

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH
BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: Z13 144 Zootechnika

Studijní obor: Zootechnika

Katedra: Katedra kvality zemědělských produktů

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Gastrointestinální ekosystém a probiotika

(Gastrointestinal ecosystem and probiotics)

Autor bakalářské práce: Zuzana Řežábková

Vedoucí bakalářské práce: Hasoňová Lucie, MVDr., Ph.D.

České Budějovice 2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Zuzana ŘEŽÁBKOVÁ**
Osobní číslo: **Z13144**
Studijní program: **B4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Zootechnika**
Název tématu: **Gastrointestinální ekosystém a probiotika**
Zadávací katedra: **Katedra kvality zemědělských produktů**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Úvod a cíl:

Jednotlivé úseky gastrointestinálního traktu jsou osídleny s různou intenzitou zástupci fyziologické mikroflóry. Rozvoj poznatků o střevní mikroflóře se v posledních letech výrazně zintenzivnil díky využití moderních metod, zejména molekulárně-biologických. Kromě tzv. rezidentní mikroflóry se po určitý čas může ve střevním traktu vyskytovat probiotická neboli importovaná mikroflóra. Význam probiotických kultur je velmi podrobně zkoumán s ohledem na příznivé ovlivňování onemocnění nejen trávicího traktu.

Cílem bakalářské práce bude vytvoření literárního přehledu zaměřeného na vývoj a funkci fyziologické mikroflóry zvířat a dále na význam probiotik ve výživě zvířat.

Literární přehled: Současný stav poznání dané problematiky, zpracovaný na základě studia odborné a vědecké literatury.

Závěr: Vyhodnocení a shrnutí získaných informací, návrhy a doporučení vyplývající ze studované problematiky.

Abstrakt: přehled nejdůležitějších informací - v českém a anglickém jazyce, včetně klíčových slov.

Rozsah grafických prací: tabulky a grafy dle potřeby

Rozsah pracovní zprávy: 25 - 35 stran

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

- Frič, P.: Význam gastrointestinálního ekosystému. Postgraduální medicína, 2009, 11, 658-661.
- Mackie, R.J., Abdelghani, S., Gaskins, H.R.: Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. The American Journal of Clinical Nutrition, 1999, 69:1032S-1045S.
- Marteau, P.R., de Vrese, M., Cellier, C.J., Schrezenmeir, J.: Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. American Journal of Clinical Nutrition, 2001, 73, 430-36.
- Rada, V.: Využití probiotik, prebiotik a synbiotik. Medicína pro praxi, 2011, 8 (1), 10-15.
- Rada, V., Marounek, M.: Probiotika a prebiotika ve výživě zvířat. Vědecký výbor výživy zvířat, Výzkumný ústav živočišné výroby Praha - Uhřetěves, 2005, 42 s.

Vedoucí bakalářské práce: **MVDr. Lucie HASOŇOVÁ, Ph.D.**
Katedra zootechnických věd

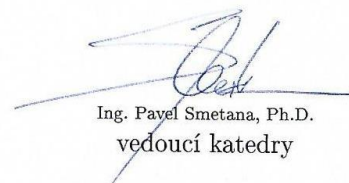
Datum zadání bakalářské práce: **18. března 2015**

Termín odevzdání bakalářské práce: **15. dubna 2016**



prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice** ①



Ing. Pavel Smetana, Ph.D.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 18. března 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pod vedením MVDr. Lucie Hasoňové, Ph.D. s použitím literatury uvedené v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách i se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

České Budějovice 2016

.....

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí své bakalářské práce MVDr. Lucii Hasoňové, Ph.D. za poskytnutí odborné literatury a cenných rad. Dále ji děkuji za čas, který mi věnovala při konzultacích.

Abstrakt

Střevní mikroflóra je postnatálně získaný orgán. Její metabolická činnost je srovnatelná s metabolismem jater. Střevní mikroflóra vytváří se slizničním imunitním systémem a střevní slizniční bariérou vysoce integrovaný komplex, gastrointestinální ekosystém. Úplná morfologická a funkční vyzrállost jednotlivých složek vyžaduje četné interakce, mezi nimiž je křehká rovnováha. Probiotika byla definována jako životaschopné mikroorganismy, které (při požití) mají příznivý účinek v prevenci a léčení určitých patologických stavů. Probiotika stabilizují svými účinky jednotlivé složky gastrointestinálního ekosystému a přispívají k vytvoření fyziologické rovnováhy. Podávání probiotik se může stát novou metodou biologické terapie.

Klíčová slova: střevní mikroflóra, gastrointestinální ekosystém, probiotika

Abstract

Intestinal microflora is a postnatal acquired organ. Its metabolic activities are comparable with liver metabolism. Intestinal microflora, the mucosal immune system, and the intestinal mucosal barrier constitute a highly integrated complex, the gastrointestinal ecosystem. The full morphological and functional maturity of individual components requires interactions marked with a brittle equilibrium. Probiotics have been defined as viable microorganisms that (when ingested) have a beneficial effect in the prevention and treatment of specific pathologic conditions. The probiotics stabilize the functions of individual components of the gastrointestinal ecosystem and contribute to the constitution and preservation of the physiological equilibrium. Using of the probiotics have the prerequisites to become a new method of biological therapy.

Key words: intestinal microflora, gastrointestinal ecosystem, probiotics

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	STŘEVNÍ EKOSYSTÉM A PROBIOTIKA.....	10
2.1	Gastrointestinální ekosystém	10
2.2	Střevní mikroflóra.....	11
2.2.1	Vývoj střevní mikroflóry a kolonizace střeva	11
2.2.2	Funkce střevní mikroflóry	13
2.2.3	Zástupci střevní mikroflóry	14
2.2.4	Faktory ovlivňující složení střevní mikroflóry.....	22
2.3	Probiotika.....	24
2.3.1	Historie a význam probiotik	24
2.3.2	Požadavky na probiotika	26
2.3.3	Mikroorganismy používané jako probiotika	26
2.3.4	Dávkování probiotik.....	30
2.3.5	Mechanismus účinku probiotik	31
3	ZÁVĚR	33
4	SEZNAM LITERATURY	34

1 ÚVOD

Gastrointestinální trakt plní řadu nepostradatelných životních funkcí. Mezi nejdůležitější z nich patří trávení potravy a absorpce živin, na kterých se podílí mikroorganismy. Ty se nacházejí v trávicím traktu zcela přirozeně a vytváří tzv. gastrointestinální ekosystém, který je považován za aktivní orgán těla. Součástí gastrointestinálního ekosystému je řada kmenů a rodů mikroorganismů (např. *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*), jejichž počet se v jednotlivých částech trávicího traktu liší. Střevní mikroflóra musí být schopna zajistit mikrobiální bariéru proti patogenům a potenciálním patogenům, stimulovat imunitní střevní systém a tím i společný slizniční imunitní systém. Napomáhá redukovat bakteriální translokaci, produkovat vitaminy a štěpit stravitelné i nestravitelné sacharidy.

Probiotika se využívají ve výživě zvířat i lidí. Mikroorganismy používané jako probiotika jsou především humánního původu. Nejvýznamnější zástupci patří do rodu *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*. Používají se v prevenci střevních onemocnění, ovlivňují základní funkce zažívacího traktu a zlepšují využití potravy. Vedle nutričních aspektů jejich použití jsou zdůrazněny i jejich imunomodulační, protizánětlivé a antiinfekční aktivity, jimiž přispívají k prevenci střevních infekcí.

Cílem práce bylo vytvoření literárního přehledu zaměřeného na vývoj a funkci fyziologické mikroflóry zvířat a dále na význam probiotik ve výživě.

2 STŘEVNÍ EKOSYSTÉM A PROBIOTIKA

2.1 Gastrointestinální ekosystém

Gastrointestinální trakt (GIT) má řadu různých funkcí, přičemž jednou z nejdůležitějších funkcí je trávení potravy a absorpce živin (Stibůrek, 2009). GIT je část organismu, která nejvíce přichází do kontaktu s látkami ze zevního prostředí, například s toxiny, antigeny, alergeny, bakteriemi nebo viry, které přicházejí s potravou nebo jsou součástí střevní flóry. Z těchto důvodů musí být celý GIT odolný a musí být schopný řady obranných mechanismů (Lukáš et al., 2007; Stibůrek, 2009).

Gastrointestinální ekosystém je vysoce integrovaný komplex, který zahrnuje střevní mikrobiom, který lze považovat za aktivní orgán savců (Frič, 2011; Bunešová et al., 2015). Střevní mikrobiom je souhrnný název pro všechny mikroorganismy žijící v určitém prostředí (Frič, 2011). Tyto mikroorganismy jsou odolné proti působení antimikrobiálních látek trávicího traktu a svou činností brání množení jiných patogenních druhů, proto jsou jedním z nejdůležitějších obranných mechanismů GIT (Lukáš et al., 2007). Dalším obranným mechanismem je střevní slizniční bariéra, která má základní obrannou schopnost proti působení škodlivých a potenciálně škodlivých látek. Přistupují k ní hlen, lysozomy, fagocyty, pH prostředí a různé humorální faktory (Lukáš et al., 2007). Součástí slizniční bariéry a současně dalším oddílem obranného systému organismu je slizniční imunitní systém, jež zahrnuje lymfatickou tkáň ve stěně GIT, plazmatické buňky (hlavně ve stěně tenkého střeva) a také lymfatické uzliny v mezenteriu a makrofágový systém jater. Tento komplex zajišťuje látkovou přeměnu, výživu a regulaci slizniční a systémové imunity hostitele (Lukáš et al., 2007). Mezi hlavní funkce slizničního imunitního systému je zařazena zejména antiinfekční imunita, zajišťující ochranu proti mikroorganismům, dále bariérová funkce, zabraňující průniku imunogenních složek z potravy či z vlastní bakteriální mikroflóry sliznic. Významnou funkcí je též orální slizniční tolerance, což je schopnost tolerovat vlastní mikrobiální flóru a nutričně důležité složky potravy. Poslední funkcí slizničního imunitního systému je imunoregulační aktivita, která udržuje na sliznicích homeostázu, tedy zajišťuje odstraňování poškozených, mutovaných či v daných podmínkách nevhodných buněk vlastního organismu (Vernerová, 2008).

