaných v potravě či výživových doplncích do lidského organismu, kde pak příznivě ovlivňují střevní mikroflóru. Zvláště velký význam mají tyto mikroorganismy například u kojených dětí, neboť tu působí jako ochrana před střevními infekcemi. Samozřejmě ne všechny mikroorganismy mají pouze pozitivní vlastnosti a proto je důležité, aby o této problematice byla v dostatečné míře informována široká veřejnost a spotřebitelé.

2. Základní pojmy

Probiotika

jsou živé mikroorganismy (většinou bakterie), dodávané organismu jako potravinové doplňky (mikrobiální potravinové ingredience). Termín probiotický je v podstatě opakem slova antibiotický. Probiotika jsou obvykle vybírána z několika druhů mléčných bakterií, které patří do těchto hlavních skupin: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* a *Streptococcus*. Laktobacily patří do první skupiny bakterií, která byla použita jako probiotikum. Později se začala používat i skupina Bifidobacterií, a to zvláště *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum* a *B. animalis*. Tato „biologická agens“ jsou velké míře používána v mlékárenském průmyslu při výrobě jogurtů i některých jiných potravinách. Tyto bakteriální druhy jsou nepatogenní a netoxigenní, přežívají v potravinách a vydrží průchod prostředím žaludku a tenkého střeva. Díky svým účinkům ve střevním traktu příznivě ovlivňují lidské zdraví.

Jejich užívání ovlivňuje příznivě celkový zdravotní stav a umožňuje předcházet nebo zmírňovat některé choroby. Po dobu podávání probiotik se zvyšuje počet bakterií s pozitivním vlivem na střevní funkce; stejně tak však dochází i ke zvyšování počtů jiných bakterií, které tvoří vlastní střevní mikroflóru. Bylo tak prokázáno, že podáváním laktobacilů dochází k 10ti až 100násobnému zvýšení počtů bakterií ve střevech nejen u laktobacilů, ale i u streptokoků již přítomných ve střevě.

Probiotika jsou někdy směřována s širším pojmem mikrobiologické terapie, tento pojem shrnuje následující tabulka (tabulka 1), kde jsou k jednotlivým skupinám přiřazeny i používané preparáty.

Základní definici probiotik můžeme zapsat asi takto: „Probiotika jsou živé fyziologické mikroorganismy trávicího traktu prospěšné pro zdraví hostitelského makroorganismu“. Jinak řečeno jsou probiotika živou mikrobiální složkou stravy, která má při konzumaci v dostatečném množství zdraví prospěšné účinky a přesahuje základní výživnou funkci stravy.

Ve většině studií je však tato definice doplněna relativně přísnými požadavky pro léčebné využití probiotických bakterií:

- jasná definice zárodků (humánní původ)
- zaručení čistoty zárodků

- vyloučení faktorů patogenity (tvorba enterotoxinů a cytotoxinů, hemolýza atd.)
- součást stravy
- přítomnost ve formě živých buněk a ve velkých množstvích
- nesmí být zničeny během výrobního procesu a jejich životnost musí přesahovat dobu trvanlivosti výrobku
- musí být prokázány zdraví prospěšné účinky na organismus hostitele (spotřebitele)
- neničí se v kyselém prostředí a v přítomnosti žluči (nesmí být během průchodu zažívacím traktem zničeny nebo oslabeny)

Pro zjištění těchto vlastností může být důležité provádění kontroly přežívání probiotik v gastrointestinálním traktu.

Tabulka 1. Mikrobiologická terapie

Probiotika (fyziologické mikroorganismy)
BION3 Colinfant New Born Lacidofil Mutaflor Omniflora Probioflora Santax
Nefyziologické organismy
Bactisubtil Perenterol
Usmrcené nebo poškozené mikroorganismy
Omnisept Pro-symbioflor Urovaxom
Produkty mikroorganismů
Colibiogen Hylak
Směsi probiotik a usmrcených (poškozených) mikroorganismů
Symbioflor 1,2

Probiotika a imunitní systém

Některé složky gram pozitivních a gram negativních bakterií (např. lipopolysacharidy, lipoteichová kyselina nebo peptidoglykany) dávají silné podněty pro systémovou imunitu organismu a právě na takovém imunostimulačním působení se podílejí probiotické bakterie. Některé kmeny bifidobakterií mají in vitro dokonce

velkou schopnost podněcovat tvorbu slizničních IgA protilátek. Prokázána již byla řada pozitivních reakcí laktobacilů a dalších probiotik s buňkami zajišťující imunitu. Reakce na kultury *L. acidophilus* a *B. bifidum*, které byly podávány v kapslích starším lidem, vedla k potlačení zánětlivých procesů a Laktobacilus GG byl u 31 kojenců ve věku 2-16 měsíců s úspěchem použit k zvládnutí projevů alergie na bílkoviny kravského mléka a atopického ekzému.

Koncepce probiotik

Již několik let probíhá vývoj potravin, které obsahují živé kultury mikroorganismů. Tyto kultury jsou získávány buď fermentací nebo přímým přidavkem vhodných kultur. Příkladem těchto tzv. „probiotických“ potravin jsou v současnosti velice propagované zakysané mléčné výrobky, jogurty, fermentovanou zeleninu a sojové produkty. Nyní lze přidávat probiotika do dalších druhů potravin jako je dětská výživa (obohacená bifidobakteriemi) nebo přímo vyrábět probiotické mikroorganismy jako potravinové doplňky. Probiotika lze dodávat v mnoha různých formách: mohou být přidávány samostatně nebo v kombinaci s jinými mikroorganismy do potravy, do léků, do potravinářských přísad nebo do doplňků výživy.

Při vývoji fermentovaných mléčných výrobků a dalších potravin obsahujících probiotické složky existují dva limitující faktory. Prvním je nutnost zachování životnosti bakterií nejen v potravině nebo doplňcích, ale i dále v zažívacím traktu. Druhým faktorem je pak zajištění identity použitých mikroorganismů. Používané probiotické mikroorganismy jsou buď aerobní nebo anaerobní. Trávící soustava člověka však neposkytuje v celé své délce vhodné podmínky pro přežití těchto mikroorganismů. Překážkou může být například kyselé prostředí žaludku, sekrece žluči nebo přítomnost dalších střevních bakterií. Tyto problémy řeší přidavek vlákniny (nestravitelné složky potravin – tzv. prebiotika), která je využívána přímo probiotickými mikroorganismy a pomáhá „přežití v nepříznivých podmínkách“. Kombinace probiotik (živých bakterií) a prebiotik (substrátu) se uplatňuje při vývoji inovovaných potravinářských výrobků - synbiotik, jejichž příznivé účinky na zdravotní stav člověka závisí na použitém mikroorganismu a substrátu, které tvoří složku potraviny. Nezbytný je však další výzkum k objasnění vzájemných funkcí a potvrzení zdravotních účinků těchto přísad do potravin.

Protože ne všechna probiotika jsou trvalou součástí kolonizující mikroflóry, je třeba je periodicky dodávat. Komerční přípravky zpravidla obsahují směs laktobacilů

a bifidobakterií, někdy i kvasinky (sacharomycety). Předmětem zájmu jsou hlavně bifidobakterie, anaerobní zárodky, které normálně hrají důležitou úlohu v degradaci cukrů v potravě a tvoří a secernují ve vodě rozpustné vitaminy. Jejich podíl je zvláště vysoký ve střevní mikroflóře kojených dětí (až 95% všech vykultivovaných bakterií), u nichž také mají mimořádně velký význam pro ochranu před střevními infekcemi

Prebiotika

můžeme charakterizovat jako látky přidávané do potravin, které příznivě působí na zdravotní stav tím, že selektivně stimulují růst či životní aktivity specifických „užitečných“ mikroorganismů (laktobacilů a bifidobakterií) ve střevech. Jedná se o látky nestravitelné v tenkém střevě (vláknina, oligofruktany – tzv. „tračnicková potrava“), které přecházejí do tlustého střeva a jsou metabolizovány probiotickou flórou za vzniku krátkých mastných kyselin, aminokyselin, polyaminů, růstových faktorů, vitaminů a antioxidantů. Mezi nestravitelnými sacharidy má většina oligosacharidů v vyskytujících se v běžných potravinách (např. FOS, GOS, inulin) takové vlastnosti, že je také můžeme označit za prebiotik, neboť mnoho z těchto látek napomáhá růstu některých endogenních bifidobakterií. Jsou to například čekanka, česnek, cibule nebo artyčok.

Koncepce prebiotik

Tato koncepce je některými autory považována za potenciálně nejvýznamnější pokrok v otázkách výživy a mikroflóry střeva v tomto století. Jde o představu, že změnou složení potravy je možné selektivně a cíleně ovlivňovat složení mikroflóry střeva a tím i zdravotní stav organismu.

Jak již bylo avizováno výše nesmí být prebiotika degradována v horních částech trávicího systému, ale musí proniknout do tlustého střeva a být tam využita jen vybranými druhy bakterií. S tímto cílem byla připravena a je již komerčně vyráběna řada látek, většinou oligosacharidů. Nejčastěji jsou studovány inulin a jeho deriváty a frukto-oligosacharidy. Tyto látky nemají žádné genotoxické, toxické nebo kancerogenní vlastnosti. Jsou mírně laxativní, při užívání velkých dávek je ale častá stížnost na nadýmání. Nízkomolekulární látky s vlastnostmi prebiotik se přirozeně vyskytují např. v cibuli, česneku, artičocích, pórků nebo čekance, v menší míře i v obilovinách. Další oligosacharidy jsou obsaženy ve fazolích a hrachu.

