

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko – technologická

Anaerobní střevní bakterie a jejich význam

Bakalářská práce

2020

Žaneta Padevětová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2019/2020

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Žaneta Padevětová**  
Osobní číslo: **C17199**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Anaerobní střevní bakterie a jejich význam**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Zásady pro vypracování

Vypracování literárního přehledu o významu anaerobních bakterií ve střevě:

1. Vymezení skupiny striktně anaerobních bakterií, přehled a charakteristika významných zástupců nacházejících se ve střevě člověka či zvířat.
2. Význam anaerobních bakterií ve střevě (normální mikroflóra, onemocnění, atd.).
3. Laboratorní diagnostika, prevence a léčba střevních anaerobních infekcí.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Vladimír Beran, PhD.**  
Katedra biologických a biochemických věd  
Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2019**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2020**

L.S.

---

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.**  
děkan

---

**prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2020

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 22. 6. 2020

Žaneta Padevětová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych poděkovala panu Mgr. Vladimíru Beranovi, Ph.D. za odborné vedení mé bakalářské práce, jeho rady a věnovaný čas.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce v první části obsahuje základní charakteristiku významných striktně anaerobních bakteriálních rodů vyskytujících se ve střevě s uvedením jejich biochemických vlastností, výskytu, faktorů patogenity, mikroskopických charakteristik a kultivačních možností. V další části popisuje vývoj střevní mikrobioty v průběhu ontogeneze člověka a její význam ve zdravém střevě i možnost působení negativního. V rámci střevních onemocnění je důležitá prevence a léčba, která je uvedena ve třetí kapitole spolu s laboratorní diagnostikou.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

střevo, střevní mikrobiota, anaerobní bakterie, střevní onemocnění

## **TITLE**

Anaerobic intestinal bacteria and their importance

## **ANOTATION**

This bachelor thesis contains basic characterization of important strictly anaerobic bacterial genera occurring in the intestine, including their biochemical features, occurrence, pathogenicity factors, microscopy and cultivation. It also describes the development of intestinal microbiota during human ontogenesis and its importance in the healthy intestine as well as negative effects. Prevention, treatment and laboratory diagnostics of intestinal diseases is important and this information is in the third part of this bachelor thesis.

## **KEY WORDS**

intestine, intestinal microbiota, anaerobic bacteria, intestinal disease

# OBSAH

ÚVOD .....	11
1 ANAEROBNÍ BAKTERIE.....	12
1.1 Gramnegativní anaerobní tyčinky a vlákna.....	13
1.1.1 Rod <i>Bacteroides</i> .....	13
1.1.2 Rod <i>Prevotella</i> .....	17
1.1.3 Rod <i>Porphyromonas</i> .....	18
1.1.4 Rod <i>Fusobacterium</i> .....	18
1.2 Gramnegativní anaerobní koky .....	19
1.2.1 Rod <i>Veillonella</i> .....	19
1.3 Grampozitivní sporulující anaerobní tyčinky.....	22
1.3.1 Rod <i>Clostridium</i> .....	22
1.4 Grampozitivní nesporelující anaerobní tyčinky až vlákna.....	26
1.4.1 Rod <i>Bifidobacterium</i> .....	26
1.4.2 Rod <i>Eubacterium</i> .....	29
1.5 Grampozitivní anaerobní koky.....	30
1.5.1 Rod <i>Peptostreptococcus</i> .....	30
1.5.2 Rod <i>Peptococcus</i> .....	32
1.5.3 Rod <i>Peptoniphilus</i> .....	33
2 STŘEVNÍ MIKROBIOTA .....	34
2.1 Vývoj střevní mikrobioty .....	34
2.2 Význam anaerobních bakterií ve zdravém střevě .....	35
2.3 Anaerobní střevní bakterie způsobující střevní onemocnění .....	38
2.3.1 Průjem a pseudomembranózní kolitida .....	38
2.3.2 Otrava jídlem způsobená <i>Clostridium perfringens</i> a nekrotizující enteritida .....	39

2.3.3	Kolorektální karcinom.....	39
2.3.4	Zánětlivá střevní onemocnění .....	40
2.4	Anaerobní střevní bakterie jako probiotika.....	40
3	PREVENCE, LÉČBA A LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA STŘEVNÍCH ANAEROBNÍCH INFEKČÍ.....	42
3.1	Průjem a pseudomembranózní kolitida.....	42
3.2	Otrava jídlem způsobená <i>Clostridium perfringens</i> a nekrotizující enteritida .	43
3.3	Kolorektální karcinom .....	44
3.4	Zánětlivá střevní onemocnění .....	47
	ZÁVĚR .....	49
	SEZNAM LITERATURY .....	51



## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Zastoupení jednotlivých bakteriálních kmenů u lidí a myší .....	12
Obrázek 2 Metabolická přeměna laktátu na propionát a acetát .....	20
Obrázek 3 Fázová mikroskopie <i>Clostridium botulinum</i> s viditelnými endosporami .....	24
Obrázek 4 Bifidobakterie pod elektronovým mikroskopem.....	27
Obrázek 5 Pseudomembranózní kolitida .....	38
Obrázek 6 Odběrová nádobka na stolicí pro stanovení FIT .....	46
Obrázek 7 Faktory ovlivňující vznik IBD .....	47