2.2 Střevní mikroflóra

Střevo je největší imunitní orgán lidského těla, disponuje plochou více než 200 m² a produkuje více protilátek, než kterýkoli jiný orgán (Stibůrek, 2009). U dospělého člověka je dlouhé zhruba 7 – 10 m a jeho extrémně nepravidelný povrch je pokryt jednou vrstvou epiteliálních buněk (Juránková et al., 2008). Ve střevě se nachází přibližně 1 % kvasinkových organismů, 29 % grampozitivních bakterií a 70 % gramnegativních a gramvariabilních bakterií (Rada et al., 2009). Lata a Juránková (2011) uvádí, že tyto bakterie vytváří komplexní ekosystém, který je dle Friče (2011) postnatálně získaným orgánem. Fetální střevo je sterilní, jeho kolonizace začíná při porodu od matky a poté mikroby z okolního prostředí, ve kterém se jedinec nachází. Kromě střeva jsou mikroorganismy osídleny i další tělesné povrchy (dýchací a močové cesty, pochva a kůže), které se trvale setkávají s různými antigeny z okolního prostředí (Frič, 2011).

Střevní mikroflóra je dvojího typu: rezidentní a importovaná (probiotická) (Frič, 2005). Juránková et al. (2008) odhaduje, že se ve střevě může nacházet více než 500 druhů mikrobů, z nichž většina nebyla nikdy vykultivována a mnoho z nich nebylo ani nikdy identifikováno. Dle Friče (2005) existují speciální kultivační metody, které v současné době napomáhají identifikovat 20 – 40 % zástupců střevní mikroflóry v organismu, ale většina bakterií (uvádí se 60 – 80 %) je nekultivovatelná (Suau et al., 1999).

2.2.1 Vývoj střevní mikroflóry a kolonizace střeva

Vývoj střevní mikroflóry má spíše náhodný charakter s postupnou selekcí kmenů (Frič, 2009). Např. u dětí rozených přirozenou cestou kolonizace mikroorganismy začíná průchodem porodními cestami, prvotní manipulací a kojením. Děti narozené císařským řezem, jsou hned umístěny do inkubátoru, kde jsou stále udržovány ve sterilním prostředí, a proto je vývoj jejich střevní mikroflóry odlišný (McFarland, 2000). Dále zhruba od 4. dne věku dochází k výraznému zvyšování počtů střevních mikroorganismů (Ribeiro, 2015). První mikroby kolonizující střevo jsou aerobní a fakultativně anaerobní - koliformní mikroorganismy, laktobacily a streptokoky. Tyto populace snižují oxidoredukční potenciál, což umožňuje osídlení střeva anaerobními mikroby, jako jsou rody *Bacteroides* a *Bifidobacterium* (Frič, 2010).

Rychlík (2014) charakterizoval změny ve střevní mikroflóře nosnic, které byly po celou dobu jejich života chovány ve stejném hejně, za stejných životních podmínek. Pozorované změny jsou tak závislé pouze na věku a jsou jen minimálně ovlivněné ostatními vlivy prostředí. Uvádí, že se u kuřat nachází ve slepém střevě bakterie z kmene *Proteobacteria*. Tyto bakterie se v přírodě vyskytují zcela běžně, a proto není jejich přítomnost v trávicím traktu kuřat překvapující. Od 2. do 4. týdne života je tato skupina zcela nahrazena pro střevní trakt typickými bakteriemi kmene *Firmicutes*. Od 5. do 20. týdne života pak dochází k postupnému snižování dominance *Firmicutes* a v mikroflóře střeva drůbeže se objevují zástupci poslední skupiny mikroorganismů z kmene *Bacteroidetes*. Od 21. týdne života až do konce produkce vajec dochází k ustanovení rovnováhy ve skladbě střevní mikroflóry slepého střeva drůbeže. Dle **Zbořila (2000)** jsou zvířata chovaná rozdílným způsobem nepřetržitě ovlivňována řadou fyzikálních, chemických a biologických faktorů, které mohou tuto rovnováhu narušit, a jsou tak potenciálním zdrojem onemocnění trávicího traktu či organismu jako celku. Může dojít ke změnám v celkovém množství mikroorganismů, změnám spektra jejich složení v určitých lokalizacích nebo jejich metabolických aktivit.

Nerovnováhu zapříčiní i kolonizace střevního traktu negativní mikroflórou. Aby nedocházelo ke vzniku nerovnováhy (kolonizaci střeva patogeny, např. *Clostridium difficile*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas*, patogenní *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Listeria*) musí být velmi účinná přirozená bariéra (**McFarland, 2000**). Přirozená bariéra vzniká pomocí přirozené mikroflóry, která je schopna produkovat látky a antimikrobiální proteiny (bakteriociny), které jsou inhibitory kolonizace patogenními mikroorganismy. Bakteriocin produkovaný laktobacily se nazývá reuterin. Přirozená mikroflóra může produkovat mnoho dalších metabolických produktů, které jsou prospěšné pro celý organismus (**McFarland, 2000**).

Mechanismus kolonizace je komplexní, dynamický a velice důležitý, neboť mikroorganismy tvoří příznivé prostředí pro svůj další růst, určují další kolonizaci bakteriemi, s nimiž se střevo setká v budoucnu. Původní kolonizace je tak podstatná pro konečné složení permanentní mikroflóry dospělého jedince. Opravdové změny střevního ekosystému se objevují po ukončení sání mateřského mléka a přechodu na tuhou stravu. V této době se zvyšuje počet obligátních anaerobů

(bakteroidy, klostridia) a střevní ekosystém se vyvíjí ve stabilní společenství (**Fixa a Komárková, 1994**).

2.2.2 Funkce střevní mikroflóry

Střevní mikroflóra je schopna produkovat nebo kontrolovat látky, které vznikly ve střevech metabolickými procesy, zároveň ovlivňuje vstřebávání, sekreci, motilitu a splachnickou cirkulaci (tzn. oběh krve GIT, játry, slinivkou břišní a slezinou) střev (**Trojan et al., 2003; Frič, 2010**). Střevní epitel je schopný využívat produkty vzniklé z potravy jak účinkem trávicích enzymů, tak i z nestravitelných součástí potravy, které se stávají substráty mikrobiálních enzymů. Funkce střevní mikroflóry je tak závislá na složení potravy a na kolonizaci trávicího traktu (**Nevoral, 2005; Frič, 2011**).

Střevní mikroflóra musí být schopna zajistit mikrobiální bariéru proti patogenům a potenciálním patogenům, stimulovat imunitní střevní systém a tím i společný slizniční imunitní systém, redukovat bakteriální translokaci a v neposlední řadě produkovat vitaminy (**Lata a Juránková, 2011**). Vytváří vitamíny skupiny B (B₁₂, B₉), vitamín K (K₂), který napomáhá optimálnímu srážení krve, dále vitamín H, který má vliv na zdravou pleť, vlasy, nehty a reguluje hladinu cukru. Vitamín B₁₂ je ve vodě rozpustný kobalt obsahující derivát korinu, který podporuje správnou krvetvorbu, napomáhá funkci nervového systému a podílí se na syntéze DNA a ATP (**Nevoral, 2005**). Další způsob obrany je kompetitivní fermentativní spotřeba sacharidů (vláknina, škrob), čímž dojde k produkci volných mastných kyselin s krátkým řetězcem (kyselina propionová, mléčná, octová) a plynů (hlavně vodík a methan). Butyrát, kyselina octová a propionová se rychle absorbují a jsou tedy hlavním zdrojem energie pro kolonocyty zvyšující resorpci, stimulující již zmíněnou motilitu střev a prokrvení sliznice (**McFarland, 2000; Frič, 2010; Lata a Juránková, 2011**). Kyselina máselná má několik funkcí, včetně zachování integrity střevní epitelové vrstvy. Je hlavním zdrojem energie pro buňky, které regulují buněčný růst a diferenciaci (**McFarland, 2000; Frič, 2010**). Při rozkladu těchto látek bakteriemi za aerobních podmínek může dojít ke změně pH až na hodnotu 4 a méně, což znemožňuje růst a množení patogenních a hnilobných bakterií. Nejcitlivější na takto nízké pH jsou patogenní bakterie čeledi *Enterobacteriaceae*, jako je např. rod *Shigella* a *Salmonella*. Fermentace

nestravitelných sacharidů bakteriemi rovněž zlepšuje absorpci vápníku, hořčíku, zinku a železa v tlustém střevě (Geigerová et al., 2014).