Synbiotika jsou pak kombinací prebiotik a probiotik.

Tabulka 2. Souhrn probiotika & prebiotika

	přirozený zdroj	doplněk stravy	pozn.
Probiotika	zakysané mléčné výrobky (kefíry, jogurty)	přípravky s obsahem živých vysoce koncentrovaných laktobacilů, bifidobakterií a jiných prospěšných bakterií	Bakterie splní svůj úkol pouze tehdy jsou-li živé! (výrobky s kratší dobou trvanlivosti)
Prebiotika	ovoce a zelenina (luštěniny, chřest, pór, cibule, česnek, meruňky, jablka atd.)	rozpuštná vláknina (např. inulin, galaktomanan, pektin a glukomanan) většinou ve formě prášku	doplňky obsahují vlákninu izolovanou; komplexním a vyváženým zdrojem vlákniny je ovoce a zelenina.

3. Historie

Jako „probiotické“ byly označeny v roce 1965 faktory, které jsou produkovány mikroorganismy a mají příznivý účinek pro podporu růstu. Slovo „probiotic“ pak bylo odvozeno z řeckého „pro život“. První zmínky o příznivých účincích „zakysaných“ mléčných výrobků najdeme již v dávné minulosti, kdy je k léčbě některých onemocněních používali již antičtí lékaři.

Začátky probiotické terapie jsou spojovány s I. I. Mečnikovem, nositelem Nobelovy ceny za imunologii, který roku 1907 publikoval svojí práci, v níž jako první upozornil na příznivé zdravotní účinky konzumace fermentovaných mléčných výrobků. S chemickou intoxikací mikrobiální flórou tračnicku spojoval také proces stárnutí. Jeho práce vycházela z pozorování životních návyků bulharských venkovanů a stala se svého času velice populární.

K rozvoji této terapie dále přispěl v roce 1916 Alfred Nissle, který publikoval svou základní práci, jež se stala „základem“ probiotického kmene *E. coli*. V dalším roce převzala farmaceutická firma G. Pohl Schonbaum/Danzig výrobu přípravku obsahující tuto bakterii s názvem „Mutaflor“. Samotný autor použil poprvé tento přípravek v léčbě idiopatických střevních zánětů v roce 1930. V roce 1987 byla vytvořena první genomová karta *E. coli*, popsána jako YACs (Yeast artificial chromosomes), kompletní genomová analýza patogenního *E. coli* K-12 kmen MGI1655 byla publikována v roce 1997. Na této analýze pracoval tým F. Blattnera a výsledkem jejich studií byl genom obsahující 4 639 221 megabazových párů kódovaných pro 4288 genů. Mimo jiné bylo také zjištěno, že jedna bakterie *E. coli* K-12 může produkovat asi 1900 různých proteinů.

4. Možnosti využití

Dnes již o pozitivním vlivu probiotik na zdraví není pochyb. Výzkum v této oblasti také stále pokračuje a objevují se tak ještě další experimentálně doložené důkazy. Jedním z nich může být i to, že v zemi s nejdelší průměrnou délkou života – v Japonsku – existuje největší nabídka probiotických potravin.

Probiotika se nyní v moderním potravinářství běžně používají jako funkční přísada, čímž je míněno, že nejen zlepšují nutriční hodnotu výrobku, ale současně mění výrobek z pouhé „potravin“ na „potravinu – lék“ (tzv. funkční potravinu). Přidávané probiotické kultury ovšem musí splňovat přísná kritéria, k nimž patří zejména: fenotypická a genotypická klasifikace, žádné patogenní vlastnosti, lidský původ, aplikace v živém stavu, odolnost k žaludeční kyselině a žluči, schopnost adherovat ke kolonocytům, schopnost kolonizovat tračník, klinicky prokazatelný příznivý účinek na zdravotní stav a bezpečnost. Dalším kritériem je například i počet bakterií. V 1 ml výrobku (např. jogurtu) musí být nejméně 10 miliónů bakterií, navíc ještě schopných přežít kyselé žaludeční prostředí a působení žluči. Také chuť finálního výrobku by se po přidání kultury bakterií neměla zhoršit, ale naopak. Přednost se dává také těm druhům bakterií, které produkují vitaminy (vitaminy skupiny B, vitamin K, aminokyseliny apod).

Kromě samotných probiotických kultur jsou důležité i další podmínky, které potlačují či rozvíjejí jejich růst a životaschopnost. Stále více se teď hovoří o funkci oligosacharidů (inulin, oligofruktóza získávané z čekanky), jež schopnosti probiotik kladně ovlivňují. Velice podobným mechanismem působí i některé typy vlákniny. Důležitým faktorem pro využití těchto oligosacharidů je i to, že se jejich přídavek do mléčného výrobku neprojeví na jeho finální chuť.

Experimentální vědecké studie popisují pozitivní účinek probiotik u mnoha zdravotních potíží, např.: průjemy, recidivující kolitida způsobená *Clostridium difficile*, rotaviravá enteritida, idiopatické střevní záněty, chronická pouchitida, kolorektální karcinom, akutní pankreatitida, průjem při HIV infekci a dětský atopický ekzém. Probiotika se při těchto zdravotních problémech účastí tvorby nutričních substrátů střevní sliznice a tvorby steroidů z cholesterolu, také redukuje celkový cirkulující cholesterol, mají příznivý účinek na střevní imunitu, upravují porušené slizniční bariéry, eliminují toxiny a patogenní mikroby a napomáhají při regulaci střevních

funkcí. Probiotika přinášejí nové terapeutické možnosti u řady chorob a lze očekávat, že jejich význam se bude zvyšovat s přibývajícím poznatky a zkušenostmi.

Účinky probiotik

Výsledky získané z různých vědeckých studií jsou velice povzbudivé, pro potvrzení všech popsaných účinků je však zapotřebí shromáždit větší množství dat. Pro potvrzení platnosti vědecké hypotézy musí existovat přesvědčivé důkazy z více zdrojů a v Evropě je vědecká komunita v tomto směru zvláště přísná. Některé účinky probiotik však již jsou považovány za jednoznačně prokázané:

1. Omezení působení patogenů ve střevech

Kultury probiotických mikroorganismů produkují organické kyseliny, které snižují pH, což má negativní vliv na patogenní mikroorganismy, které se v kyselém prostředí přestávají rozmnožovat a růst.

2. Snížení účinku některých karcinogenních mikroorganismů

Se snižujícím se pH a potlačením růstu patogenních bakterií současně také klesá tvorba rakovinotvorných látek v samotném střevě. Probiotika jsou mimo jiné schopna do jisté míry chemicky karcinogenní látky rozložit a tím jim zabránit v dalším negativním působení.

3. Pokles hladiny cholesterolu v krvi

Při zvýšené hladině cholesterolu mohou probiotika hrát v dietě důležitou roli. Jejich působením dojde k rozkladu solí žlučových kyselin a uvolněný cholesterol se nemůže zpátky vstřebat. V této funkci si vede nejlépe *Lactobacillus acidophilus*. (V Belgii se vyrábí jogurt nazvaný Actimel Cholesterol Control).

4. Omezení následků redukční diety

Ochranné látky vyskytující se v probiotických potravinách mohou být prospěšné i při redukční dietě, která je pro organismus velmi náročná. Proto by ve formě nízkotučných jogurtů, zákysů či jogurtových mlék měla být probiotika součástí každé redukční diety.

5. Zvýšení odolnost vůči průniku infekcí (např. proti průjmovým onemocněním)
6. Posílení intestinální mikroflóry při tlumení alergických reakcí
7. Zlepšení kvality života pacientů se zánětlivým onemocněním střev
8. Posílení imunity
9. Snížení případů recidivy povrchových nádorů močového měchýře
10. Zkrácení doby léčení rotavirového průjmového onemocnění
11. Zmírnění symptomů intolerance laktózy

Ne vždy však působí probiotika kladně. V ojedinělých případech mohou být bakterie mléčného kvašení příčinou infekčního střevního onemocnění. To může být například v situaci, kdy pacienti již trpí nějakým závažným onemocněním (např. leukemií), které způsobuje, že jsou obecně mnohem náchylnější k různým infekcím. Mléčné bakterie jsou škodlivé z prostého důvodu, protože imunitní systém již většinou je vážně oslabený.

Takovéto případy jsou ale velice vzácné a ve všech ostatních („normálních“) případech byla konzumace v současnosti používaných probiotik naprosto bezpečná. Bakterie mléčného kvašení nejsou nebezpečné ani pro velmi malé děti a velmi staré občany, ani pro těhotné ženy.

Faktory ovlivňující účinek probiotik

1. Třídy, druhy a kmeny probiotik

Termín „probiotika“ se vztahuje na mnoho mikroorganismů. Při klasifikaci bakterií (např. mléčného kvašení) se udává třída (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium...*), pak druh (*Lactobacillus casei*) a nakonec kmen.

Vědecká klasifikace mikroorganismů je složitá: bakterie nejsou klasifikovány podle struktury, ale podle účinku. Když se studiem mikroorganismů začínalo, nebylo technicky možné jejich strukturu určit a při zařazování se vycházelo z jejich vlastností. Rozdělení a klasifikace bakterií byla možná pouze podle jejich účinku. Tento způsob zařazování začíná být problematický ve chvíli, kdy jsou u daného mikroorganismu objeveny nějaké nové vlastnosti – pak je nutné ho „překlasifikovat“.