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

CFU	<i>z angl.</i> colony forming unit (kolonie tvořící jednotky)
CRC	<i>z angl.</i> colorectal cancer (kolorektální karcinom)
CRP	C–reaktivní protein
ELISA	<i>z angl.</i> enzyme linked immunosorbent assay (enzymová imunoanalýza)
FIT	<i>z angl.</i> fecal immunochemical test (imunochemické testování stolice)
FOBT	<i>z angl.</i> fecal occult blood test (test na okultní krvácení)
GIT	gastrointestinální trakt
GDH	glutamátdehydrogenáza
IBD	<i>z angl.</i> inflammatory bowel disease (zánětlivá střevní onemocnění)
iFOBT	<i>z angl.</i> immunochemical fecal occult blood test (imunochemické testování stolice)
IL	interleukin
PCR	<i>z angl.</i> polymerase chain reaction (polymerázová řetězová reakce)
PSA	polysacharid A
PSB	polysacharid B
ROS	<i>z angl.</i> reactive oxygen species (reaktivní formy kyslíku)
SCFA	<i>z angl.</i> short chain fatty acid (mastná kyselina s krátkým řetězcem)
WCB	médium Wilkins-Chalgren pro bifidobakterie bez přidaného mupirocinu
WCBM	médium Wilkins-Chalgren pro bifidobakterie s přidaným mupirocinem
ZPS	zwitterionické polysacharidy

# ÚVOD

Můžeme se setkat s přirovnáním, že střevo je jako druhý mozek, nebo že existuje pomyslná osa mezi mozkem a střevem. Už i fakt, že střevní mikrobiom (který zahrnuje soubor všech genů daných mikroorganismů) obsahuje mnohonásobně více genů než je v celém organismu člověka, nám udává skutečnost, že střevo a jeho komenzálové mají významnou a nepostradatelnou funkci v rámci nejen tělesného, ale i duševního zdraví jedince. V současnosti je namísto střevní mikroflóry užíván pojem střevní mikrobiota vystihující soubor všech mikroorganismů osídlujících střevo lidí i zvířat, a to v řádu až několika desítek miliard.

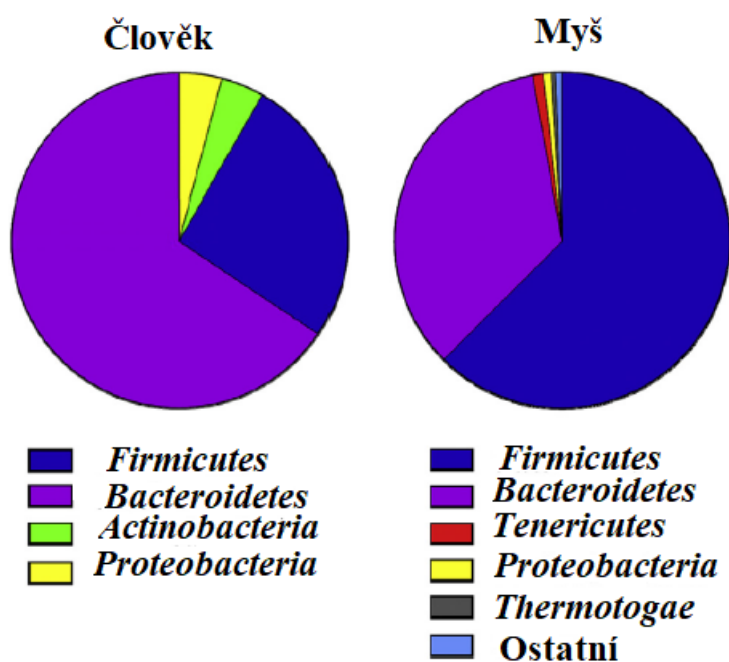
Předmětem této bakalářské práce jsou bakterie anaerobní, které se ve střevě vyskytují nejhojněji, a to z důvodu přítomnosti kyslíku pouze ve velmi nízkých koncentracích. V minulosti bylo obtížné takovéto mikroorganismy kultivovat, protože aerobní podmínky netolerují a tudíž při nich nerostou a nemnoží se. Nejpočetnější výskyt bakterií s anaerobním metabolismem zaznamenáváme u kmenů *Bacteroidetes* a *Firmicutes*. Nedílnou součástí metabolismu těchto komenzálů je tvorba mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFA), které vznikají štěpením sacharidů a mají příznivý účinek. Pokud však dojde k narušení rovnováhy mezi prospěšnými bakteriemi a těmi škodlivými, nastává stav zvaný dysbióza, který může vést ke vzniku střevních chorob.

Cílem této bakalářské práce je charakterizovat striktně anaerobní bakteriální rody a jejich nejvýznamnější zástupce nacházející se ve střevě lidí. Dále popsat jejich význam jak pozitivní, v podobě symbiózy s hostitelským organismem a probiotik, tak i negativní, coby etiologických agens střevních onemocnění a v neposlední řadě uvést možnosti prevence, léčby a laboratorní diagnostiky těchto onemocnění.

# 1 ANAEROBNÍ BAKTERIE

Objev bakterií netolerantních ke kyslíku sahá do druhé poloviny 19. století, kdy Louis Pasteur zkoumal fermentační procesy. Tehdy dokázal, že fermentace butyrátu byla způsobena mikroorganismem, který žil za nepřítomnosti kyslíku. Bakterie se kultivovaly v axenické kultuře, v uzavřených sklenicích či anaerobních komorách. Proces kultivace byl zdlouhavý, obtížný a drahý (Ndongo et al., 2020).