2.2.3 Zástupci střevní mikroflóry

Střevní mikroflóra dle Laty et al. (2011) obsahuje 10 krát více buněk, než je buněk v lidském organismu a dokonce i 100 krát více genů, než je obsaženo v celém lidském genomu. Frič (2005) odhaduje, že počet mikroorganismů ve střevní mikroflóře u lidí se může pohybovat až kolem hodnoty 40 000. Většina těchto druhů mikrobů střevní mikroflóry spadá mezi organismy s pozitivními účinky na celý organismus (schopnost zastavení růstu exogenních nebo i škodlivých bakterií, vytvářet nízké pH v prostředí, redukovat hladinu cholesterolu atd.). Řadí se do dvou hlavních kmenů: *Firmicutes* a *Bacteroidetes*. Jedná se především o rody *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* (Frič, 2005; Stibůrek, 2009). U zvířat se střevní mikroflóra liší především podle anatomie a fyziologie trávicího traktu, které jsou odlišné u mono- a polygastrických zvířat. Hlavní mikrobiální skupiny u monogastrických zvířat (jako je prase, drůbež, králík) jsou rody *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Propionbacterium* a bakterie čeledi *Enterobacteriaceae*. U prasat je střevní mikroflóra tvořena až z 90 % striktně anaerobními nebo fakultativně anaerobními grampozitivními druhy (Geigerová et al., 2014) a může se zde vyskytovat dokonce až 500 bakteriálních druhů (Gaskins et al., 2008). U polygastrických zvířat se střevní mikroflóra nachází v batoru společně s anaerobními houbami, brvitými prvky a metanogenními organismy. Jedná se o rody degradující vlákninu, jako jsou *Fibrobacter*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Selenomonas* (Bunešová et al., 2015). Bakteriální diverzita trávicího traktu se zvyšuje od masožravců přes všežravce až po býložravce, u kterých je střevní mikroflóra nejrozmanitější. Rozdíly jsou uváděny i mezi mořskými a suchozemskými savci. Např. mořští masožravci mají oproti suchozemským snížený počet bakterií kmene *Firmicutes* a zvýšený počet bakterií rodu *Fusobacteria*. A obecně platí, že mořští býložravci mají ze všech savců nejbohatší střevní mikroflóru (Geigerová et al., 2014).

Skladba střevní mikroflóry je rozmanitá a jednotlivá mikrobiální společenství se i přes rozdílné chemické prostředí značně překrývají a zastoupení jednotlivých mikroorganismů v trávicí trubici není náhodné. V jednotlivých částech trávicí trubice se vytváří gradienty (lumen – sliznice), jejichž mikrobiální osídlení určuje hostitel (Frič, 2011).

U lidí dle Juránkové et al. (2008) a Lata a Juránkové (2011) převládají gramnegativní mikroorganismy nad grampozitivními. Zcela běžně se vyskytují koliformní bakterie, z anaerobů bakteroidy, bifidobakteria a klostridia (Tab. 1). Podobnost mikroflóry jednotlivých částí trávicího traktu je dána schopností mikroorganismů pronikat do dalších částí GIT.

Tabulka 1 Složení mikroflóry gastrointestinálního traktu

Mikroorganismy	Počty mikroorganismů			
	Žaludek	Lačník	Kyčelník	Tračník
Celkový počet mikroorganismů	0 – 10 ³	0 – 10 ³	10 ³ – 10 ⁹	10 ¹⁰ – 10 ¹²
aerobně rostoucí agens				
čeleď <i>Enterobacteriaceae</i>	0 – 10 ²	0 – 10 ³	10 ² – 10 ⁷	10 ⁴ – 10 ¹²
Streptokoky	0 – 10 ³	0 – 10 ⁴	10 ² – 10 ⁶	10 ⁵ – 10 ¹⁰
Stafylokoky	0 – 10 ²	0 – 10 ³	10 ² – 10 ⁵	10 ⁴ – 10 ⁹
Laktobacily	0 – 10 ³	0 – 10 ⁴	10 ² – 10 ³	10 ⁶ – 10 ¹⁰
Kvasinky	0 – 10 ³	0 – 10 ²	10 ² – 10 ⁴	10 ⁴ – 10 ⁶
anaerobní bakterie				
Bakteroidy	vzácně	0 – 10 ³	10 ³ – 10 ⁷	10 ¹⁰ – 10 ¹²
Bifidobakteria	vzácně	0 – 10 ⁴	10 ³ – 10 ⁹	10 ⁴ – 10 ¹¹
Peptostreptokoky	vzácně	0 – 10 ³	10 ² – 10 ⁶	10 ¹⁰ – 10 ¹²
Klostridia	vzácně	vzácně	10 ² – 10 ⁴	10 ⁶ – 10 ¹¹
Eubakteria	vzácně	vzácně	vzácně	10 ¹⁰ – 10 ¹²

Zdroj: Juránková et al. 2008; Lata a Juránková, 2011

Dutina ústní

V dutině ústní se nachází dle Švestky (2007) anaeroby i aeroby, např. *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Candida albicans* a také gramnegativní mikroorganismy. Počet těchto organismů se odhaduje na 10⁷ CFU (z angl. *Colony Forming Unit*) Většina těchto bakterií pochází z horních cest dýchacích a složení je silně ovlivňováno stravou i dalšími vlivy ze zevního prostředí (Anonym 1). Bakterie ústní dutiny jsou považovány za komenzály, přesto lze některé z nich spojit se vznikem biofilmu, jenž je odolný vůči mechanickému namáhání a antibiotické léčbě. Některé

bakterie produkují organické kyseliny, které mohou narušit zubní sklovinu a významně tak přispívají ke vzniku zubního kazu (Geigerová et al., 2014).

Žaludek

Žaludek představuje velice agresivní prostředí (nízké pH, koncentrace trávicích enzymů), ve kterém se vyskytuje 10^3 CFU (Anonym 1; McFarland, 2000). V žaludku jsou zastoupeny nejvíce laktobacily, streptokoky a kvasinky (Švestka, 2007; Lata a Juránková, 2011). Některá monogastrická zvířata, příkladem jsou koně a prasata, mají ve skvamózní části žaludku poměrně vysoký počet laktobacilů. Tato oblast se vyznačuje přímou adhezí bakterií na epitelální buňky. Hlodavci mají méně kyselé žaludeční prostředí (pH 3 – 5), což je způsobeno trvalou přítomností potravy a díky tomu, mají i početnější mikroflóru, která je složena s acidotolerantních druhů laktobacilů (Geigerová et al., 2014). Vyskytuje se zde také podmíněný patogen *Helicobacter pylori*, který se nachází hluboko ve sliznici žaludku. Dříve byl považován za původce gastroduodenálních vředů a nádorů nejen u lidí, ale i zvířat, jako jsou psi, prasata, ovce a skot. V posledních letech byla, tato problematika *H. pylori* zpochybněna (Anonym 1; Geigerová et al., 2014). V bachoru u přežvýkavců se počet bakterií (*Bacteroides*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Tenericutes*) odhaduje na 10^{10-11} CFU. Dále se zde nachází prvoci $10^5 - 6$ CFU, kvasinky, fágy a anaerobní houby. Zastoupení bakterií v bachoru se značně liší mezi jednotlivými jedinci přežvýkavců (*Bacteroidetes* 26 – 70 %). Zásadní je přítomnost bakterií, které napomáhají štěpení celulózy, mezi nejvýznamnější patří *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* (Geigerová et al., 2014). Na rozkladu vlákniny se podílejí i bakterie *Prevotella sp.* a *Butyrivibrio fibrisolvens*. Tyto bakterie mají většinou i pektinolytickou aktivitu. Zásobní polysacharidy jako je škrob rozkládá například *Streptococcus bovis*. V bachoru se pravidelně vyskytují i metanové bakterie (*Methanomicrobium*, *Methanobrevibacter*, *Methanobacterium*), které z oxidu uhličitého a vodíku tvoří metan (Rada, 2011).

Tenké střevo

V tenkém střevě převládají laktobacily, koliformní bakterie, streptokoky, bifidobakterie a fusobakterie (Švestka, 2007). Z laktobacilů mají zdravotně pozitivní význam hlavně *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus* a *L. casei*, které příznivě

působí na probíhající kvasné procesy spolu s enterokoky (**Anonym1**). **Juránková et al. (2008)** uvádí, že normální koncentrace bakterií v tenkém střevě je 10^{3-4} CFU, avšak **Geigerová et al. (2014)** udává počet 10^{8-12} CFU.

Lačník a kyčelník

V lačníku převládají aeroby a grampozitivní bakterie, ale nacházejí se zde i koliformní bakterie a anaeroby (častěji než v žaludku). V orální části kyčelníku se vyskytují dle **Laty a Juránkové (2011)** v malém množství enterobakterie, a to v koncentraci 10^{2-5} CFU, avšak **McFarland (2000)** uvádí 10^{11-12} CFU. V distální části kyčelníku začínají převládat gramnegativní mikroorganismy nad grampozitivními. Běžně se zde vyskytují koliformní bakterie, z anaerobů bakteroidy, bifidobakterie, fusobakterie a klostridia (**Lata a Juránková, 2011**).

Tlusté střevo a konečník

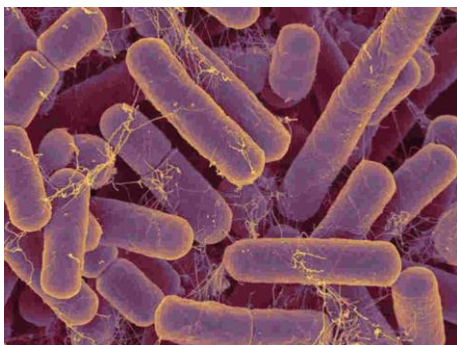
V tlustém střevě se nachází kolem 400 druhů bakterií, z nichž jen 60 % je možno zachytit kultivací. Střevní mikroflóra se skládá z 10^{11} mikroorganismů (**Anonym 1**). Nachází se zde bakteroidy, bifidobakterie, streptokoky, eubakterie, fusobakterie, koliformní bakterie, klostridia, veilonely, laktobacily, proteus, stafylokoky, pseudomonády a kvasinky (**Švestka, 2007**).