Probiotické účinky jsou však dokázány jen u některých konkrétních typů bakterií. Nemůžeme očekávat, že stejný (nebo vůbec nějaký) pozitivní účinek na lidské zdraví budou mít všechny mikroorganismy daného kmene nebo celého studovaného druhu.

2. Probiotika v potravinách

Účinek probiotik se může měnit podle toho, jakou formou jsou do potravinářských výrobků přidávány a jak jsou následně zpracovány v trávicím traktu (samostatně nebo společně s jinými mikroorganismy, v jídle, v lécích, v různých přísadách, potravních doplncích...)

3. Udržení stabilní střevní mikroflóry

Složení střevní mikroflóry není u všech lidí stejné – jedná se o individuální charakteristiku – a proto jsou také její účinky na každého člověka jiné. Nejdůležitější jsou v tomto směru následující fyziologické faktory:

a) věk

Střevní mikroflóra osidluje trávicí trakt člověka během prvních dvou let života a postupně se vyvíjí. Řada studií poukazuje na (mírné) změny střevní mikroflóry s věkem člověka. Ve většině těchto studií bylo provedeno porovnání střevní mikroflóry u skupin lidí různého věku. Zatím však nebyly provedeny žádné průběžné studie provádějící analýzu vývoje bakteriální mikroflóry v časovém úseku u jednoho člověka. U starých lidí však bezpochyby dochází k převaze negativní mikroflóry (zvláště se jedná o *Clostridium* a *Pseudomonas*). Také osídlení střev střevní mikroflórou s nižším podílem *Bifidobacteria* je běžnější u starých lidí než u ostatních dospělých. Tyto změny složení střevní mikroflóry v souvislosti se stárnutím by mohly být způsobeny snižováním odolnosti endogenních bakterií vůči kolonizaci jinými bakteriemi. Tato snížená odolnost vůči kolonizaci jinými bakteriemi je pravděpodobně výsledkem fyzikálně-chemických vlastností střev a změn ve střevní sliznici souvisejících se stárnutím. V současné době běží evropský výzkumný program zaměřený na možnosti využití probiotik pro zlepšení kvality života starší populace (jedná se například o posílení aktivity střevní mikroflóry).

Některé bakterie pak působí příznivě jen na malé děti a dospívající mládež. To je například případ bakterie, schopné upravit průběh průjmového onemocnění.

b) menopauza

Jsou rovněž vyzorovány rozdíly mezi ženami v produktivním věku a ženami v menopauze. U žen v menopauze dochází k mírnému zvýšení poměru Gram-negativních kmenů (*Enterobacteriaceae*), dále kvasinek a klostridií. Tyto rozdíly jsou přisuzovány změnám v hormonálním stavu ženského organismu.

c) stres

V mnoha stresových situacích může docházet k narušení rovnováhy střevní mikroflóry.

Další faktory:**a) nemoci**

Některá onemocnění mohou měnit složení střevní mikroflóry v důsledku fyzikálního poškození střevní sliznice. Různé druhy střevních onemocnění ovlivňují skladbu střevní mikroflóry specifickým způsobem. Například průjem je doprovázen snížením počtu kmenů *Lactobacilli*, *Bacteroides*, *Bifidobacteria* a zvyšováním počtu fakultativních anaerobů. Pseudomembranózní kolitida (zánět tlustého střeva) je doprovázena přemnožením bakterií *Clostridium difficile*, které produkují toxiny. U pacientů s Crohnovou chorobou dochází ke snížení počtu enterokoků a ke zvyšování počtu streptokoků ve střevním obsahu. Při zácpě dochází ke snížení počtu všech populací bakterií mléčného kvašení.

Mnohé studie prováděné "in vitro" naznačují, že nemoc může vyvolat fyzikální porušení střevní sliznice a toto poškození zvyšuje bakteriální translokaci a šíření bakterií v organismu.

b) léky

Podávání léků, především antibiotik, je nejběžnější a nejvýznamnější příčinou změn střevní mikroflóry. Některé léky mohou navíc změnit pH střevního obsahu s rizikem porušení rovnováhy střevní mikroflóry.

Například klinický test prokázal, že v průběhu léčby vředu dvanáctníku došlo ke zvýšení pH, což u sledovaných pacientů vyvolalo značný nárůst gram-negativních bakterií. Změna pH může kromě toho změnit i metabolickou činnost těchto bakterií.

Výživové faktory:

Výživa hraje klíčovou roli v udržování rovnováhy střevní mikroflóry, a to jak prostřednictvím živin dodávaných ve stravě (vláknina, prebiotika, bílkoviny atd.), tak prostřednictvím probiotik.

Průmyslová výroba a prodej probiotik

Aby bylo možno probiotika začlenit do potravinářských výrobků, musí být vybrané kmeny mléčných bakterií schopny přežít proces výroby, transport a příslušnou dobu skladování tak, aby neztratily požadovanou aktivitu, a to vše v podmínkách, které se ani zdaleka nepřibližují optimálním podmínkám v laboratořích. Přičemž se schopnosti přežití mléčných bakterií u různých kmenů liší.

V rámci evropských výzkumných projektů se například hledají technologická řešení, která by umožnila vyrábět a prodávat co největší množství potravinářských produktů obsahujících živá a funkční probiotika. Pracuje se na výběru nejodolnějších kmenů bakterií a také na nalezení optimálních podmínek výroby a další distribuce.

Aby výrobce mohl do potravinářských produktů přidávat bakterie, musí zažádat o povolení příslušné složky státní správy. Toto povolení mu bude uděleno v případě, že je vybraný druh/třída bakterií uznán jako bezpečný.

V Evropě byla navíc zavedena taková pravidla, která by měla zabránit uvádění nesprávných či zavádějících informací na obalech potravinářských výrobků. A zvláště informace o složkách potraviny s tzv. příznivým účinkem na lidské zdraví jsou velmi přísně kontrolovány.

Je zřejmé, že od objevu příznivého vlivu specifických bakterií na lidské zdraví je k potravinářským výrobkům vhodným pro spotřebitele ještě dlouhá cesta.

5. Přehled biologických agens

V současnosti již lze celkem bez problémů určit a definovat skupiny i jednotlivé mikrobiální organismy, které jsou používány při přípravě probiotických přípravků. Můžeme je v podstatě rozdělit na dvě (resp. tři) skupiny:

- a) skupina nepatogenních *Escherichia coli*,
- b) skupina laktobacilů a bifidobakterií,
- c) jiné (*Streptococcus salivarius*, *Saccharomyces boulardi*, laktokoky, enterokoky).

A) skupina nepatogenních *E. coli*

V této skupině má naprosto dominantní postavení nepatogenní *Escherichia coli* - kmen Nissle – 1917. Tento kmen *E. coli* izoloval prof. Nissle ze stolice vojáka, který netrpěl žádnými digestivními příznaky, ačkoliv jeho okolí bylo zamořeno střevními infekcemi. Vzniklý preparát, označený jako **Mutaflor** (Ardeypharm), byl proto také nejprve použit při terapii infekčních průjmů, později tzv. dysbakterióz a funkčních poruch, ještě později také k léčbě idiopatických střevních zánětů. Nejnovější použití tohoto preparátu je v oblasti nádorové profylaxe. Poměrně velký je i rozsah působnosti preparátu při mimodigestivních onemocnění jako revmatických, alergických, dermatologických a jiných. Velkou výhodou Mutafloru je také znalost jeho kompletní molekulárně genetická typizace, stejně jako typizace sérologické, mikrobiologické a biochemické.

Terapie vyniká také vysokým stupněm bezpečnosti, což je dáno tím, že Mutaflor je geneticky stabilní (tedy nemá žádné přenosné geny a plazmidy ani žádný přepis patogenní cizí DNA), nemá geny antibiotické rezistence, nevytváří endotoxiny, cytotoxiny či hemolyzin. Rovněž není enteroinvazivní, nemá patogenní znaky adhezivity (fimbrie P-,M-,S-) a nejeví známky urologické patogenity. Jeho adheze na sliznici kolon je tedy v pravém slova smyslu fyziologická.

Přípravek Mutaflor je definován tak, že lyofylovaná, životaschopná *E. coli* - kmen Nissle - 1917 jsou kryty kapslí z tvrdé želatiny, která má ještě potah odolný žaludečním šťávám. Dle informací výrobce je možno užívat přípravek při akutních a chronických průjmových onemocnění, chronické obstipaci, meteorismu,

idiopatických střevních zánětech a mimostřevních onemocnění. **Mutaflor** je registrován na našem trhu, stejně jako další probiotika s obsahem nepatogenních *E. coli* – **Colinfant New Born** (Dyntec CZ). Tento přípravek je ovšem určen speciálně pro novorozence a kojence do jednoho roku jako profylaxe gastrointestinálních, a především nozokomiálních nákaz.

Z možných vedlejších účinků terapie nepatogenními *E. coli* byl registrován pouze meteorismus jako známka příliš vysoké dávky u Mutafloru a průjemové stolice v začátku užívání Colinfantu New Born.