Většina bakterií nacházejících se ve střevě jsou anaeroby. Pro striktně anaerobní bakterie je vzdušný kyslík toxický i v malém množství. Můžeme je rozdělit do 2 základních skupin, a to sporulující a nesporulující anaeroby. Obecně v distálních oblastech je vyšší osídlení bakteriemi, protože střevo nevytváří, na rozdíl od žaludku, kyselé prostředí, které by bakterie ničilo. V tenkém střevě je ještě osídlení nízké, nejvyšší je ve střevě tlustém. Metabolismem anaerobních bakterií vzniká např. kyselina octová, máselná či mléčná, které potlačují růst jiných mikroorganismů (Bednář et al., 1996). Největší podíl (více než 90%) střevních bakterií patří do kmenů *Bacteroidetes* a *Firmicutes* (Reinoso Webb et al., 2016) a převládajícím rodem je *Bacteroides* (Donelli et al., 2012).



**Obrázek 1** Zastoupení jednotlivých bakteriálních kmenů u lidí a myší (Reinoso Webb et al., 2016)

Složení dospělé mikrobioty se liší dle různých koncentrací kyslíku po celé délce trávicího traktu. Proximální části (žaludek, duodenum) obsahují více kyslíku než ty distální, proto zde nacházíme větší množství aerobních a fakultativně anaerobních bakterií. Distální části tenkého střeva a střevo tlusté je osídleno obligátními anaeroby, protože zde kyslík není vůbec, či pouze v malých koncentracích (Reinoso Webb et al., 2016).

Metabolismem anaerobů vznikají reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species, ROS). Jsou to silná oxidační činidla, která jsou pro ně velmi toxická, jelikož striktně anaerobní mikroorganismy nemají tolik antioxidantních obranných systémů proti těmto reaktivním formám kyslíku.

Kyslík je nezbytným substrátem pro mnoho enzymů živých organismů, rozdílem jsou ale právě anaeroby. Nejsou schopny syntetizovat dýchací řetězec s molekulou kyslíku jako konečným příjemcem elektronu. Během oxidačně-redukčních reakcí kyslík tvoří ROS, jako je hydroxylový radikál, peroxid vodíku a superoxidový radikál. Hromadění těchto radikálů může způsobit poškození DNA a následně smrt buňky. Bakterie, které tolerují kyslík, se proti těmto toxickým sloučeninám brání enzymaticky, pomocí superoxidové dismutázy, superoxidázové reduktázy, peroxidázy a katalázy. Studie za posledních 30 let ukazují, že i striktní anaeroby mají některé z obranných enzymů, jako je kataláza nebo superoxidová reduktáza. Čím vyšší je aktivita těchto enzymů, tím více dokáží kyslík tolerovat. Obligátní anaeroby dělíme na striktní, které nepřežijí tenzi kyslíku větší než 0,5 % a pak na mírné obligátní anaeroby, které jsou schopné růst v prostředí s 2 % až 8 % kyslíku (Ndongo et al., 2020).

## 1.1 GRAMNEGATIVNÍ ANAEROBNÍ TYČINKY A VLÁKNA

### 1.1.1 Rod *Bacteroides*

**Doména** *Bacteria*

**Kmen** *Bacteroidetes*

**Třída** *Bacteroidia*

**Řád** *Bacteroidales*

**Čeleď** *Bacteroidaceae*

**Rod** *Bacteroides*

**Druh** *B. thetaiotaomicron, vulgatus, fragilis, distasonis, ovatus*

Tento rod je dnes tvořen pouze skupinou *Bacteroides fragilis*. Skupina *Bacteroides melaninogenicus* je již řazena do rodu *Prevotella* a další zástupci jsou řazeni do rodu *Porphyromonas*. Tyto dva nové rody spojuje vlastnost tvořit pigment (Bednář et al., 1996; Votava et al., 2003).

Ve zdravém dospělém střevě může být kmen *Bacteroidetes* zastoupen v širokém rozmezí, a to 20-80 % z celkového počtu bakterií a jejich zastoupení se mezi jedinci různí. V porovnání s *Firmicutes* je výskyt této skupiny během celého života více stálý. Tento rod bakterií je možno izolovat již u kojenců v prvních dnech života, jejich počet se však zvýší až se zavedením tuhého jídla (Sheila, 2015). Genom rodu *Bacteroides* obsahuje geny pro syntézu kapsulárních polysacharidů, které jsou důležité pro kolonizaci trávicího traktu, ve kterém díky nim přežívají. Dále stimulují imunitní systém (Wrzosek et al., 2013). Pouzdra byla pozorována u *B. fragilis*, *B. ovatus* a *B. thetaiotaomicron*. Další buněčnou strukturou mohou být plazmidy. Některé plazmidy nesou geny pro rezistenci proti antibiotikům a u některých malých plazmidů není fenotyp znám.

*Bacteroides vulgatus* a *B. thetaiotaomicron* jsou nejpočetnější zástupci střevní mikrobioty. *B. fragilis* je zastoupen pouze z 0,5 %, přesto je nejčastěji izolován od pacientů s bakteriemií nebo nitrobřišními infekcemi (Falagas a Siakavellas, 2000).