Rody bakterií střevní mikroflóry

Rod *Bacteroides*

Rod *Bacteroides* představuje gramnegativní tyčinky se zaoblenými konci rozmanité velikosti, jsou nepohyblivé, nesporující, anaerobní a chemoorganotrofní (**Sedláček, 2007**). Rozeznáváme dvě skupiny bakteroidů *Bacteroides melaninogenicus* a *Bacteroides fragilis*, jejichž druhy se nacházejí právě v trávicím traktu, ženském genitálu a také v dutině ústní (**Bednář et al., 1994**). Druhy patřící do skupiny *B. fragilis*, nacházející se v trávicím traktu jsou *B. fragilis* (**Obr. 1**), *B. thetaoitaomicron*, *B. caccae*, *B. ovatus* a další (**Votava et al., 2003**)

Obrázek 1: *Bacteroides fragilis*



Zdroj: Anonym 2

Rod *Bifidobacterium*

Rod *Bifidobacterie* představují anaerobní grampozitivní, nesporulující tyčinky, větvičích se na svém konci do tvaru Y (**Bednář et al., 1994**). Patří do běžné flóry dutiny ústní, zažívacího traktu zvířat, lidí a běžně se vyskytují v trávicím traktu včel, jako u jediného druhu hmyzu (**Votava et al., 2003; Rada, 2009**). Vysoké počty bifidobakterií jsou typické především pro mláďata sající mléko, kde tvoří více než 95 % střevní mikroflóry. U dospělých jedinců klesá jejich podíl asi na 25 %. Druhy *B. magnum*, *B. cunuli* a *B. saeculare* byly nalezeny pouze v trávicím traktu králíků (**Geigerová et al., 2014**). Bifidobakterie vytváří hlavně vitamíny skupiny B, digestivní enzymy, silné kyseliny (acetát, laktát), které snižují pH okolního prostředí, což zajišťuje jejich antimikrobiální efekt (**Mazánková a Kotásková, 2011; Bunešová et al., 2015**).

Rod *Clostridium*

Rod *Clostridium* představuje grampozitivní, sporulující tyčinky rostoucí za anaerobních podmínek. Tyto mikroorganismy se nacházejí v trávicím traktu a jsou schopné tvořit enzymy, které napomáhají trávit složité látky ve střevech (proteiny, sacharidy, mastné kyseliny atd.) (**Bednář et al., 1994**). Do rodu patří *Cl. botulinum*, který je komenzálem střevního ústrojí zvířat, především ryb. U kojenců kolonizace střeva tímto druhem, může vést k závažné intoxikaci botulotoxinem, k níž dochází relativně často (**Anonym 9**). Dalším zajímavým druhem vyskytujícím se v trávicím traktu koní, ale i člověka, je *Cl. tetani*. Bakterie přítomná ve výkalech kontaminuje vnější prostředí a v případě poranění může vést k rozvoji závažného onemocnění,

vyvolaného neurotoxiny. Spory jsou navíc extrémně odolné a mohou zůstat životaschopné i po staletí (Bednář et al., 1996; Votava et al., 2003).

Čeleď *Enterobacteriaceae*

Čeleď *Enterobacteriaceae* je součástí normální mikroflóry ve střevech člověka, zvířat i hmyzu. Enterobakterie jsou vysoce odolné vůči zevním podmínkám (vyšší teplotě, pH a působení žluči) a značně rezistentní k antibiotikům. Čeleď představuje gramnegativní nesporulující fakultativně anaerobní tyčinkovité bakterie a zahrnuje zhruba 28 rodů. (Bednář et al., 1996). Nejznámějším rodem je rod *Escherichia*. Typovým druhem je *Escherichia coli* (Obr. 2), který je běžný komenzál tlustého střeva a distální části kyčelníku lidí a zvířat. Jedinec je kolonizován takřka okamžitě po narození, alimentární cestou nebo přenosem již od osídleného jedince. Jedná se o fakultativní anaerobní bakterii, která je schopna odčerpávat ze střeva přebytečný kyslík a tím umožňuje striktním anaerobům osidlovat střevní trakt. Podílí se také na tvorbě různých vitamínů, např. B₁₂, K₁ a K₂. Kromě příznivých vlivů na zdraví hostitele, může mít také oportunně patogenní vlastnosti, přičemž je jedním z nejčastějších původců bakteriálních průjmů. Kvůli značné variabilitě, kterou můžeme u patogenních kmenů druhu *E. coli* pozorovat, byly rozčleněny do několika skupin podle klinických příznaků, způsobu adheze i faktorů virulence (Votava et al., 2003). Kromě rodu *Escherichia* jsou ve střevě přítomné i další rody čeledi *Enterobacteriaceae* např. *Shigella*, *Yersinia*, *Klebsiella* aj. (Bednář et al., 1996) **Obrázek 2.** *Escherichia coli*



Zdroj: Brandenburg, 2014

Rod *Eubacterium*

Eubacterium je rod anaerobních grampozitivních nesporulujících tyčinek. Je popsáno mnoho druhů, např. *Eubacterium lentum*, *Eubacterium tortuosum* (Bednář et al., 1994; Votava et al., 2003).

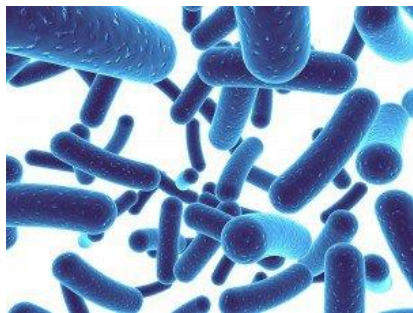
Rod *Fusobacterium*

Rod *Fusobacterium* jsou pleomorfní anaerobní gramnegativní tyčinky, které jsou součástí slizniční flóry horních cest dýchacích a střeva (Bednář et al., 1996). Jejich buňky mívají podobu vláken, uprostřed zduřelé a jejichž konce bývají zašpičatělé. Hlavním produktem jejich metabolismu je kyselina máselná. Do tohoto rodu patří *Fusobacterium nucleatum*, *F. mortiferum*, *F. necrophorum* (Votava et al., 2003).

Rod *Lactobacillus*

Rod *Lactobacillus* zahrnuje grampozitivní tyčinky různé délky, pouze zřídka pohyblivé a nesporulující. Většina z nich je fakultativně anaerobní, některé mikroaerofilní. Tyčinky jsou uspořádány v palisádách nebo krátkých řetězcích. Jsou chemoorganotrofní, vyžadují bohatá komplexní média, jejich metabolismus je fermentační (Sedláček, 2007). Jsou schopné přilnout k receptorům obsahující manózu a zejména *L. plantarum* má nespornou výhodu přežít v ústní dutině (McFarland, 2000). Dále osidlují GIT ptáků, savců a lidí. Nachází se zejména v proximální části tenkého střeva, nejvíce jsou pak zastoupeny v kyčelníku. Patogenní jsou jen velmi vzácně (Bednář et al., 1994). Jedná se zejména o druhy *L. acidophilus* (Obr. 3), *L. bulgaricus* (Votava et al., 2003), produkující peroxid vodíku, který snižuje intraluminální pH. *L. reuterii* produkuje bakteriocin (reuterin), který je významný svým antimikrobiálním působením (McFarland, 2000; Mazánková a Kotásková, 2011).

Obrázek 3. *Lactobacillus acidophilus*



Zdroj: Anonym 3

Rod *Peptococcus*

Rod *Peptococcus* jsou grampozitivní anaerobní koky (Bednář et al., 1994). Jejich hlavním zdrojem energie jsou peptidy nebo sacharidy vzniklé fermentací. Jsou obzvláště citlivé k antibiotikům užívaných při léčbě anaerobních infekcí. (Votava et al., 2003). Uvádí se jediný druh a to *Peptococcus niger*. Byl izolován u lidí z dýchacího a močopohlavního systému, ze střev a dutiny ústní (Bednář et al., 1996).

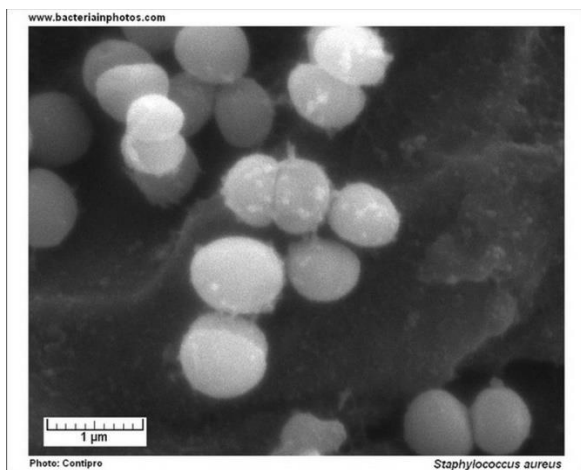
Rod *Peptostreptococcus*

Rod *Peptostreptococcus* jsou grampozitivní anaerobní koky (Bednář et al., 1996). Rod zahrnuje druhy *P. magnus*, *P. anaerobius*, *P. asaccharolyticus*, *P. micros* a další. Nachází se v GIT, pokud se střevní obsah dostane do dutiny břišní, mohou se peptostreptokoky spolu s dalšími mikroby střevní mikroflóry podílet na vzniku peritonitidy, popřípadě i vzniku abscesů (Votava et al., 2003).

Rod *Staphylococcus*

Stafylokoky jsou grampozitivní, fakultativně aerobní koky. Na rozdíl od ostatních mikrobů dovedou růst i v přítomnosti 10% NaCl (Votava et al., 2003). Stafylokoky patří mezi všudypřítomné bakterie. Jejich výskyt je primárně svázán s kůží a sliznicemi teplokrevných obratlovců. Dále jsou často izolovány z různých potravin živočišného původu (maso, mléko, sýr) a z různých zdrojů v prostředí jako je půda, voda, písek a prach. Nejvýznamnější jsou *Staphylococcus aureus* (Obr. 4) a *S. epidermidis* (Sedláček, 2007).