Popis kmene

E.coli, z kterého je připravována živá vakcína, je nepatogenní kmen. Jeho sérotyp je 083:K24:H31 a ten je uložen v České sbírce typových kmenů. Jde o vysoce selektovaný, produktivní kmen s obvyklými biochemickými reakcemi. Je citlivý na všechna běžná antibiotika. Nemá prokazatelný žádný plazmid (ani kryptický) a frekvence přenosu R1 plazmidu z donorové kultury je asi 100krát nižší než u kontrolního standardního kmene *E.coli*. Jeho neobvykle dobrá kolonizační schopnost je pravděpodobně zajištěna přítomností t1 fimbrií, prokázaných hemaglutinací, aderenčním testem a elektronmikroskopicky.

Experimentálně byly vlastnosti kmene sledovány na bezmikrobních, bezkolostrálních selatech. Po perorální aplikaci suspenze byla prokázána translokace mikrobů pouze do mezenteriálních uzlin, zatímco ve slezině, plicích a játrech nebyla přítomnost mikrobů zjištěna. Nebyly též nalezeny žádné morfologické ani histologické změny střevní sliznice. Po intravenózní aplikaci kmen do 24 hodin z oběhu vymizel. Přítomnost kmene ve střevě nevyvolala žádné změny ve zdravotním stavu sledovaných zvířat, která jinak okamžitě a citlivě reagují na přítomnost jakéhokoli z faktorů virulence. Kmen *E. coli* 083:K24:H31 byl tedy pro bezmikrobní selata zcela nepatogenní. Aplikace kontrolních enteropatogenních kmenů *E. coli* vyvolala sepsi a uhynutí zvířat.

Mechanismus odpovídající za příznivý vliv osídlení nepatogenními kmeny *E.coli* není dosud plně objasněn. Předpokládaný mechanismus interference, který brání adhezi jiných mikrobů včetně patogenů, je podpořen průkazem přítomnosti t1 fimbrií. Podaný kmen po narození zůstává v kvantitativní převaze, což mu přináší různé výhody, jakožto prvního „osidlovatele“, např. při nutritivní kompetici.

V posledním desetiletí dochází k významným změnám ve složení střevní mikroflóry, zvláště v zemích s vysokou úrovní hygieny, jako je Švédsko nebo USA. Ve střevní flóře ubývá enterobakterií a počínají převládat stafylokoky (*Staphylococcus epidermidis* a *aureus*), které vždy patřily k mikrobiální flóře kůže, krku a nosu. V rozvojových zemích jsou děti naopak do 3. dne života osídleny kmeny *E.coli* a jinými enterobakteriemi. Pozdější osídlení kmeny enterobakterií snižuje expozici imunitního systému působení lipopolysacharidů, které stimulují jeho zrání a schopnosti imunitního systému rozlišovat škodlivé a neškodné antigeny (např. potravinové). Systém má rozhodující vliv na vývoj tolerance proti neškodným antigenům.

Do souvislosti se změnami střevní mikroflóry v rozvinutých zemích je dáván také stoupající vývoj alergií. Výsledky studií u zvířat podporují hypotézu, že specifické kmeny střevní mikroflóry podporují ochranu hostitele proti senzibilizaci a vzniku alergií. Otázka, je-li možná podpora vzniku atopie prostřednictvím mateřského mléka, má zásadní význam. U zvířat bylo prokázáno, že buňky mateřského mléka procházejí střevní stěnou – u lidí však tento důkaz zatím podán nebyl. Přenos cytokinů byl po perorálním podání u lidí již prokázán. U dětí se předpokládá přenos IgA a složek buněčné imunity ze střeva v neonatálním období. Počet sledovaných případů je však na prokázání této teorie příliš malý a práce, které uvádějí výsledky perorálního osídlování střeva kmeny *E.coli* u novorozenců, jsou ojedinělé. Výsledky některých dříve publikovaných studií jsou však jednoznačně pozitivní, a to jak při krátkodobém, tak i při dlouhodobém sledování „osídlených“ novorozenců.

V poslední době byly vědecké poznatky doplněny ještě výzkumem z oblasti genetiky. Při klonování hemolysinového operonu kmene byla totiž zjištěna neznámá sekvence odlišná od sekvencí celých chromozomů různých kmenů *E.coli* a řady patogenních kmenů. Je možné, že právě tyto neznámé sekvence kódují geny, které odpovídají za mimořádné adhezivní a kolonizační schopnosti našeho kmene. Metodou pulzní elektroforézy bylo již také zjištěno, že vlastnosti kmene (citlivost na antibiotika, nepřítomnost plazmidu) se od r. 1971 nezměnily.

B) skupina laktobacilů a bifidobakterií

Do této skupiny můžeme zařadit probiotikum označené jako **VSL-3**, které vytvořili Italští autoři Zucconi a Gionchetti. Tento přípravek obsahoval 500 biliónů/g živých, lyofilizovaných mikroorganismů složených ze 4 kmenů laktobacilů (*Lactobacillus casei*, *plantarum*, *acidophilus*, *delbruekii spp. bulgaricus*), 3 kmenů bifidobakterií (*Bifidobacterium longum*, *breve*, *infants*) a jednoho kmene *Streptococcus salivarius*. Menší koncentrace 300 biliónů/g ve stejném kvalitativním složení použili ve svých studiích Campieri a Gionchetti.

Na našem trhu je k dispozici preparát **BION 3**, který je směsí tří probiotických kultur (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum* a *Bifidobacterium difidum*) o množství 10 miliónů bakterií/g. Tento preparát je strukturován tak, že ochranná vrstva zabraňuje působení žaludeční kyseliny a trávicích enzymů na mikroorganismy. Trojvrstevná vnitřní struktura tablet obsahuje mimo mikroflóry také vrstvu vitaminů a minerálů.

Laktobacilové mikroorganismy jsou také součástí preparátu **Lacidofil (Rougier)**, vyvinutým Institutem Rosell. Ten obsahuje 2 miliardy živých, lyofilizovaných bakterií/g ve směsi *Lactobacillus acidophilus* Rosell 52 a *Lactobacillus rhamnosus* Rosell 11. U nás nedostupný je mono-laktobacilový preparát **Paidoflor (Ardeypharm)**, obsahující 10^9 – 10^{10} lyofilizovaných kultur/g *Lactobacillus acidophilus*. Laktobacily jsou doporučovány ke zlepšení laktóзовé intolerance a vynikají vysokým antagonismem vůči primárním a oportunním patogenům, především: enterobakteriím (patogenní *E. coli*, *Shigella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Yersinia*), stafylokokům (*Staphylococcus aureus*), streptokokům (*Streptococcus agalactiae*), pseudomonádám (*Pseudomonas aeruginosa*), klostridiím (*Clostridium botulinum*, *perfringens*, *sporogenes*), mykobakteriím (*Mycobacterium tuberculosis*), listeriím (*Listeria monocytogenes*), *Helicobacteru pylori*, ale také *Candida albicans*.

Z vedlejších účinků preparátů s obsahem laktobacilů a bifidobakterií se mohou objevit v počátcích užívání přechodně průjmy a meteorismus, které si někdy vynutí snížení dávek nebo i výběr méně koncentrovaných preparátů.

Funkce laktobacilů v organismu

Kromě střeva se laktobacily vyskytují také v pochvě zdravé ženy. Jsou to bakterie mléčného kvašení, které vytvářejí z cukrů kyselinu mléčnou. Snižuje se tak pH, což vede k potlačení růstu hnilobných bakterií a kvasinek a tím se snižuje riziko zánětlivých a hnilobných procesů. Laktobacily tedy podporují kvasné procesy, které chrání sliznici střeva i pochvy.

Laktobacilly mohou užívat těhotné a kojící ženy, některé přípravky jsou dokonce vhodné i pro velmi malé děti. Jednotlivá doporučení se liší podle výrobců, ale obecně lze říct, že jejich užívání s sebou nese především výhody. Nejsou známy ani žádné závažné interakce či kontraindikace. Výrobci doporučují užívat přípravky s obsahem laktobacilů při léčbě antibiotiky a chemoterapeutiky, při léčbě nádorových onemocnění (cytostatika a ozařování) a při užívání antikoncepce. Dále u průjmů různých příčin, při zácpě, plísňových onemocněních a aftech, alergiích, rovněž u projevů akné a nespecifických zánětů střev se při užívání těchto probiotických přípravků příznaky těchto problémů zmírňují.

Ženám, u nichž se často objevují vaginální mykózy (svědění, bílý tvarohovitý výtok z pochvy), se doporučuje doplňovat laktobacily pravidelně. V těchto případech jsou k dispozici také přípravky určené k vaginálnímu (poševní) použití.

C) skupina dalších mikroorganismů

V této skupině se objevují především *Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus*, který je součástí **VSL-3**, o kterém již bylo napsáno výše, a pak především *Saccharomyces boulardii*. O tomto mikroorganismu je známo, že blokuje růst patogenů včetně *Clostridia difficile*, redukuje průnik sodíku a vody do střevního lumina, indukuje tvorbu sekrečního IgA ve sliznici trávicího traktu a zvyšuje aktivitu disacharidáz i laktázy a maltázy ve sliznici tenkého střeva.

Saccharomyces boulardii je na našem trhu obsažen v preparátu **Santax S (Asche AG)** s obsahem $4,5 \times 10^9$ mikroorganismů v jedné tobolce. Kontraindikací léčby *Saccharomyces boulardii* je přecitlivělost na kvasnice a pomocné látky, z vedlejších účinků se mohou objevit nadýmání a alergická kožní přecitlivělost.