### **Biochemické vlastnosti**

Většina zástupců je rezistentní na 20% žlučové soli. Jejich známým znakem je rozklad polysacharidů pomocí hydroláz, transferáz či polysacharidových lyáz na již zmíněné mastné kyseliny s krátkým řetězcem, které slouží jako zdroj živin a energie. Jsou schopny rozložit různé polysacharidy, hlavně také nestravitelnou vlákninu. *Bacteroides uniformis* je schopen pohlit tuk z potravy, snížit hladinu cholesterolu a triacylglycerolů (Tan et al, 2019).

### **Výskyt**

Bakteroidy se vyskytují nejčastěji na povrchích sliznice tlustého střeva, vaginy, dále rovněž sídlí v dutině ústní, konkrétně jsou součástí dentálního plaku, dásní či jazyka (Falagas a Siakavellas, 2000).

## **Patogenita a faktory patogenity**

Rod *Bacteroides* je nejčastěji izolovaný patogen z klinických vzorků. Do klinicky důležitých zástupců patří skupina *B. fragilis*, která zahrnuje *B. fragilis* a dále druhá skupina, do které řadíme *B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus*, *B. distasonis*, *B. vulgatus*, *B. uniformis* a *B. caccae*. Infekce způsobené těmito bakteriemi jsou endogenní, což znamená, že mikroorganismy jsou u pacienta přítomny ještě před začátkem infekce (Falagas a Siakavellas, 2000). Nejsou primárně invazivní, ale jejich extracelulární enzymy mohou způsobit jejich virulenci, zároveň jsou však důležité pro růst buněk. Enzymy, jako je hyaluronidáza, chondroitin sulfatáza, fibrinolysin, DNAáza, lipáza, proteáza a neuraminidáza, mohou poškodit buňky i tkáně. Tento rod je rezistentní na  $\beta$ -laktamová antibiotika, jako je penicilin a cefalosporiny, a to z důvodu produkce  $\beta$ -laktamázy. Tento enzym naruší  $\beta$ -laktamový kruh, konkrétně jeho karbonylovou skupinu (Sheila, 2015).

## **Mikroskopie**

V mikroskopu se dají pozorovat buňky různých tvarů od koků, tyčinek až po vlákna, tzn., že vidíme tzv. pleomorfii. Podle Grama se barví červeně, protože jsou gramnegativní. Viditelné je také pouzdro a vakuoly (Votava et al., 2003). Jsou nepohyblivé a nesporující (Tan et al., 2019).

## **Kultivace**

K jejich optimální kultivaci se používají média, která se předvaří, aby se v nich odstranil rozpuštěný kyslík. Používají se také redukční činidla, jako je cystein. Pro růst a izolaci je vhodný redox potenciál menší než -42 mV při pH 7. V některých případech však mohou růst i v přítomnosti nanomolárních koncentrací kyslíku a dokonce z jeho spotřeby mohou těžit (pomocí cytochromoxidázy). Důvodem tolerance kyslíku v těchto koncentracích je přítomnost superoxidové dismutázy, která přeměňuje superoxidový anion (ROS) na peroxid vodíku. Dále to může být kataláza, která peroxid vodíku rozkládá. Tento enzym také redukuje kyslík pomocí fumarát reduktázy (Sheila, 2015). Ke kultivaci je vhodný VL-agar, který je možno obohatit vitamínem K nebo heminem. Je potřebná 3-5 denní inkubace, po které můžeme pozorovat šedé kolonie bez hemolýzy. VL-bujon je také vyhovující (Votava et al., 2003).

### ***Bacteroides thetaiotaomicron***

*B. thetaiotaomicron* je gramnegativní obligátně anaerobní tyčinka se zaoblenými konci. Tato bakterie představuje 13 % analyzovaných bakteriálních DNA sekvencí pro gen 16S rRNA. Její vlastností je schopnost se přizpůsobit měnícímu se prostředí v trávicím traktu, a to pomocí genů, jejichž produkty se podílejí na utilizaci polysacharidů. Vysoká četnost této bakterie ve střevě může být vysvětlena její schopností přežít právě v takovémto měnícím se prostředí. U dospělých a u pacientů se zánětlivým střevním onemocněním (inflammatory bowel disease, IBD) její četnost klesá, protože je vyšší citlivost *B. thetaiotaomicron* k zánětlivým podmínkám (Maier et al., 2015). Při kolonizaci střeva se tyto buňky váží na zbytky kyseliny sialové (Wrzosek et al., 2013).

### ***Bacteroides fragilis***

Jak již bylo zmíněno, tato bakterie tvoří minoritní část mikrobioty, na rozdíl od jiných zástupců rodu *Bacteroides* a často tvoří nitrobršišní abscesy. Na povrchu se nachází polysacharidový komplex, který může způsobit tvorbu abscesů. Dokáže vytvořit 8 různých kapsulárních polysacharidů, které se značí A-H. Polysacharid A (PSA) se vyskytuje nejvíce a v tvorbě abscesů je aktivnější než polysacharid B (PSB) či celý polysacharidový komplex. Tento komplex je však nezbytný pro růst buňky a zvyšuje aktivitu T-lymfocytů. *B. fragilis* tedy stimuluje prozánětlivé i protizánětlivé reakce. PSA a PSB mají ve své struktuře volné karboxylové, fosfátové a aminoskupiny. Molekuly (PSA a PSB) mají kladné i záporné náboje, říká se jim tedy zwitterionické polysacharidy (ZPS). Většina bakteriálních polysacharidů však neobsahuje pozitivní náboj, výše zmíněné polysacharidy jsou tedy zajímavé (Surana a Kasper, 2012). *B. fragilis* potřebuje k růstu železo, a tím pádem i hem, který je nezbytný pro syntézu cytochromu a katalázy (je tedy kataláza pozitivní; Sheila, 2015).