Obrázek 4. *Staphylococcus aureus*



Zdroj: Anonym 4

Rod *Streptococcus*

Rod *Streptococcus* zahrnuje grampozitivní, fakultativně anaerobní a nesporulující koky (Votava et al., 2003). Streptokoky jsou komenzály nebo parazity obratlovců. Čtyřicet, ze současně známých druhů Streptokoků, se vyskytuje hlavně na povrchu sliznic člověka (mandle zdravých dětí) a zvířat, v horních cestách dýchacích, v GIT některé se však nacházejí v půdě, mléčných výrobcích, jiných potravinách a také na rostlinách. Některé druhy jsou vysoce patogenní pro člověka a zvířata. Druhově nejpočetnější je skupina orálních streptokoků (McFarland, 2000; Sedláček, 2007). V poslední době se streptokoky dělí na beta-hemolytické a non beta-hemolytické (Votava et al., 2003). Patří sem především: *S. mutans*, *S. iniae*, *S. porcinus*, *S. canis*, *S. equi* (Obr. 5), *S. zoopidemicus*, *S. pneumoniae*.

Obrázek 5. *Streptococcus equi*



Zdroj: Anonym 4

2.2.4 Faktory ovlivňující složení střevní mikroflóry

Složení střevní mikroflóry se reguluje už pomocí slin (obsahující lysozym), žaludeční kyselinou (pH), žlučí (nekonjugované žlučové kyseliny), pankreatickou šťávou (lipáza) a také střevní motilitou (Juránková et al., 2008). Podle Laty a Juránkové (2011) je též důležitá regenerace buněk střevní sliznice. Střevní mikroflóra má vlastní regulační schopnosti, která brání pronikat nežádoucím organismům a látkám, inhibuje patogenní mikroflóru baktericidním působením mastných kyselin s krátkým řetězcem (Juránková et al., 2008). Vedle těchto neimunologických obranných mechanismů existuje buněčný a humorální imunitní obranný mechanismus (Verhoef - Verhage et al., 1996).

Faktory ovlivňující střevní mikroflóru se dělí na fyziologické, vnější a iatrogenní. Mezi fyziologické faktory patří primární kolonizace střeva mikroflórou a stáří organismu. Vnější faktory zahrnují vliv stravy, stres. Mezi iatrogenní faktory patří vliv nemoci na organismus a aplikace léčebných preparátů (**Juránková et al., 2008**).

Fyziologické faktory. Věkem dochází k poklesu sekrece slin, polykání je méně časté a je snížena obnova slizničních buněk. Tak dochází snadněji ke kolonizaci gramnegativními bakteriemi, jako jsou enterobakterie a pseudomonády, zvyšující riziko vzniku nemocničních nákaz. Věkem také klesá počet střevních bifidobakterií. Tyto změny mohou být sekundární při zhoršeném zdravotním stavu a při častější atrofické gastritidě ve stáří, stejně tak jako snížená imunologická tolerance a zpomalená buněčná regenerace (**Frič, 2005; Verhoef -Verhage et al., 1996**). **McFarland (2000)** uvádí, že u novorozenců dochází k osídlení střeva mikroby během přirozeného porodu vlivem mateřské vaginální mikroflóry. Naopak u novorozenců narozených císařským řezem dochází k osídlení mikroby z nemocničního prostředí (dětského pokoje).

Vnější faktory

Zahrnují výživu, medikamentózní léčbu, zevní prostředí a stres. Změny ve stravování, léky a antibiotika přímo ovlivňují střevní mikroflóru (**Juránková et al., 2008**). **Nevoral (2005)** uvádí, že u novorozenců, kteří jsou kojeni pouze mateřským mlékem, je intestinální flóra složena z laktobacilů a bifidobakterií. Chybí fakultativně anaerobní *E. coli* a anaerobní *Bacteroides fragilis* a *Clostridium* ssp. Při léčbě antibiotiky může dojít ke kolitidě, která je vyvolaná bakterií *Clostridium difficile* (**Lata a Juránková, 2011**). Střevní mikroflóru ovlivňuje také stres, bylo to prokázáno experimentem prováděným na zvířatech, která byla vystavena nízkým teplotám nebo delšímu hladovění, a také u lidí při pobytu ve vesmíru a při velké fyzické zátěži. Při stresu byl popsán pokles laktobacilů (**Juránková et al., 2008**).

Iatrogenní faktory. Nemoc a s ní spojená léčba může vážně ovlivnit střevní ekosystém (například různé typy syndromů nebo dlouhodobé radioterapie hlavy a krku, snížená produkce žaludeční kyseliny, po chirurgických výkonech). Za těchto okolností dochází často k nárůstu koliformních a obligátně patogenních mikrobů a ke zvýšenému riziku vzniku infekcí (**Juránková et al., 2008**). Časté jsou infekce

žlučových cest. K bakteriálnímu přerůstání dochází při poškození sekrece žluči a pankreatické šťávy, v případech porušené části gastrointestinálního traktu. Změny mohou působit také podávané medikamenty, neboť zcela zlikvidují přirozenou mikroflóru, zejména anaeroby. Také radioterapie, chemoterapie obecně ničí buňky střevní sliznice. U imunodeficitních stavů chybějí buněčné i humorální obranné mechanismy, ačkoli v některých případech neimunologické mechanismy zvládnou udržet rovnováhu v osídlení střeva dlouhou dobu, mohou tyto abnormality vést k významné střevní změně a kolonizaci střeva patogenními mikroorganismy (**Lata a Juránková, 2011**).

2.3 Probiotika

Slovo probiotikum pochází z řeckého pro bios (= pro život) a používá se pro živé mikroorganismy (převážně bakterie mléčného kvašení) (**Rudolfová a Čurda, 2005**). Termín „probiotikum“ poprvé použili Stillwell a Lilly v roce 1965 (**Sýkora et al., 2006**). Probiotika jsou mono- nebo směsné kultury živých organismů, které po aplikaci prospěšně ovlivňují hostitele zlepšením vlastností jeho vlastní mikroflóry (**Nevoral, 2005**).

2.3.1 Historie a význam probiotik

Některé potraviny obsahující živé mikroorganismy (např. fermentované mléko) jsou známy již mnoho století. O jejich využití v léčbě různých onemocnění se zmiňovaly již biblické texty. Uznávaní vědci, jako byl Hippokrates a mnoho dalších, nepovažovali kysané mléko jen za potravinu, ale i za lék (**Lourens-Hattingh et al., 2001**). Němečtí autoři velice často za první popis probiotik uvádějí práci Döderleinovu, který v roce 1892 navrhl vaginální bakterie produkující kyselinu mléčnou k inhibici růstu patogenních mikroorganismů (**Lata et al., 2007**). Větší vědecký zájem v této oblasti nastal až v roce 1908 po zveřejnění knihy „Prodloužení života“ od Ilji Mečnikova. Ten ve svém díle naznačil, že by lidé konzumací fermentovaného mléka s obsahem laktobacilů mohli prodloužit svůj život (**Elmer et al., 2007**). Tuto hypotézu podložil dlouhověkostí bulharských rolníků, kteří konzumovali fermentované mléko skutečně ve velkém množství (**Gibson a Fuller, 2000**). Někteří autoři jdou ještě dále do historie, a jako jednoho ze zakladatelů probiotik uvádějí Henryho Tissiera, který v roce 1899 poprvé izoloval bifidobakterie (dnes asi nejpoužívanější probiotické bakterie) ze stolice kojenců.

Významnou osobností byl také Alfréd Nissle, který izoloval v roce 1916 nepatogenní *Escherichia coli* ze stolice vojáka, který jako jediný odolával infekci úplavice během první světové války. Tento kmen je zajímavý tím, že se jako probiotikum pro prevenci střevních infekčních onemocnění používá dodnes (**Rada, 2008**). Do dnešní doby se vědci zabírají souvislostmi mléčných bakterií a zdravím člověka i zvířat (**Suvarna et al., 2005**).

Hlavní význam probiotik spočívá v jejich preventivních účincích. Hrají zásadní úlohu pro zdravý vývoj organismu již od narození. Savci dostávají probiotika prostřednictvím mateřského mléka. Bylo zjištěno, že podávání probiotik mláďatům snižuje riziko alergií, infekcí, výskyt průjmů, zvířata lépe přibývají na hmotnosti, budují si požadovaný tělesný rámec a imunitní systém má větší klid ke svému dozrávání (**Krejčí et al., 2013; Mráz a Chr. Hansen, 2015**).

Probiotika také napomáhají udržovat rovnováhu střevní mikroflóry a kompetitivně brání patogenním organismům v adhezi na střevní epitel, snižují riziko pomnožení patogenních bakterií a vzniku onemocnění (**Tab. 2**). Také tvoří řadu bakteriocidních a bakteriostatických látek, čímž brání osídlení střeva nežádoucími organismy. Pro samotný epitel hrají nezastupitelnou roli, neboť pro něj vytváří mnoho výživových látek (krátké mastné kyseliny, aminokyseliny, peptidy) (**Krejčí et al., 2013**).

Tabulka 2 Prokázané účinky probiotik

Popsané účinky	Probiotické mikroorganismy
Posílení imunitního systému	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. rhamnosus</i>
Úprava střevní mikroflóry a nastolení rovnováhy	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>
Snížení tvorby karcinogenů (enzymy)	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. delbrueckii</i>
Protinádorové účinky	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casein</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. adolescentis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i>
Prevence průjmových onemocnění	<i>Saccharomyces spp.</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i>
Zácpa (méně než 3 stolice týdně)	<i>Escherichia coli</i> Nissle a <i>L. casei</i> Shirota

Zdroj: Rada, 2011; Mráz a Chr. Hansen, 2015

2.3.2 Požadavky na probiotika

Probiotické přípravky, respektive mikroorganismy v nich obsažené, musí vedle prokázaného pozitivního vlivu na zdravotní stav člověka splňovat i některá další kritéria, která jsou rozdělena do tří skupin (**Tab. 3**) (Nevoral, 2005).