6. Trávicí systém

Je všeobecně známo, že pro zdraví člověka má velký význam mikroflóra, která fyziologicky kolonizuje tlusté střevo. Jednak tím, že aktivně přispívá k řádnému průběhu metabolických procesů ve střevě, jednak jako bariéra bránící usazení patogenních bakterií. K tomu, aby se kolonizující bakterie v kolon dlouhodobě udržely, potřebují vhodné živiny, z nichž většina pochází z potravy, která je ale nemusí vždy obsahovat v množství nebo formě, pro metabolismus bakterií nejvhodnější. Z těchto základních skutečností vychází moderní představa o možnostech ovlivňovat složení a aktivitu střevní mikroflóry dietou, přesněji jejím obohacením probiotiky a prebiotiky.

U dospělého člověka je podíl bakterií podstatně nižší, i když jejich úloha je i pak významná. Jak se ale ukazuje, aktivita a význam jednotlivých bakteriálních druhů a kmenů se velmi liší (příčemž, jak známo, při standardním mikrobiologickém vyšetření může být identifikována jen nepatrná část anaerobní střevní mikroflóry). Proto jsou zprávy o jejich biologickém významu zatíženy značnou nejedností. Nicméně je zřejmé, že probiotika jsou podstatnou součástí protiinfekčních mechanismů střeva.

Veřejnost většinou spojuje střevní onemocnění s patogenními "špatnými" bakteriemi, ale již málo zná naopak pozitivní účinky střevních bakterií na lidské zdraví. V této souvislosti je nutné poznat a pochopit procesy probíhající v našem zažívacím traktu, kde je potrava zpracovávána a poskytuje tak tělu nezbytné živiny, současně jsou tu z těla odstraňovány odpadní materiály a toxiny. Zajištění zdraví a správné funkce trávicího systému je závislé na udržování rovnováhy mezi miliardami bakterií žijících v tomto systému. Porušení této rovnováhy se může projevit různými zdravotními problémy spojenými se špatným trávením, sníženou imunitou a průjmami. Narušení přírodní rovnováhy střevní mikroflóry může být způsobeno stresem, nevhodnou dietou, užíváním antibiotik nebo i pouhou déletrvající únavou. Zdá se, že úloha střevního traktu a jeho vlivu na lidské zdraví byla až dosud podceněna, neboť současné studie dokazují, že střevní mikroflóra, především v části tlustého střeva (kolonu), může podstatně ovlivňovat zdravotní stav člověka.

Intestinální mikroflóra

Střeva hostí tisíce druhů bakterií. Jedná se o velmi složité prostředí. Některé bakterie zde žijí trvale, jiné jsou přinášeny s potravou a zaživacím traktem pouze prochází. Při jídle se do těla dostávají živiny a také bakterie, z nichž některé mohou být patogenní. Intestinální mikroflóra je společný název pro veškeré mikroorganismy přítomné ve střevech.

Lidské tlusté střevo obsahuje více než 200 druhů bakterií, jejichž účinky a vliv na zdravotní stav „potravního řetězce“ jsou v současnosti důkladně studovány. V zaživacím traktu dospělého člověka je více než 1 kg bakterií a během jednoho roku jich člověk spolu s exkrementy vyloučí množství, které přibližně odpovídá jeho vlastní hmotnosti. Naproti tomu zaživací trakt novorozence neobsahuje bakterie žádné. Situace se mění hned poté, co začne být dítě kojeno. Mateřské mléko vede díky svému složení k osídlení střeva bifidobakteriemi. V kojeneckém období tvoří 90% veškeré flóry právě bifidobakterie. Později (v dospělosti) se jejich počet snižuje až na 10 %. U lidí s poruchami imunitních funkcí a lidí starších mohou bifidobakterie ze střeva zcela vymizet. U zdravého člověka s vyváženou stravou je střevní mikroflóra vybalancovaná. Stačí však stres, nekvalitní strava, nemoc a všechno je jinak. Nejtvrdší zásah do střevního ekosystému nastává po přeléčení antibiotiky.

Pokud se zaměříme na patogenní bakterie ve střevech, umí se lidské tělo bránit samo, obranu obstarává tzv. imunitní systém. Imunitní systém se stará o celý organismus, ve střevech má ale skutečně spoustu práce. A je to pochopitelné, uvědomíme-li si, kolik různých mikroorganismů se tam nachází. Buňky, které se účastní imunitní odpovědi, se nazývají imunitní buňky. Ve střevech jsou schopny odlišit patogeny od ostatních mikroorganismů. Tyto buňky mají dvě významné funkce. Jednak vytváří protilátky, zabraňující přilnutí patogenů na střevní sliznici a také blokují obrannou reakci těla proti žádoucím mikroorganismům, tedy proti mikroflóře, přirozeně se vyskytující ve střevech nebo v potravinách (pokud se tělo proti žádoucím mikroorganismům brání, vznikají alergie).

Střevní mikroflóra a imunitní systém se navzájem neustále ovlivňují. Ukazuje se, že střevní mikroflóra hraje v našem organismu velmi důležitou úlohu a značné množství jejích funkcí je pro nás stále záhadou. Odborníkům se však daří její tajemství postupně odhalovat. Víme například, že se podílí na procesu trávení, působí na prekarcinogenní složky potravy a na metabolismus cholesterolu a brání

jiným mikroorganismům (patogenním i nepatogenním) v osídlení střevního traktu. Obranné mechanismy těla však nedokáží stoprocentně zabránit onemocnění. Zvláště ohrožené jsou některé skupiny lidí – především děti a starší osoby. Děti ještě nemají zcela vyvinutý imunitní systém, starší lidé jej mají oslabený. Evropská komise podporuje výzkumné projekty, zabývající se vlivem probiotik na posílení přirozené obranyschopnosti těla. Tím by se významně zvýšila kvalita života celé populace.

Intestinální mikroflóra u dětí

Významná oblast studia v této problematice je i dětská intestinální mikroflóra, neboť má svá důležitá specifika. Před narozením se dítě vyvíjí ve sterilním prostředí a jeho zažívací trakt tedy neobsahuje žádné mikroorganismy. Osídlování střev bakteriemi z vnějšího prostředí začíná v průběhu porodu a stabilního složení mikroflóry je dosaženo asi po dvou letech. Dnes již víme, že ne všechny mikroorganismy přijímané potravou v útlém věku se ve střevech skutečně usídlí. Lidský organismus si vybírá svou vlastní mikroflóru, která ho potom provází po zbytek života. Každý z nás má tedy svou vlastní intestinální mikroflóru.

V prvních hodinách po narození přichází dítě do styku s mikroorganismy vnějšího prostředí a povrchy jeho sliznic se osídlí bakteriální flórou. Tento první kontakt s bakteriálními antigeny představuje mohutný podnět pro rozvoj imunitních mechanismů, zároveň však znamená potenciální nebezpečí pro vznik infekce. Kapacita kmene bakterie vyvolat imunitní odpověď závisí na jeho schopnosti přetrvávat ve střevě. Střevní flóra tvoří rovněž bariéru proti invazi patogenů (adherence, kompetice o receptory sliznice). Normální střevní mikroflóra je důležitým modulátorem lokálních i celkových imunitních reakcí.

Klasická představa postupu při osídlování střev novorozence je asi následující. Nejdříve vytvoří aerobní či fakultativně anaerobní kmeny, tj. hlavně kmeny *E.coli*, které bývají identické s kmeny matky (je-li dítě matkou ošetřováno), spotřebou kyslíku prostředí pro anaerobní bifidovou flóru. Je-li dítě kojené, převládá následně anaerobní bifidová flóra. Sekreční IgA kolostra a mléka počne vykonávat svou funkci, tj. mimo jiné brání adhezi patogenů na sliznici, která předchází infekci. Mateřské mléko obsahuje specifické protilátky, jejichž spektrum je zrcadlovým obrazem antigenů ve střevě. Pokud je dítě kojené, je modulace lokální vrozené i adaptivní imunitní odpovědi v průběhu osídlování výrazně ovlivněna přítomností receptoru s CD14 v mateřském mléce. Prokázán byl i určitý typ lokální IgA odpovědi,

kteřá umožňuje přetřávání rezidentních kmenů a zesiluje imunitní odpověď střevních lymfatic. U nekojených dětí je střevní flóra pestřejší, objevují se různé druhy enterobakterií a bifidové flóry ubývá. Stejně je tomu při delší hospitalizaci dítěte. Normální střevní flóra je tedy důležitým modulátorem vývoje imunitních funkcí střeva.

Výsledky studií u zvířat vedou k hypotéze, že specifické kmeny střevní mikroflóry podporují ochranu hostitele proti senzibilizaci a vzniku alergií. Ontogeneze alergické slizniční odpovědi však není dosud plně objasněna. Víme ale, že může být ovlivněna například kojením; aktivací dendritických buněk, které představují primární antigen prezentující buňky nebo determinující úlohou cytokinů (fetální cytokiny u zdravých dětí rychle klesají v průběhu prvního roku života, avšak u alergických dětí jejich hladina naopak stoupá).