### ***Bacteroides vulgatus***

*Bacteroides vulgatus* je gramnegativní obligátní anaerob, kataláza negativní a může odpovídat až 40 % z celého rodu *Bacteroides* ve stolici. Takto velké zastoupení *B. vulgatus* může být z důvodu nepřítomnosti faktorů virulence, které se nacházejí u *B. fragilis*. Má velké množství genů, které mohou být spojovány se štěpením pektinu, kdežto u mikroorganismu *B. thetaiotaomicron* byly zjištěny geny, které by mohly degradovat živočišné glykany, ale i ty rostlinné. *B. vulgatus* se váže na extracelulární matrix, např. fibronektin, kolagen typu 1



a vitronektin (Sheila, 2015). 16S rRNA sekvenování ukazuje 97,5% podobnost mezi *B. dorei* a *B. vulgatus* (Pedersen et al., 2013).

Mezi druhy rodu *Bacteroides* vládne převážně symbióza. Kolonizace *B. vulgatus* je usnadněna pomocí povrchové glykosidové hydrolázy, která je produkována *B. ovatus* a *B. vulgatus* na oplátku detoxikuje inhibiční látky (Tan et al., 2019).

### 1.1.2 Rod *Prevotella*

**Doména** *Bacteria*

**Kmen** *Bacteroidetes*

**Třída** *Bacteroidia*

**Řád** *Bacteroidales*

**Čeleď** *Prevotellaceae*

**Rod** *Prevotella*

**Druh** *P. melaninogenica, copri, intermedia, nigrescens*

Bakterie rodu *Prevotella* jsou gramnegativní tyčinky tvořící černě pigmentované kolonie, které pod UV světlem nefluoreskují a jsou schopné rozkládat sacharidy (Votava et al., 2003). Nacházejí se v lidské dutině ústní, střevě a urogenitálním traktu. Jsou často izolovány ze vzorků infekcí dýchacích cest, břišních a genitálních infekcí, bakteriemií nebo periodontálního onemocnění. Nejčastěji izolovaným druhem je *P. melaninogenic* (Field et al., 2010). *P. intermedia* a *P. nigrescens* mají schopnost využívat estrogen a progesteron, proto jsou spojovány s gingivitidou v těhotenství (Fteita et al., 2018). Virulencními faktory může být lipáza, fimbrie, hemolyzin či další enzymy (kataláza, superoxidáza; Silva et al., 2003). Ve střevě se nachází pouze několik druhů rodu *Prevotella* a v největší míře se zde nachází *P. copri* (Fehlner-Peach et al., 2019).

#### ***Prevotella copri***

Tento komenzál má velký počet genů kódujících enzymy pro rozklad komplexních polysacharidů (škrob, xylan, pektiny). Zvýšené množství této bakterie ve střevě může být spojováno s úbytkem zástupců rodu *Bacteroides* či jiných pro střevo důležitých rodů. Může se podílet na vzniku revmatoidní artritidy (Franke a Depenmeier, 2018).

### 1.1.3 Rod *Porphyromonas*

**Doména** *Bacteria*

**Kmen** *Bacteroidetes*

**Třída** *Bacteroidia*

**Řád** *Bacteroidales*

**Čeleď** *Porphyromonadaceae*

**Rod** *Porphyromonas*

**Druh** *P. gingivalis, uenonis, endodontalis, asaccharolytica*

Bakterie tohoto rodu jsou nesporulující tyčinky tvořící tmavě pigmentované kolonie, které pod UV světlem, na rozdíl od rodu *Prevotella*, fluoreskují (Votava et al., 2003). Od rodu *Prevotella* se také liší tím, že nedokážou fermentovat sacharidy, jsou tedy asacharolytické (Jover-Díaz et al., 2003). Můžeme je najít v dutině ústní, urogenitálním a gastrointestinálním systému. Způsobují infekce dutiny ústní i mimo ni. Mezi patogenní druhy patří *Porphyromonas gingivalis*, který byl izolován z gingivitid a infikovaných kořenových kanálek. Dále *P. uenonis*, *P. endodontalis* a *P. asaccharolytica* způsobující infekce kořenkových kanálek u diabetiků (Zamora-Cintas et al., 2018).

### 1.1.4 Rod *Fusobacterium*

**Doména** *Bacteria*

**Kmen** *Fusobacteria*

**Třída** *Fusobacteriia*

**Řád** *Fusobacteriales*

**Čeleď** *Fusobacteriaceae*

**Rod** *Fusobacterium*

**Druh** *F. necrophorum, nucleatum*

Fusobakterie jsou nesporulující a nepohyblivé anaerobní, často pleomorfní tyčinky, které se na konci zužují. Jsou sulfát pozitivní (Oelke et al., 2005; Hashemi Goradel et al., 2018). Jejich metabolismem vzniká butyrát. Osídlují dutinu ústní, trávicí a močový trakt lidí i zvířat. Mezi oportunní patogeny tohoto rodu patří *F. nucleatum*, který bývá izolován od lidí s periodontálním onemocněním a *F. necrophorum* kolonizující střevo, genitourinární trakt a dutinu ústní (Oelke et al., 2005).