Tabulka 3 Požadavky na probiotika

Prospěšnost pro zdraví	Mikrobiologické bezpečnostní požadavky	Průmyslové parametry
Schopnost kolonizace a adherence (přilnavosti)	Možnost přesného taxonomického zařazení	Stabilita žádaných vlastností během výroby, transportu a skladování
Antagonistický vliv na patogenní mikroflóru	Humánní původ	Příznivé organoleptické vlastnosti
Schopnost tvorby antimikrobiálních substancí	Netoxické a nepatogenní	Probiotický preparát musí obsahovat dostatečně velké množství životaschopných buněk (Collins et al., 1999)
Schopnost imunomodulace (schopnost upravovat imunitní systém)	Geneticky stabilní	
Měřitelná a klinicky dokumentovatelná užitečnost pro zdraví příjemce	Schopnost přežít, růst a být metabolicky aktivní v trávicím ústrojí příjemce	
	Potencionálně resistantní proti antimikrobiálním substancím původní mikroflóry příjemce	
	Resistentní proti žaludeční (bachorové) kyselině a žlučovým kyselinám	

Zdroj: upraveno dle Nevorala, 2005

2.3.3 Mikroorganismy používané jako probiotika

Mikroorganismy používané jako probiotika jsou humánního původu, s jedinou výjimkou kvasinky *Saccharomyces boulardii*. Nejčastější používaná protiotika jsou uvedena v **tabulce 4** (Mazánková a Kotásková, 2011).

Tabulka 4 Nejčastěji používané probiotické mikroorganismy

Bakterie mléčného kvašení	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
	<i>L. casei</i>
	<i>L.delbrueckii sp. bulgaricus</i>
	<i>L. rhamnosus</i>
	<i>L.reuteri</i>
	<i>L.plantarum</i>
	<i>L.fermentum</i>
	<i>L.brevis</i>
	<i>L.helveticus</i>
	<i>Streptococcus thermophilus</i>
	<i>Lactococcus lactis</i>
	<i>Enterococcus faecium</i>
	<i>E.faecalis</i>
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	
Bifidobakterie	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
	<i>B. pseudolongum</i>
	<i>B. breve</i>
	<i>B. thermophilum</i>
Ostatní bakterie	<i>Bacillus subtilis</i>
	<i>B.cereus</i>
	<i>B. toyoi</i>
	<i>B.natto</i>
	<i>B. mesentericus</i>
	<i>B. licheniformis</i>
Mikroskopické houby	<i>Clostridium butyricum</i>
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	<i>Aspergillus oryzae</i>
	<i>Candida pintolopesii</i>

Zdroj: upraveno dle Fuller, 1989; Voříšek, 1989; Ouwehand et al., 2002; Nevoral,

2005

Rod *Bifidobacterium*

Bifidobakterie jsou bakterie izolované z trávicího traktu. Tento rod se běžně vyskytuje v tlustém střevě lidí, v bачoru zvířat a u včel ve výkalovém vaku (Scardovi, 1989; Rada a Petr, 2002). U lidí převažují druhy *B. longum*, *B. bifidum*, *B. breve* a *B. adolescentis*, zatímco ze zvířat bývá často izolován druh *B. animalis*, který se pro dobré technologické vlastnosti používá i do mléčných kysaných výrobků (Vlková et al., 2004). Bifidobakterie jsou téměř ideální probiotické bakterie, protože jsou v podstatě nepatogenní (Mitsuoka, 1992). Jejich jediný problém je jejich citlivost na vnější podmínky, neboť se jedná o striktně anaerobní bakterie (Scardovi, 1989). V současné době rozeznáváme 38 druhů v rámci tohoto rodu

a pro své probiotické vlastnosti je využíváno 6 druhů (**Mazánková a Kotásková, 2011**).

Rod *Lactobacillus*

Prvním použitým probiotikem z tohoto rodu byl *Lactobacillus* GG, a to kvůli svým pozitivním vlastnostem, zejména jeho rezistenci vůči žaludeční kyselině a žluči, stejně jako pro jeho kvalitní schopnost kolonizovat lidské tlusté střevo a díky chybějícím plazmidům je trvale rezistentní antibiotikům (**Mazánková a Kotásková, 2011**). V současné době je již popsáno okolo 128 druhů rodu *Lactobacillus*, ovšem pouze některé z nich jsou v klinické praxi využívány pro své probiotické vlastnosti. Co se týče bezpečnosti, jsou považovány za bezpečné, s výjimkou *Lactobacillus rhamnosus*, jehož aplikace u imunokompromitovaných osob je diskutabilní (**Gibson a Fuller, 2000; Krejsek et al., 2007**)

Saccharomyces cerevisiae

Kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* (synonymum k názvu *Saccharomyces boulardii*) je nepatogenní izolát. Poprvé byla izolovaná v roce 1920 vědcem Henri Boulardem. Bylo zjištěno, že tato kvasinka inhibuje růst patogenních mikroorganismů *in vitro* a taky *in vivo* (**Nevoral, 2005; Mazánková a Kotásková, 2011**). Velkou výhodou této kvasinky je, že je rezistentní v trávicím ústrojí a dostává se tedy v životaschopném stavu až do tračnicku, proto se zařazuje do krmné dávky telat při přechodu na objemová krmiva nebo do krmné dávky již dospělých přežvýkavců (**Mazánková a Kotásková, 2011; Vlková et al., 2013**). Používá se zejména pro zlepšení celulólytické aktivity a navíc není ovlivňována antibiotiky (**Vlková et al., 2013**). Její nevýhodou však je, že pokud se vyřadí z krmné dávky, velmi rychle mizí z trávicího traktu (**Gibson a Fuller, 2000**).

Enterococcus faecium

Enterococcus faecium je velmi významná bakterie mléčného kvašení. Bakterie tohoto rodu jsou běžnou součástí potravin, buď jako přirozená součást rostlinné stravy, nebo jako zdroj kontaminace (**Gibson a Fuller, 2000**). Používáním těchto bakterií došlo ke snížení průjmových onemocnění, snížení výskytu akné a používá se k prevenci cestovatelských průjmů (**McFarland, 2000; Mazánková a Kotásková, 2011**).

Lactococcus lactis

Posledním rodem bakterií mléčného kvašení s probiotickými vlastnostmi je rod *Lactococcus*. Poprvé byl tento rod popsán v roce 1878 Josephem Listerem (**Mazánková a Kotásková, 2011**). Do rodu *Lactococcus* se v dnešní době řadí bakterie *L. lactis*, *L. garviae*, *L. piscium*, *L. plantarum*, *L. raffinolactis*. Nejvíce se používá jako probiotikum *L. lactis*, který se používá jako tzv. spouštěč fermentačních procesů (**Krejsek et al., 2007**).

Probiotický kmen *Escherichia coli* (Nissle 1917)

Roku 1917 informoval Alfred Nissle o objevu nového kmene *Escherichia coli*, který nevykazuje patogenní vlastnosti a je schopen potlačovat růst enterobakterií i jiných mikrobů a vytvářet bariéru proti patogenním kmenům (**Lukáš, 2003**). Bakterie byla označena jménem svého objevitele a rokem, kdy byly popsány její vlastnosti. V současnosti je druh *Escherichia coli* kmen Nissle 1917 jedna z nejlépe popsaných probiotických bakterií (**Altenhoefer et al., 2004**). Napomáhá k zlepšení funkce epiteliální bariéry střeva, pokud je narušena. To je umožněno díky schopnosti mikroorganismu produkovat defenziny epiteliálních buněk, které mají tzv. „pečetíci efekt“ na těsná spojení u enterocytů (tato schopnost byla experimentálně prověřena na myších) (**Sonnenborn a Schulze, 2009**). *E. coli* Nissle 1917 se také úspěšně využívá k léčbě nejrůznějších trávicích obtíží, např. chronické zácpy, Crohnovy nemoci nebo pouchitidy (**Buenau et al., 2005**). Vedle toho také zabraňuje kolonizaci střeva patogeny u novorozenců. *E. coli* Nissle 1917 napomáhá i rozvoji střevního imunitního systému, což bylo pozorováno u zvířecích modelů a lidských novorozenců. Zdá se, že některé produkty metabolismu *E. coli* Nissle 1917, pravděpodobně kyselina octová, zvyšují střevní motilitu, což napomáhá lidem trpícím chronickou zácpou (**Sonnenborn a Schulze, 2009**).

Probiotické mikroorganismy se obvykle používají v kombinacích dva a více mikrobiálních druhů (až několik desítek) (**Rada, 2005**). Jednodenním kuřatům se podává, jako probiotický preparát, nedefinovaný střevní obsah (většinou obsah slepých střev) zdravých, dospělých zvířat, nebo u dospělých přežvýkavců je výhodnější použít vícedruhové preparáty, protože kombinace více kmenů je mnohem efektivnější (lepší kolonizační schopnost mikroorganismů). Často se také používají kombinace probiotik s enzymy, peptidy, vitamíny a elektrolyty (**Rada, 2005; Vlková et al., 2013**). Nejčastěji používané probiotické preparáty jsou uvedeny v **tabulce 5**.