Zkušeni s probiotiky v léčbě střevních zánětů

Použití probiotik při léčbě střevních zánětů má poměrně dlouhou historii, zvláště díky zkušenostem A. Nissla s Mutaforem, které se datují již rokem 1930. McCann v letech 1990–1993 opakovaně použil ve studiích režimu, kdy po antibiotické dekontaminaci střevního prostředí nasadil 9ti-denní terapii Mutaforem, což vedlo v 80 % k remisi a trvalému osídlení nepatogenními kmeny. Malchow v pilotní studii s nepatogenním *E. coli*-kmen-Nissle-1917 prokázal steroid-šetřící efekt této léčby u Crohnovy nemoci. Studie Kruise & Rembackena zase prokazují srovnatelnou účinnost mesalazinu a Mutafloru v udržení remise ulcerózní kolitidy. Rembackenova studie byla dvojitě slepá s účastí 117 pacientů. Medián remise při léčbě mesalazinem činil 175 dnů a u Mutafloru 185 dnů.

Italští autoři věnují dlouhodobě pozornost jiné skupině probiotik, a to směsi 4 kmenů laktobacilů (*L. casei*, *plantarum*, *acidophilus* a *delbruekii* spp. *bulgaricus*), 3 kmenů bifidobakterií (*B. longum*, *breve* a *infantis*) a jednoho kmene *Streptococcus thermophilus*. Tento vysoce koncentrovaný preparát (VSL-3) označovaný někdy jako turbo-probiotikum obsahuje asi 500 bilionů/g živých lyofylozovaných bakterií. Předběžné zkušenosti ukázaly na efektivitu této terapie u nemocných s ulcerózní kolitidou a intolerancí aminosalicylátů. Podobně určité efektivitu bylo dosaženo v léčbě pouchitid. V prevenci rekurencí po operacích u Crohnovy choroby se však podle randomizované a kontrolované studie Prantery laktobacilová probiotika neosvědčila. Faktem je, že s touto skupinou probiotik jsou podstatně menší zkušenosti než s Mutaforem.

Významné jsou také fyziologické funkce produktů fyziologické mikroflóry, a to volných mastných kyselin s krátkým řetězcem pro metabolismus kolonocytů, motilitu a prokrvené mukózy i další funkce. Sulfát redukující bakterie, převážně rodu *Desulfovibrio*, znemožňují tvorbu těchto kyselin produkcí vysoce toxického hydrogensulfidu. Ten potlačuje oxidaci butyrátu a vyvolává reverzibilní vzestup střevní permeability. Tyto bakterie jsou často nalézány u nemocných s ulcerózní kolitidou a lze předpokládat, že pokles volných mastných kyselin s krátkým řetězcem se tak stává důležitým činitelem v reaktivaci i udržování patogenity zánětu kolonické sliznice. Práce s lokální aplikací volných mastných kyselin s krátkým řetězcem při ulcerózní kolitidě prokazují jejich léčebný efekt.

7. Výzkum a perspektiva

Probiotika patří v současné době k tématům, která stojí v popředí zájmu evropských vědců a nám nezbyvá než čekat, co nového jejich práce přinese.

V současné době se odborníci zaměřují mimo jiné na témata jako jsou **genetické modifikace**, které nabízejí šanci ještě posílit probiotické vlastnosti bakterií (pouze posílit – nejedná se o to, že by měly být bakteriím dodávány nové vlastnosti). Pokud by tyto pokusy byly úspěšné, znamenalo by to další výhodu pro konzumenty, i když v Evropě stále ještě panují vůči genetickým manipulacím značné výhrady. Dále se zkoumá využití probiotických bakterií jako **přenašečů** různých vakcín, enzymů nebo antimikrobiálních preparátů přímo k cíli v trávicím traktu.

V únoru 2001 oficiálně odstartoval společný projekt, částečně podporovaný Evropskou komisí (PROEUHEALTH), který spojuje 42 výzkumných týmů z 12 evropských zemí a jeho cílem je rozšířit znalosti o problematice střevní mikroflóry, roli probiotik a jejich přínosu pro lidské zdraví. Jeho součástí je pět doplňujících projektů, které pokrývají všechny aspekty spojené s vývojem probiotických potravin, s identifikací bakterií s probiotickými vlastnostmi (identifikace nevychází z jejich vlastností, ale ze struktury DNA) a s vývojem nových technologií, potřebných pro průmyslovou výrobu probiotických potravin (viz. seznam projektů). Odborníci, pracující na těchto projektech, se zavázali, že výsledky svých výzkumů předají nejenom dalším vědcům, ale také spotřebitelům a obchodním společnostem.

Současné teoretické poznatky o probiotické léčbě spolu s výsledky studií řadí jejich použití v terapii idiopatických střevních zánětů mezi čtyři základní indikace. Nepatogenní *E. coli* (Mutaflor) má profylaktické účinky v remisi ulcerózní kolitidy srovnatelné s mesalazinem. Skupina laktobacilů a bifidobakterií ve vyšších koncentracích je indikována v terapii ulcerózní kolitidy při intoleranci aminosalicylátů a rovněž v léčbě pouchitid. Volné mastné kyseliny s krátkým řetězcem jako produkty části probiotické mikroflóry mají prokazatelný léčebný efekt v lokální aplikaci u distálních tvarů ulcerózní kolitidy. Obecně lze dnes v léčbě ulcerózní kolitidy a Crohnovy nemoci probiotickou terapií skupiny nepatogenních *E. coli*, laktobacilů a bifidobakterií považovat za metodu volby.

Crohnova nemoc a ulcerativní kolitida jsou závažné choroby s výrazně negativním dopadem na kvalitu života. Symptomy se opakovaně vracejí. Tyto nemoci mají na svědomí dlouhodobé trápení padesáti z každého 100 000 obyvatel USA a Evropy a v současné době je nedokážeme vyléčit.

Probiotika mohou lidem trpícími podobnými střevními problémy ulehčit život. V současné době probíhá v Irsku, Španělsku a Finsku testování účinnosti dvou typů probiotik se skupinami dobrovolníků, trpícími zánětlivými chorobami střevního traktu (IBD - inflammatory bowed diseases), jako je právě Crohnova choroba a ulcerativní kolitida. Testované probiotické bakterie byly vybrány na základě výsledků předchozích studií. Pacient dostává v mléčném produktu probiotika nebo placebo. Prohlídce se podrobí měsíc po začátku studie a pak každé tři měsíce: provádí se široké spektrum měření tělesných funkcí a hodnotí se kvalita života. Účinek léčby se hodnotí pomocí dotazů na celkový zdravotní stav pacienta, jeho pocit dobré pohody a rozbořem krve, slin a stolice. Studie je v současné době ve fázi, kdy byla ve všech státech schválena etickou komisí a ve zúčastněných výzkumných centrech začal nábor dobrovolníků a příprava technických a organizačních podkladů.

Výsledky jiných studií zabývajících se probiotickým kmenem *E.coli* potvrdily, že tento kmen podávaný perorálně po narození rychle osídí střevní trakt novorozence, dochází k jeho kvantitativní převaze a stává se kmenem dominantním. Dlouhodobá přítomnost kmene ve střevě snižuje počet patogenů, osídlujících střevní, ale i jiné sliznice, výskyt onemocnění a nutnost podávání antibiotik u nedonošených a rizikových dětí. Příznivé působení podávaného kmene je možné vysvětlit stimulací lokální i celkové imunitní odpovědi. Časná indukce vlastní tvorby sekrečního IgA je zvláště významná u nekojených dětí. Nahrazení přirozeného, leč náhodného osídlení střeva cíleným osídlením probiotickým kmenem *E.coli* s výhodnými vlastnostmi snížilo u nedonošených dětí významně počet nosokomiálních infekcí. Ještě po 10 letech pak byl u této skupiny prokázán nižší výskyt opakovaných infekcí (23 %) než u dětí kontrolních (58 %).

Dále mělo cílené osídlení po narození kmenem *E.coli* mělo též dlouhodobý vliv na výskyt alergických onemocnění – významně nižší počet alergií byl prokázán po 10 a 20 letech (12% po 10 letech, 16% po 20 letech u osídlených dětí, 33% a 32% po 10 a 20 letech u kontrolních dětí). Výsledky jsou v souladu se současnými údaji ve světové literatuře o stoupajícím významu střevní flóry, která je důležitým

modulátorem vývoje imunitních funkcí pro vznik alergických onemocnění. Kontrolovaná kolonizace probiotickými bakteriemi by tak mohla být užitečným preventivním i terapeutickým opatřením.

V jiném pokusu byly popsány výsledky přidání bakterií *Lactobacillus acidophilus* do buněčné kultury lidských buněk CACO-2, čímž se zabránilo adhezi enteropatogenních a enterotoxigenních kmenů *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* a *Yersinia pseudotuberculosis*.

V další studii dostali zdraví dobrovolníci v polévce z ovesných vloček směs 19 kmenů laktobacila (celkem 5×10^6 živých bakterií). Vyšetřením bioptických vzorků pak bylo potvrzeno, že laktobacily na dobu nejméně 11 dní kolonizovaly sliznici střeva a u některých osob došlo dokonce ke 100násobnému snížení množství klostridií na sliznici střeva a k poklesu počtů anaerobů a enterobakterií v rektu. Když byly dětem s enteritidou do stravy přidány bakterie *Bifidobacterium breve*, z jejich stolice vymizel *Campylobacter jejuni* (i když ne tak rychle jako při léčbě erytromycinem). Suplementace sušené mléčné stravy bakteriemi *B. bifidum* a *Streptococcus thermophilus* vyvolala pokles vylučování rotavirů a počtu průjmových příhod u hospitalizovaných dětí.