### ***Fusobacterium nucleatum***

*F. nucleatum* dokáže růst v prostředí obsahující až 6 % kyslíku. Většinou vykazuje hemolytickou aktivitu (Hashemi Goradel et al., 2018). Do faktorů virulence patří porinové proteiny nacházející se na vnější membráně bakterií, dále amoniak nebo schopnost navázat se na bazální membrány a kolagen typu 4 (Oelke et al., 2005). Přítomnost *F. nucleatum* byla zjištěna v nádorových tkáních. Důležitý význam má ve vývoji kolorektálního karcinomu (colorectal cancer, CRC). Zdrojem živin této bakterie v nádoru jsou peptidy a aminokyseliny (Hashemi Goradel et al., 2018).

### ***Fusobacterium necrophorum***

Hlavním faktorem virulence *F. necrophorum* je leukotoxin, který způsobuje apoptózu a lýzu buněk. Tento toxin vyvolává aktivitu více proti granulocytům než lymfocytům a jeho produkce není pozorována u *F. nucleatum*. Mezi další faktory virulence patří endotoxin, hemolysin, pouzdro, adheziny, DNAáza či faktor aktivující destičky (Oelke et al., 2005).

## 1.2 GRAMNEGATIVNÍ ANAEROBNÍ KOKY

### 1.2.1 Rod *Veillonella*

**Doména** *Bacteria*

**Kmen** *Firmicutes*

**Třída** *Negativicutes*

**Řád** *Veillonellales*

**Čeleď** *Veillonellaceae*

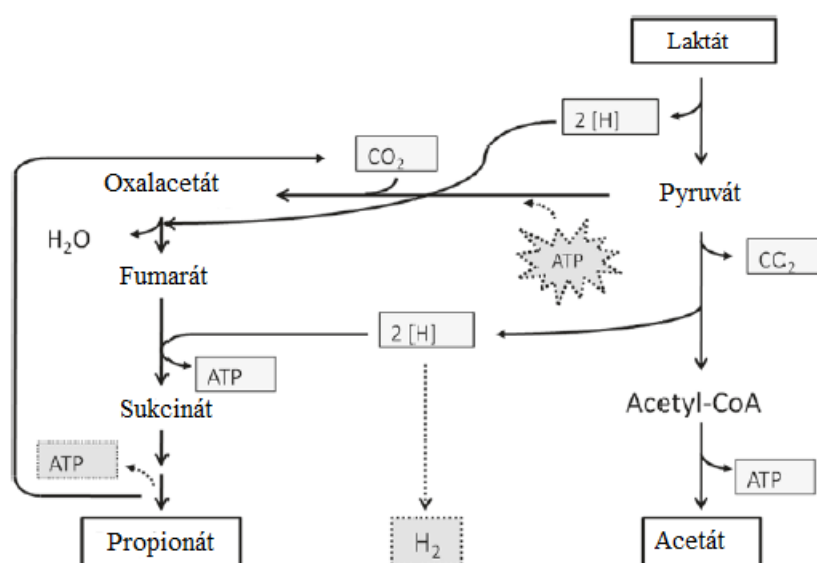
**Rod** *Veillonella*

**Druh** *V. parvula, rogosae*

V současné době je známo 14 druhů tohoto rodu včetně nově zařazeného druhu *V. infantium* v roce 2018 (Djais et al., 2019). *Veillonella parvula* je nejčastěji izolovaný druh z dutiny ústní a trávicího traktu lidí i zvířat. Velmi hojně zastupují lidský mikrobiom, jsou však ale nejméně probádány. Bylo zjištěno, že jsou více přítomny u dětí s onemocněním diabetes mellitus I. typu (Liu et al., 2011; Vesth et al., 2013). Mezi další komenzály tenkého střeva patří *V. dispar*, *V. rogosae* a *V. atypica* (Bogert et al., 2013).

## Biochemické vlastnosti

Nejsou schopny fermentovat sacharidy ani aminokyseliny, kromě *V. criceti*, *V. ratti* a *V. seminalis* (Djais et al., 2019). Streptokoky fermentují cukry a výsledným metabolickým produktem je potom laktát, který *Veillonella* využije jako zdroj energie a uhlíku za vzniku propionátu a acetátu (Bogert et al., 2013; Togo et al., 2017). Není tedy schopna čerpat živiny ze sacharidů (Megrian et al., 2020). Veillonely jsou rezistentní na tetracykliny a senzitivní na penicilin a ampicilin. V poslední době se však zjišťuje, že některé kmeny jsou rezistentní na penicilin i ampicilin (Djais et al., 2019).