Tabulka 5 Vybrané probiotické preparáty dostupné v ČR

Kategorie zvířat	Název	Probiotický mikroorganismus
Drůbež, prasata, skot	LBS ME 10	<i>Enterococcus faecium</i>
Drůbež, prasata, skot	Toyocerin	<i>Bacillus toyoi</i>
Selata, prasata	Ergomyces	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Skot, prasata, drůbež	Yea – Sacc	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Dojnice, skot, králíci	Levucell SC 20	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Prasata (prasnice, selata, výkrmová prasata a telata)	BioPlus YC	<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus subtilis</i>
Drůbež (brojleři, krůty)	GalliPro	<i>Bacillus subtilis</i>
Prasata, telata, drůbež a králíci	Lactiferm WS	<i>Enterococcus faecium</i>
Drůbež, koza, králíci, skot, kůň, lesní zvěř, ovce, prasata, ryby (sladkovodní)	Lactiferm Basic	<i>Enterococcus faecium</i>
Telata	Kolostran, Rehymed, Imuguard forte	<i>Enterococcus faecium</i>
Štěňata, kořata, březí a laktující feny a kočky	Probian	<i>Enterococcus faecium</i>
Koně	Dromy Gastroline	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Zdroj: upraveno dle Rady, 2005; Anonym 5, Anonym 6, Anonym 7

2.3.4 Dávkování probiotik

Při volbě způsobu aplikace u zvířat je třeba přihlížet k mnoha faktorům, jako je věk, druh, způsob krmení a ustájení (Rada, 2005). Velice důležitým bodem pro účinnost probiotik je jejich množství (Tab. 6) v dané potravíně (krmivu), či preparátu obsahujícím probiotické bakterie. Významným aspektem je, zda se bude používat probiotikum k léčbě nebo k prevenci. Podle toho se také liší dávkování. Probiotický preparát musí obsahovat určité minimální množství CFU na dávku. Sýkora et al. (2006) udává minimální denní dávku probiotických bakterií 10^6 - 10^9 CFU pro terapeutické účely, ale Frič (2008) uvádí minimální denní dávku 10^8 – 10^{10} CFU, Mego (2005) zase uvádí 10^{10} – 10^{11} CFU. Probiotika obsahující živé mikroby mají kratší expirační dobu než ostatní léčiva a mají být uchovávána při teplotě do +80 °C. Preparáty s vyšší dávkou probiotik byly doprovázeny lepší klinickou účinností. Nejsou ale údaje o tom, že by vyšší dávky byly méně bezpečné. Dávky *S. boulardii* se ve většině studií pohybovaly v rozmezí 250 – 500 mg/den (Mazánková a Kotásková, 2011). Bylo však prokázáno, že přípravky s obsahem

probiotických bakterií 10^6 a menším nemají prakticky žádný klinický význam. Aplikace preparátů probíhá několika následujícími způsoby (**Rada, 2005**):

- lyofilizovaný prášek - v pitné vodě
- ve formě pasty
- aerosol
- tobolky, roztoky nebo součást potravy (**Mazánková a Kotásková, 2011**).

Nejčastěji se používají lyofilizované prášky, jejichž obvyklá dávka je 0,1-1 kg na 1 tunu krmné směsi (**Rada, 2005**). Vyskytují se i krmné směsi doplněné o probiotika, které ale nelze granulovat, přípravky se proto nastříkují na povrch vychlazených granulí (**Zelenka, 2015**).

Tabulka 6 Dávkování některých probiotických preparátů dostupných v ČR

Název preparátu	Kategorie zvířat	Dávkování krmiva (g/t)
Toyocerin	Telata	100
	Selata	50 – 100
	Brojleři	50
Yea – Sacc	Dojnice	1000
	Telata	1000
	Selata	2000
Levecull SC 20	Skot	50
	Koně, ovce	50
	Králíci	50
Dromy Gastroline	Koně	75g/500 – 600 kg
Lactiferm Basic	Drůbež, koza, králíci, skot, kůň, lesní zvěř, ovce, prasata, ryby (sladkovodní)	1000 - 2000

Zdroj: upraveno dle Rady, 2005; Anonym 6; Anonym 7

2.3.5 Mechanismus účinku probiotik

Probiotické bakterie jsou antimikrobiálně a antikarcinogenně aktivní. Produkuje substance, kterými mohou inhibičně působit na grampozitivní i gramnegativní bakterie. Mezi tyto inhibiční substance patří organické kyseliny (mléčná a octová), peroxid vodíku a bakteriociny. Snižují počet životaschopných buněk, ovlivňují metabolismus bakterií a produkci jejich toxinů (**Maxa a Rada, 1996; Nevorál, 2005**). Některá probiotika mají schopnost degradovat receptory pro toxiny na střevní sliznici. Pro preventivní a terapeutické použití probiotik je důležitá jejich schopnost stimulovat specifickou i nespecifickou imunitu (**Nevorál, 2005**). V praxi

hospodářských zvířat mohou být podávány za účelem zlepšení užitkovosti i zdravotního stavu chovaných zvířat (**Fuller, 1989**). Jako možné účinky probiotik uvádí **Rada (2005)**:

- větší odolnost proti infekčním onemocněním
- zvýšení růstových vlastností
- zlepšení konverze krmiv
- lepší trávení potravy - lepší vstřebávání živin
- poskytnutí esenciálních živin
- zvýšení produkce a kvality mléka
- zvýšení produkce a kvality vajec - zvýšení kvality jatečně opracovaného masa
- snížení množství hnilobných mikrobů a účinnost enzymů, jež produkují karcinogenní látky v trávicím traktu (**Maxa a Rada, 1996**)
- redukovat množství cholesterolu v krevním řečišti (**Kalač, 2003**)

3 ZÁVĚR

Mikroflóra trávicího traktu je složitý ekosystém, který je ovlivněn mnoha faktory, jako jsou věk, podmínky vnějšího prostředí nebo výživa. Díky symbiotickým mikroorganismům mají střevní buňky dostatek živin a střevní imunitní systém množství stimulů, pomocí kterých se může vyvíjet a zrát. Mikroorganismy produkují důležité vitaminy a svou přítomností, stejně jako některými produkty, inhibují růst patogenních mikroorganismů. Probiotika jsou přesně definované živé mikroorganismy, které příznivě ovlivňují střevní mikroflóru hostitele a mají pozitivní účinky na zdraví jedince. Bylo prokázáno, že při zařazení probiotik do krmné dávky zvířat dochází k nižšímu výskytu průjemových onemocnění, čímž je pozitivně ovlivněna produkční schopnost hospodářských zvířat. Vzhledem k tomu, že pozornost je zaměřená na fyziologickou a obrannou roli střevní mikroflóry a její modulaci, lze očekávat, že intenzivní výzkum této oblasti teprve v budoucnu přinese řadu nových a zásadních poznatků.

4 SEZNAM LITERATURY

1. Altenhoefer, A., Oswald, S., Sonnenborn, U., Enders, C., Schulze, J., Hacker, J., Oelschlaeger, T. A.: The probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 interferes with invasion of human intestinal epithelial cells by different enteroinvasive bacterial pathogens. *Medicine microbiology*, 2004, 40: 223-229 .
2. Bednář, M., Souček, A., Vávra, J.: *Lékařská speciální mikrobiologie a parazitologie*. Praha: Triton, 1994. 226 s. ISBN 80 – 901521 – 4- 7.
3. Bednář, M., Fraňková, V., Schindler, J., Souček, A., Vávra, J.: *Lékařská mikrobiologie (Bakteriologie, Virologie, Parazitologie)*. 1. vyd. Praha: Marvil, 1996. 558 s. ISBN -10: 80-2380-297-6.
4. Buenau, R., Jeakel, L., Shubotz, E., Schwarz, S., Stroff, T., Krueger, M.: *Escherichia coli* Strain Nissle 1917: Significant Reduction of Neonatal Calf Diarrhea. *Journal dairy science*, 2005, 88: 317 – 323.
5. Bunešová, V., Geigerová, M., Vlková, E.: Bifidobakterie jako možná probiotika pro mláďata přežvýkavců. *Veterinářství*, 2015, 65 (7): 528 – 532.
6. Collins, L., S., Aquilera, O., Borne, P., F., Cairns, S., D.: A paleoenvironmental analysis of the Neogene of Caribbean Panama and Costa Rica using several Phyla. *Florida International University*, 1999: 81 – 87.
7. Elmer, G. W., McFarland, L. V., McFarland, M.: The Power of Probiotics: Improving Your Health with Beneficial Microbes. *The Haworth Press*, 2007 236 s. ISBN: 07890-2901-4.
8. Fixa, B., Komárková, O.: Mikroflóra trávicího ústrojí za fyziologických a některých patologických podmínek. *Aktuality v gastroenterologii*, 1994: 57-82.
9. Frič, P.: Probiotika a prebiotika . Renesance terapeutického principu. *Postgraduální medicína*, 2005; 7 (5): 472-477, 588-591.
10. Frič, P.: Terapie probiotiky – jaká je a jaká by měla být. *Medical Tribune*, 2008, 33: 1 – 2.
11. Frič, P.: Střevní mikroflóra, gastrointestinální ekosystém a probiotika. *Medicína pro praxi*, 2010, 7 (11): 408 – 414.
12. Frič, P.: Gastrointestinální systém a probiotika. *Medicína pro promoci. Interní klinika I. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a ÚVN Praha*, 27. 4. 2011 (2): 1-10.
13. Fuller, R.: Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 1989, 66: 365 – 378.