Laktobacily byly opakovaně použity při léčbě pseudomembranózní kolitidy, ale výsledky byly různé. Kmen *L. acidophilus* NCDO 1748 neměl žádný léčebný efekt, kmenem GG bylo u pěti pacientů dosaženo úplné eradikace *Clostridium difficile* (kmen GG kolonizuje střevo a tvoří metabolit toxický pro klostridia).

Na druhé straně, podávání *L. acidophilus* a *L. bulgaricus* nezabránilo vzniku průjmového onemocnění u dobrovolníků, experimentálně infikovaných enterotoxigenním kmenem *E. coli*.

Samozřejmě byla testována i preventivní a léčebná účinnost kvasinky *Saccharomyces boulardii* – např. ve dvojitě slepé studii na skupině 180 osob, exponovaných *C. difficile*. Průjmové onemocnění vzniklo u 9,5% (ve skupině placebo u 22%). Podobně nejednotné jsou i některé epidemiologické zkušenosti. V Austrálii se nepodařilo zabránit vzniku "průjmu cestovatelů" podáváním směsi laktobacilů, bifidobakterií a dalších bakterií. Naproti tomu v Egyptě došlo u osob, kterým byla podána směs *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *S. thermophilus* a *B. bifidum*, k snížení výskytu průjmů ze 71% na 43%.

Kontrolovanou studií na dobrovolnících bylo zjištěno, že po 15ti-denním užívání frukto-oligosacharidů se počet bifidobakterií ve stolici desetinásobně zvýšil, zatímco počty klostridií a enterobakterií poklesly. In vitro se pak ukázalo, že bifidobakterie, pěstované na půdách s frukto-oligosacharidy, tvořily látky v různé míře potlačující růst salmonel, listerií, shigel, kampylobaktera aj. Ale i když frukto-oligosacharidy výrazně zvyšují růst především bifidobakterií, je zřejmé, že na jejich metabolizaci v kolon se podílejí i jiné bakteriální druhy (tj. že spektrum ovlivněných bakterií je širší).

Výzkum, který by vytvořil pevnou poznatkovou bázi koncepcí pro tuto oblast, je bohužel teprve v začátcích. I když existuje řada experimentálních i klinických prací, které potvrzují, že představy o úloze pro- a prebiotik mají reálný základ, mnoho zcela základních otázek zůstává otevřeno. Velkým metodickým problémem jsou podstatné rozdíly v aktivitách jednotlivých bakteriálních druhů a kmenů. To se týká protiinfekčních vlastností i rozdílů ve schopnosti využívat různá prebiotika. Proto dost dobře není možné hovořit o prospěšnosti různých přípravků obecně, bez znalosti jejich složení a prokázaných vlastností jejich složek. Nicméně, koncepce pro- i prebiotik mají naději stát se velmi podstatným přínosem k lékařským názorům na úlohu faktorů výživy a možností jejich využití k posílení zdraví.

Některé projekty EU tematicky zaměřené na problematiku probiotik

Ukončené projekty:

FAIR-CT96-1028: Demonstration of nutritional functionality of probiotic foods (PROBDEMO)

Průkaz přínosu probiotických potravin pro lidskou výživu (Finsko)

FAIR-CT97-3035: Development and application of molecular approaches for assessing the human gut flora in diet and health (DIFE)

Vývoj a aplikace molekulárních metod pro posuzování vzájemného vlivu diety, složení střevní mikroflóry a lidského zdraví (Německo)

FAIR-PL98-4230: Intestinal flora: beneficial and detrimental effects on host nutritional balance and diet (INFLORA)

Střevní mikroflóra: příznivé a nežádoucí účinky na výživu hostitelského organismu (Francie)

FAIR-CT95-0433 : Molecular mechanisms of colonization resistance against Clostridium difficile and Clostridium perfringens (ClostResist)

Molekulární mechanismus mikrobiálního osídlení, posilujícího rezistenci vůči Clostridium difficile and Clostridium perfringens (ClostResist) (Francie)

FAIR-CT97-3181 : New methodologies for studying diet and gut maturation in early life (MEDIGUT)

Nové metodiky studia výživy a vývoje střev v ranném věku (Velká Británie)

FAIR-CT97-3142 : Novel food additives and bioactive components from milk for innovative nutrient engineering (NOFA)

Nové potravinářské přísady a bioaktivní složky z mléka pro přípravu nových funkčních potravin (Německo)

Probíhající projekty:

QLK1-2000-00563 : Development and application of high throughput molecular methods for studying the human gut microbiota in relation to diet and health

Vývoj a aplikace vysokokapacitních molekulárních metod pro studium vztahu střevní mikroflóry, diety a zdraví (Německo)

QLK1-2000-00067 : Functional foods, Gut microflora and Healthy ageing (CROWNLIFE) – PROEUHEALTH

Funkční potraviny, střevní mikroflóra a zdravé stárnutí (Francie)

QLK1-2000-00042 : Nutritional enhancement of probiotics and prebiotics: technology aspects on microbial viability, stability, functionality and on prebiotic function (PROTECH)

Posílení nutriční hodnoty probiotik a prebiotik: vliv technologického zpracování na jejich životnost, stabilitu, funkčnost a prebiotické vlastnosti (Německo)

QLK1-2000-00563 : Probiotics and gastrointestinal disorders – Controlled trials of European Union patients (PROGID)

Probiotika a onemocnění gastrointestinálního traktu – klinické studie (Irsko)

QLK1-2000-00146 : Probiotic strains with designed health properties (DEPROHEALTH)

Probiotické kmeny s požadovanými vlastnostmi (Francie)

QLK1-1999-00346 : Synbiotics and cancer prevention in humans (SYNCAN)

Synbiotika a prevence nádorových onemocnění u člověka (Belgie)

8. Závěr

Střevní mikroflóra má velký funkční význam pro organismus. Existuje v jasně vymezeném vztahu ke svému hostiteli, kterému poskytuje celou řadu výhod. Složení mikroflóry se mění s věkem a je citlivé na změny prostředí (například na změny probíhající v menopauze nebo v průběhu medikamentózní léčby). V průběhu akutních nebo chronických střevních nemocí dochází k významným změnám mikroflóry. Probiotika mohou posílit pozitivní účinek střevní mikroflóry či zlepšit její rovnováhu ve prospěch "tělu užitečných" bakterií.

Probiotika jsou živé mikroorganismy přidávané do potravin nebo do potravinových doplňků, které příznivě ovlivňují zdraví jejich konzumenta zlepšením rovnováhy jeho střevní mikroflóry. Prebiotika jsou nestravitelné složky potravy selektivně podporující růst nebo aktivitu těchto prospěšných mikroorganismů v tlustém střevě. Probiotika jsou vybírána především mezi druhy mléčných bakterií rodů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*. Tyto „prospěšné“ bakterie znesnadňují jiným patogenním mikroorganismům pomnožení ve střevech a navíc jsou vybaveny mechanismy, kterými pomáhají detoxikovat škodlivé složky tráveniny.

Konzumace těchto prospěšných biologických agens má mnoho zdravotních přínosů. Probiotické kultury napomáhají ustavení nebo obnovení zdravé střevní mikroflóry, která mohla být narušena užíváním antibiotik, hormonů či nevhodnou kyselinotvornou stravou s převahou jednoduchých cukrů a chemických látek. Dále zvyšují odolnost střeva proti choroboplodným mikroorganismům vyvolávajícím průjem. Probiotika snižují hladinu celkového a škodlivého LDL cholesterolu a tvorbu bakteriálních enzymů v tlustém střevě, které mají mutagenní účinky a mohou vyvolávat růst nádorů. Dále mohou zmírňovat nesnášenlivost vůči mléčnému cukru laktóze u osob postižených mléčnou intolerancí. Pravidelná konzumace tzv. „funkčních potravin“ má vliv na posílení imunitního systému a některé užívané kultury bakterií navíc syntetizují některé vitamíny (K, B).

Literatura

Adlerberth I., Carlsson B., de Man P. et al. (1991): Intestinal colonization with enterobacteriaceae in Pakistani and Swedish hospital – delivered infants. *Acta Paediatr Scand* 80:602-610.

Anonymous: The PROBDEMO projects on probiotic foods. *Trends in Food Science & Technology (spec. issue)* 10:385-424.

Blattner F. R., Punkett G.I., Bloch C.A. et al. (1977): The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science* 277:1453–1474.

Burke D.A. & Axon A.T.R. (1988): Adhesive *Escherichia coli* in inflammatory bowel disease and infective diarrhea. *Br Med J* 297:102–104.

Campieri M. & Gionchetti P. (1999): Probiotics in inflammatory bowel disease: new insight to pathogenesis or a possible therapeutic alternative? *Gastroenterology* 116:1246–1249.

Chapman M.A.S., Grahn M.F., Boyle M.A. et al. (1994): Butyrate oxidation is impaired in the colonic mucosa of sufferers of quiescent ulcerative colitis. *Gut* 35:73–76.

Costagliuolo I. (1999): *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effects of *Clostridium difficile* toxins A and B in human colonic mucosa. *Infect Immun* 1(67):302–307.

Cukrowská B., Lodinová-Žádníková R., Sokol D. et al. (1999): In vitro immunoglobulin response of fetal B cells is influenced by perinatal infections: study in preterm infants. *Europ J Ped* 158:463-468.