**Obrázek 2** Metabolická přeměna laktátu na propionát a acetát (Dietz et al., 2013)

## Výskyt

Bakterie rodu *Veillonella* kolonizují tenké střevo spolu se streptokoky. Obě bakteriální populace se nacházejí také v žaludku, jícnu a dutině ústní. To, že se vyskytují společně, je způsobeno právě díky jejich metabolickým interakcím popsaným výše, jak v dutině ústní, tak i v tenkém střevě. Horní část GIT (gastrointestinální trakt) je však z důvodu obtížnosti při odběru vzorků méně prozkoumána. Je to oblast, kde dochází k prvnímu styku mezi přijatou potravou a bakteriemi. Hlavní funkce mikrobioty tenkého střeva souvisí s metabolismem sacharidů. Porovnání mikrobioty dutiny ústní a tenkého střeva naznačuje skutečnost, že orální mikrobiota slouží jako inokulum pro celý horní GI trakt, toto tvrzení je však pouze spekulativní (Bogert et al., 2013). Dále osídlují horní cesty dýchací a vaginu. Často jsou izolovány

z mateřského mléka, proto mohou být klíčové pro správný vývoj anaerobní střevní mikrobioty (Togo et al., 2017).

Veillonely mohou představovat až 10 % bakteriální komunity. Zprvu kolonizují zubní sklovinu, nachází se v celé dutině ústní, a to hlavně na jazyku a ve slinách. *Veillonella* a *Streptococcus* spp. často tvoří společenstvo v biofilmu a častěji se vyskytují u lidí s nižší ústní hygienou.

### **Patogenita a faktory patogenity**

Celkově jsou považovány za bakterie s nízkou virulencí (Vesth et al., 2013). *Veillonella parvula* může způsobit zubní kaz. Bakterie tohoto rodu se často objevují ve vzorcích odebraných ze subgingiválního biofilmu od pacientů, kteří trpí chronickým periodontálním onemocněním a v důsledku *Veillonella* produkuje endotoxické lipopolysacharidy (Mashima a Nakazawa, 2013). Patogenně působí pouze *Veillonella parvula* a to spolu s dalšími mikroorganismy. Velmi málokdy způsobí infekci samy o sobě. Mohou způsobit endogenní anaerobní infekce, sepse či endokarditidy (Bednář et al., 1996; Votava et al., 2003).

### **Mikroskopie**

Pozorujeme koky, které se vyskytují ve dvojicích či krátkých řetězcích a to červeně zbarvené dle Grama (Bednář et al., 1996; Votava et al., 2003). Spory netvoří a jsou nepohyblivé (Votava et al., 2010).

### **Kultivace**

Kultivace musí být za anaerobních podmínek a to na pevných půdách (Votava et al., 2010). *V. montpellierensis* při 37 °C kultivaci vykazuje na krevním agaru malé šedé kolonie, které mají hladký povrch (Jumas-Bilak et al., 2004).

### ***Veillonella parvula***

Tento mikroorganismus byl poprvé popsán na konci 19. století. Poměrně aerotolerantní *V. parvula* chrání obligátní anaeroby před oxidativním stresem v ústním mikrobiomu. Gastrointestinální trakt kolonizuje především v části tenkého střeva. Brzká kolonizace střeva kojence tímto komenzálem je důležitá pro správný vývoj imunitního systému (Megrian et al., 2020). Výzkum Marty Calatayudové demonstroval schopnost *V. parvula* adherovat se na buňky

sliznice a dále tvořit kolonie po 2 hodinovém kontaktu s těmito buňkami. *V. parvula* byla pozorována v tenkém střevě, konkrétně na sliznici jejunu (Calatayud et al., 2018).

### ***Veillonella rogosae***

Tato bakterie je pojmenována po americkém mikrobiologovi Morrisonovi Rogosovi a na rozdíl od *V. parvula* je striktně anaerobní. Je schopna redukovat nitrát, ale nedokáže hydrolyzovat eskulin ani arginin. Je oxidáza negativní a nevykazuje extracelulární glykosidickou aktivitu (Arif et al., 2008).

## 1.3 GRAMPOZITIVNÍ SPORULUJÍCÍ ANAEROBNÍ TYČINKY

### 1.3.1 Rod *Clostridium*

**Doména** *Bacteria*

**Kmen** *Firmicutes*

**Třída** *Clostridia*

**Řád** *Clostridiales*

**Čeleď** *Clostridiaceae*

**Rod** *Clostridium*, *Clostridioides*

**Druh** *C. perfringens*, *difficile*, *botulinum*, *tetani*

Rod *Clostridium* jsou sporulující striktní anaeroby. Většina zástupců má tyčinkovitý tvar, některé mohou být ale pleomorfní. Morfologie a přítomnost endospor se různí v závislosti na fázi růstového cyklu. Tyto spory jsou vysoce rezistentní na vysoké teploty, ionizující záření, vysušení a chemické látky. Velká část klostridií je pohyblivá, protože mají peritrichální bičíky. Schází jim hem a cytochromy. Většina bakterií tohoto rodu nemá obranné enzymy proti ROS, je pro ně tedy kyslík velmi toxický. Jsou kataláza negativní. *Clostridium novyi* však toleruje nízké koncentrace kyslíku (Johnson, 2009). Zástupci tohoto rodu a klastru XIVa a IV se ve střevě vyskytují v rozmezí od 10 % až do 40 %. *Clostridium* klastr IV se také nazývá skupina *C. leptum* a má 4 zástupce: *C. leptum*, *C. sporosphaeroides*, *C. cellulosi* a *Faecalibacterium prausnitzii*. *Clostridium* klastr XIVa, jiným názvem skupina *C. coccoides*, se skládá z 21 druhů.