14. Gaskins, H. R., Croix, J. A., Nakamura, N., Nava, G. M.: Impact of the Intestinal Microbiota on the Development of Mucosal Defense. *Clinical Infectious Diseases. Oxford Journals Medicine*, 2008, 46 (2), 80-86.
15. Geigerová, M., Vlková, E., Skřiváňová, E., Bunešová, V.: Olišnost v mikrobiotě trávicího traktu různých druhů savců. *Veterinářství*, 2014, 64 (7): 522 - 526
16. Gibson, G. R., Fuller, R.: Aspects of In Vitro and In Vivo Research Approaches Directed Toward Identifying Probiotics and Prebiotics for Human Use. *The Journal of Nutrition*, 2000, 130: 391-395.
17. Juránková, J., Lata, J., Příbramská, V., Koukalová, D.: Střevní mikroflóra I. Část – obecný přehled. *Folia Gastroenterol Hepatol 2008*. FN Brno, LF MU a FN Brno, LF UP a FN Olomouc, 2008, 6 (4).
18. Kalač, P.: *Funkční potraviny: kroky ke zdraví*. 1. vyd. České Budějovice, Dona, 2003, 130 s.
19. Krejčí, M., Kadlec, R., Krejčí, J.: Význam probiotik ve výživě a v prevenci střevních onemocnění zvířat. *Veterinářství*, 2013, 63 (1): 11 – 14.
20. Krejsek, J., Kudlová, M., Koláčková, M., Novosad, J.: Nutrice, probiotika a imunitní systém. II. část: nutrice, přirozená slizniční mikroflóra a individuální imunitní reaktivita. *Pediatric pro Praxi*, 2007, 3: 156 – 162.
21. Lata, J., Juránková, J.: Střevní mikroflóra, slizniční bariéra a probiotika u některých interních chorob. *Inertní Medicína*. 2011, 13 (2): 63 – 69.
22. Lata, J., Juránková, J., Příbramská, V., Ostřížek, T.: Probiotika v gastroenterologii a hepatologii, *Interní Medicína*, 2007, 1: s. 1 – 10.
23. Lourens – Hattingh, A., Viljoen, B. C.: Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 2001, 11: 1 – 17.
24. Lukáš, M.: Escherichia coli (Escherichia coli kmen Nissle 1917, sérotyp O6:K5:H1) jako probiotikum v klinické praxi. *Remedia*, 2003, 4: Aktuality
25. Lukáš, K., Žák, A. a kolektiv: *Gastroenterologie a Hepatologie*. 1. vyd. Grada Publishing, a. s., 2007. 380 s. ISBN 978 – 247 – 1787 – 6.
26. Maxa, V., Rada, V.: *Význam bifidobakterií a bakterií mléčného kvašení pro výživu a zdraví*. 1. vyd. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1996, 42 s.
27. Mazánková, D., Kotásková, S.: Probiotika z pohledu praktického lékaře – kmeny bakterií používané jako probiotika, jejich účinek, bezpečnost a dávkování. *Praktický lékař*, 2011, 91 (10): 586 – 589.
28. McFarland, L. V.: Normal flora: diversity and functions. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 2000, 12: 193–207.

29. Mego, M.: Probiotiká. *Via practica*, 2005, 9: 354-357.
30. Mitsuoka, T.: The human gastrointestinal tract. The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease. *Elsevier Applied Science*. 1992, 69-114.
31. Mráz, S., Chr. Hansen Czech Republic, s. r. o.: Tele a jeho zdraví je základ. *Chov skotu*, 2015, 12 (5): 14 – 15.
32. Nevoral, J.: Prebiotika, probiotika a synbiotika. *Pediatric pro praxi*, 2005 (2): 60 – 65.
33. Ouwehand, A. C., Salminen, S., Isolauri, E.: Probiotics: an overview of beneficial effects. *Kluwer Academic Publishers*, 2002, 82 : 279-289.
34. Rada, V., Petr, J.: Enumeration of bifidobacteria in animal intestinal samples. *Veterinary Medicine*. 2002, 47: 1-4.
35. Rada, V., Marounek, M.: Probiotika a prebiotika ve výživě zvířat. *Vědecký výbor výživy zvířat 2005*. Praha – Uhřetěves: Výzkumný ústav živočišné výroby, s. 8 – 21.
36. Rada V.: Probiotika, prebiotika a synbiotika. *Potravinářská revue*, 2008, 2: 15-16.
37. Rada, V., Havlík, J., Flesar, J.: Biologicky aktivní látky ve výživě včel. *Vědecký výbor výživy zvířat 2009*. Praha – Uhřetěves: Výzkumný ústav živočišné výroby, 2009, s. 7- 11.
38. Rada, V.: Využití probiotik, prebiotik a symbiotik. *Medicina pro Praxi*, 2011, 8 (1): 10 – 15.
39. Ribeiro, F.: Úprava střevní mikroflóry pomocí synbiotik. *Science and Solutions, Biomin 2014*, 1. 5. 2014: 1 – 4.
40. Rudolfová, J., Čurda, L.: Prebiotický účinek galaktooligosacharidů a využití laktosy pro jejich produkci. *Chemické listy*. 2005, 99 : 168 – 174.
41. Rychlík, I.: Správná skladba střevní mikroflóry může předejít mnoha chorobám zvířat i lidí. *Výzkumný ústav veterinárního lékařství*. Brno, 2014, s. 1 – 2.
42. Scardovi, V.: Genus Bifidobacterium. *Mair NS (ed) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 1989.:1418 – 1434.
43. Sedláček, Ivo.: *Taxonomie prokaryot I*, 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2007. 270 s. ISBN 80-210-4207-9.
44. Sonnenborn U., Schulze J.: The non-pathogenic Escherichia coli strain Nissle 1917 features of a versatile probiotic. *Microbial Ecology*, 2009, 21: 122-158.

45. Stibůrek, O., Příbramská, V., Lata, J.: *Interní Med.*, 2009, 11 (1): 25 – 29.
46. Suau A., Bonnet, R., Sutren, M., Godon, J. J., Gibson, G. R., Collins, M. D., Doré, J.: *Analys of Genes Encoding 16S rRNA from Dimplex Communities Reveals Many Novel Molecular Species within the Human Gut. Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65 (11): 4799 – 4807.
47. Suvarna, V. C., Boby V. U.: *Probiotics in human health: a current assessment. Current Scienc*, 2005, 88: 1744-1748.
48. Švestka, T.: *Mikroflóra trávicího traktu a Probiotika. Interní Medicína*, 2007, 9 (9): 389 – 391.
49. Sýkora J., Schwarz J., Siala, K.: *Probiotika a dětský věk. Pediatrie pro Praxi*, 2006, 5: 264-270.
50. Trojan, S. a kolektiv.: *Lékařská fyziologie*. 4.vyd. Praha: Grada Publishing a. s., 2003. 772 s. ISBN 80 – 247 – 0512 – 5.
51. Verhoef-Verhage, E. A. E., van der Waaji, D., Schaafsma, G.: *A guide to the intestinal microflora*, 1999, Yakult Nederland B. V.: 11- 44.
52. Vernerová, E.: *Slizniční imunita u dětí, možnosti imunomodulace a alergie. Pediatrie pro Praxi*, 2008, 9 (3): 164 – 168.
53. Vlková, E., Rada, V., Trojanová, I.: *Enumeration, isolation and identification of bifidobacteria from dairy products. Acta agriculturae slovenika*. 2004, 84: 31 – 36.
54. Vlková, E., Bunešová, V., Rada, V.: *Podávání bifidobakterií mláďatům přežvýkavců. Veterinářství*, 2013, 63 (5): 371 – 374.
55. Voříšek, K.: *Probiotika a gastrointestinální mikroflóra*. 1. vyd. Praha: MON, 1989. 111s.
56. Votava, M. a kolektiv.: *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vyd. Brno: Neptun, 2003. 495 s. ISBN 80-902896-6-5.
57. Zbořil, V.: *Zánětlivá onemocnění střevní stěny. Sanguis* 2000; 6: 22-27.
58. Zelenka, J.: *Krmná aditiva. Společnost mladých agráriků České republiky*. Praha, 2015, s. 19 – 20.

Internetové zdroje:

1. Anonym 1: [online]©, [cit. 2016 - 4 - 4]. Dostupné na:
file:///C:/Users/Správce/AppData/Local/Microsoft/Windows/INetCache/IE/6WA5KF0I/mikrobiologie_lidskeho_organismu.pdf

2. Anonym 2: [online]© 2014 www.afracturedreality.tumblr.com [cit. 2016-2-24]. Dostupné na: <http://afracturedreality.tumblr.com/post/41049944708/bacteroides-fragilis.com>
3. Anonym 3: Best Lactobacillus Acidophilus Capsules Brand Ratings & Reviews [online] © 2013 – 2016 www.nootriment.com/ [cit. 2016 - 3- 30]. Dostupné na: <http://nootriment.com/acidophilus-capsules/>
4. Anonym 4: Bacteria in photos - Microbial Biofilms. [online] © 2012 www.bacteriainphotos.com [cit. 2016-2-25]. Dostupné na: <http://www.bacteriainphotos.com/bacterial-biofilm.html>
5. Anonym 5: [online] ©2014 – 2015 www.chr-hansen.com [cit. 2016 - 3 - 30]. Dostupné na: <http://www.chr-hansen.com/animal-probiotics-and-silage-inoculants>
6. Anonym 6: [online] © 2008 www.dromy.cz [cit. 2016 - 3 - 30]. Dostupné na: <http://www.dromy.cz/56-gastroline-8594167540070.html>
7. Anonym 7:[online] ©2015 www.svetkrmiv.cz [cit. 2016 - 3- 30]. Dostupné na: <http://www.svetkrmiv.cz/skot/lactiferm-basic--5-plv-500g/>
8. Anonym 8: *Botulinické neurotoxiny* [online] ©2016. [cit. 2016-4-13]. Dostupný na. http://www.biotox.cz/toxikon/bakterie/bakterie/clostridium_botulinum.php.
9. Branderburg, B.: Escherichia coli [online] © 2004 – 2014 www.bryanmbrandenburg.com [cit. 2016 - 3 - 30]. Dostupné na: <http://bryanmbrandenburg.com/escherichia-coli/>