Dai D. & Walker W.A. (1999): Protective nutrients and bacterial colonization in the immature human gut. *Adv Pediatr* 46:353-382.

Fons M., Gomez A. & Karjalainen T. (2000): *Mechanisms of colonization and colonization resistance of the digestive tract*. Taylor & Francis, ISSN 1403-4174.

Gardiner K.R., Halliday M.I., Barclay G.R. et al. (1995): Significance of systemic endotoxaemia in inflammatory bowel disease. *Gut* 36:897–901.

Gionchetti P., Rizzello F., Venturi A. et al. (1998): Maintenance treatment of chronic pouchitis: a randomised placebo-controlled, double-blind trial with a new probiotic preparation. *Gastroenterology* 114:A985.

Hanson L.A., Adlerberth I., Carlsson B. et al. (1987): The ontogeny of the immune response: the role of maternal factors. In Burgio G.R., Hanson L.A. & Ugazio A.U. [Eds.], *Immunology of the neonate*. Berlin, Springer-Verlag, pp 51-58.

Haralambie E. (1991): Bakteriologische und mykologische Untersuchungen des Stuhles. *Therapiewoche* 41(24):1556–1562.

Havenaar R. & Huis Veld M.J.H. (1992): *Probiotics: a general view*. In: *Lactic acid bacteria in health and disease*. Vol 1. Amsterdam, Elsevier Applied Science Publishers.

- Hugot J.P., Laurent-Puig P., Gower-Rousseau C. et al. (1994) : Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature* 371:161–164.
- Isolauri E., Grönlund M.M., Salminen S. et al. (2000): Why don't we bud? *J Pediatr Gastroent* 30:214-216.
- Isolauri E., Kirjavainen P.V. & Salmien S. (2002): Probiotics: a role in the treatment of intestinal infection and inflammation? *Gut* 50 (111):11154–11159.
- Isolauri E., Sütas Y., Kankaanpää P. et al. (2001): Probiotics: effects of immunity. *Am J Clin Nutr* 73 (suppl):444S-450S.
- Jirapongsananuruk O. & Leung D.M.Y. (1997): Clinical applications of cytokines: new directions in the therapy of atopic diseases. *Ann Allergy Immunol* 79:5-20.
- Jones C.A., Holloway J.A. & Warner J.O. (2000): Does atopic disease start in foetal life? *Allergy* 55:2-10.
- Kalliomaki M., Salminen S., Arvilommi H. et al. (2001): Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 357:1076-1079.
- Kitajama H., Sumida Y., Tanaka R. et al. (1997): Early administration of *Bifidobacterium breve* to preterm infants: randomized controlled trial. *Arch Dis Child* 76:F101-F107.
- Kruis W., Schütz E., Frick P. et al. (1997): Double-blind comparison of an oral *Escherichia coli* preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 11:853–858.
- Labeta M.O., Vidal K., Nores J.E. et al. (2000): Innate recognition of bacteria in human milk is mediated by a milk-derived highly expressed pattern recognition receptor, soluble CD14. *J Exp Med* 191(10):1807-1812.
- Lari A.R., Gold F., Borderon J.C. et al. (1990): Implantation and in vivo antagonistic effects of antibiotic-susceptible *Escherichia coli* strains administered to premature newborns. *Biol Neonate* 58:73-78.
- Lodinová-Žádníková R. & Sonnenborn U. (1997): Effect of preventive administration of a nonpathogenic *Escherichia coli* strain on the colonization of the intestine with microbial pathogens in newborn infants. *Biol Neonate* 71:224-232.
- Lodinová-Žádníková R., Slavíková M., Tlaskalová-Hogenová H. et al. (1991): The antibody response in breast-fed and non-breast-fed infants after artificial colonization of the intestine with *E.coli* 083. *Pediatr Res* 29:396-399.
- Malchow H.A. (1997): Crohn disease and *Escherichia coli*: A new approach in therapy to maintain remission of colonic Crohn's disease. *J Clin Gastroenterol* 25(4):653–658.
- McCann M., Abrams R.S. & Nelson R.P. (1994): Recolonization therapy with nonadhesive *Escherichia coli* for treatment of inflammatory bowel disease. *Am N.Y.Acad Sci* 730:243.
- Moreau M-C (2001) : Les probiotiques :des microorganismes bénéfiques pour notre système immunitaire? *Cholé-Doc du CERIN* n°63.

- Nissle A. (1916): Über die Grundlage einer neuen ursachlichen Bekämpfung der pathologischen Darmflora. *Dtsch Med Wschr* 42:1181–1184.
- Nissle A. (1930): Über die Bedeutung bakteriologischer Stuhluntersuchungen bei nichtinfektiösen Darmkrankheiten. *Arch Hyg Bakt* 103:124–131.
- Ogra S.S., Weintraub D. & Ogra P.L. (1977): Immunologic aspects of human colostrum and milk. III. Fate and absorption of cellular and soluble components in the gastrointestinal tract of the newborn. *J Immunol* 119:245-248.
- Panichi G. (1999): Probiotics in human health colonization of the gastrointestinal tract, nutritive and therapeutic aspects. In Corazziari E. [Ed], *Chronic gastrointestinal disorders*. Messaggi, Milano, pp 473–481.
- Pelech T., Frič P., Fixa B. et al. (1998): Srovnání Mutafloru a mesalazinu v udržovací léčbě neaktivní idiopatické proktokolitidy. *Praktický lékař* 78(10):556–558.
- Pitcher M.C.L. & Cummings J.H. (1995): Colonic fermentation, sulphur metabolism and ulcerative colitis. In Falk Symposium 85, *Inflammatory Bowel Disease*, Kluwer Academic Publishers, Dodrecht, pp 529–543.
- Poisson D.M., Borderon J.C., Amorim-Sena J.C. et. al. (1986): Evolution of the barrier effects against an exogenous drug-sensitive *Escherichia coli* strain after single or repeated oral administration to newborns and infants aged up to three months admitted to an intensive care unit. *Biol Neonate* 49:1-7.
- Prantera C., Scribano M.L., Falasco G. et al. (2000): Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease: a randomised controlled trial with *Lactobacillus* GG. *Gut* 51:405–409.
- Rautava S., Kalliomaki M. & Isolauri E. (2002): Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *J Allergy Clin Immunol* 109:119-121.
- Rembacken B.J., Snelling A.M., Hawkey P.M. et al. (1999): Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis. *Lancet* 354:635–639.
- Sadlack B., Merz H., Schorle H. et al. (1995): Gene-targeted immunologic knockouts: new models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 107:312–314.
- Sartor R.B. (1997): Review article: Role of enteric microflora in the pathogenesis of intestinal inflammation and arthritis. *Aliment Pharmacol Ther* 11 (Suppl 3):17–23.
- Sartor R.B. (1998): Postoperative recurrence of Crohn's disease: the enemy is within the fecal stream. *Gastroenterology* 114:398–407.
- Scheppach W., Sommer H., Kischner T. et al. (1992): Effect of butyrate enemas on the colonic mucosa in distal ulcerative colitis. *Gastroenterology* 103:51–56.
- Steer T., Carpenter H., Tuohy K. & Gibson G. R. (2000): Perspectives on the role of the human gut microbiota and its modulation by pro-and prebiotics. *Nutrition Research review* 13:229-254.

Sudo N., Sawamura S., Tanaka K. et al. (1997): The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE system fully susceptible to oral tolerance induction. *J Immunol* 159:1739-1745.

Thompson P.J., Greenough A., Hird M.F. et al. (1992): Nosocomial bacterial infections in very low birth-weight infants. *Eur J Pediatr* 151:451-454.

Tlaskalová H., Černá J. & Mandel L. (1981): Peroral immunization of germ-free piglets: appearance of antibody-forming cells and antibodies of different isotypes. *Scand J Immunol* 13: 467-472.

Venturi A., Gionchetti P., Rizzello F. et al. (1999): Impact on the faecal flora composition of a new probiotic preparation. Preliminary data on maintenance treatment of patients with ulcerative colitis (UC) intolerant or allergic to 5-aminosalicylic acid (5-ASA). *Alim Pharmacol Ther* 15:245–50.

Vuyst L. (2000): Technology aspects related to the application of functional starter cultures. *Food technol. Biotechnol.* 38 (2):105-112.

Watts D.A. & Satsangi J. (2002): The genetic jigsaw of inflammatory bowel disease. *Gut* 50 (Suppl 111):11131–11136.

Wellmann W., Fink P.C. & Schmidt F.W. (1984): Whole-gut irrigation as antiendotoxaemic therapy in inflammatory bowel disease. *Hepato-Gastroenterology* 27:814–820.

Wold A., Adlerberth I. & Herias V. (1998): Bacterial regulation of immunity. *Old Hebron University Seminar Monograph* 1998: 14-27.

Zbořil V. (2002): Fyziologie mikrobioty trávicího ústrojí jako základ probiotické terapie. *Postgraduální medicína* 8:824–827.

Zucconi E.C., Gionchetti P., Venturi A. et al. (1999): Probiotics in inflammatory bowel disease. In Corazziari E. [Ed], *Chronic gastrointestinal disorders*. Messagi, Milano, 483–491.

Žbáňková Š., Kment M. & Pácha J. (2002): Experimentální zvířecí modely nespecifických střevních zánětů (IBD). *Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie* 6:230–239.