## Biochemické vlastnosti

Bakterie rodu *Clostridium* jsou chemoorganotrofní organismy. Fermentují různé živiny, např. sacharidy, proteiny, organické i jiné kyseliny, za tvorby kyseliny octové, propionové, máselné či rozpouštědel (aceton a butanol). Většinou využívají nestravitelné polysacharidy v trávicím traktu lidí i zvířat. Většina metabolitů má na střevo pozitivní vliv. Ze sacharidů také tvoří butyrát. Mnoho bakterií tohoto rodu hraje roli v syntéze primárních (kyselina cholová a chenodeoxycholová) a sekundárních (kyselina lithocholová a deoxycholová) žlučových kyselin v ileu a v tlustém střevě.

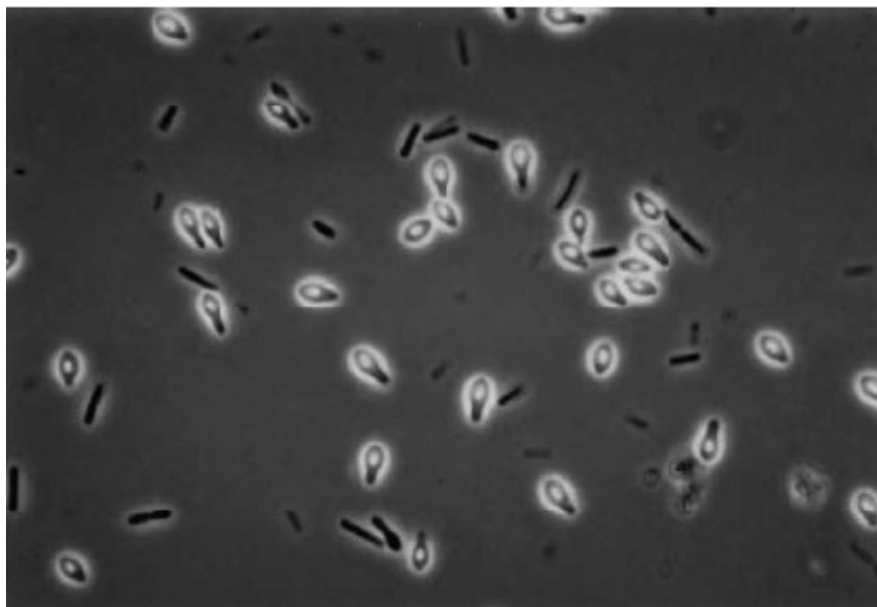
## Výskyt

Obecně se rod *Clostridium* nachází hlavně v tlustém střevě, zejména ve slizničních záhybech vzestupného tlustého střeva (Guo et al., 2020). Nachází se i ve střevě zvířat. Jsou hojně rozšířeny v přírodě, hlavně v půdě a ve vodních sedimentech. *Clostridium perfringens* se našel téměř ve všech analyzovaných půdních vzorcích. Často se proto vyskytují v určitých potravinách, včetně zeleniny a mléka. Dále mohou být přítomny v prachu nebo kanalizacích (Johnson, 2009).

## Patogenita a faktory patogenity

*Clostridium perfringens*, *C. difficile* a *C. botulinum* jsou častými původci anaerobních infekcí. *C. perfringens* produkuje toxiny: alfa (lecitináza), beta, epsilon a iota, dále také enterotoxin. Podle toho, jaké tvoří toxiny, jsou klostridie tohoto druhu děleny do skupin A-E. Tyto toxiny mají různé biologické aktivity, jako je neurotoxicita, hemolytická nebo enterotoxigenní aktivita. Mohou vyvolat nekrotizující enteritidu, plynovou gangrénu a enterotoxemii, která je významným onemocněním hospodářských zvířat způsobeným klostridiami. Jsou to choroby s vysokou úmrtností. Infekce způsobené *C. difficile* můžeme pozorovat po léčbě antibiotiky a to z důvodu potlačení některých komenzálních bakterií. *C. difficile* produkuje enterotoxin A, který způsobuje průjemy a dále cytotoxin B (Guo et al., 2020). *C. botulinum* produkuje botulotoxin (neurotoxin), který napadá nervový systém a způsobuje onemocnění zvané botulismus. V trávicím traktu se nevyskytuje, pouze pokud dojde k požití kontaminovaných potravin (klobás). *C. tetani* produkuje neurotoxin, který má 3 složky: tetanospazmin, tetanolyzin a enzym reninového účinku a způsobuje onemocnění tetanus. Pro tetanus jsou charakteristické křeče svalů. Pokud bychom si to měli shrnout, tak klostridie jsou původci 3 typů onemocnění. Prvním jsou neurointoxikace způsobené *C. tetani*

a *C. botulinum*, dále infekce měkkých tkání a orgánů (*C. perfringens*) a posledním typem jsou infekce napadající střevo, např. enterokolitidy, enterotoxemie a průjemy (*C. difficile*, *C. perfringens*; Bednář et al., 1996). Klostridie produkují toxiny více než jakékoliv jiné bakterie (Johnson, 2009).



**Obrázek 3** Fázová mikroskopie *Clostridium botulinum* s viditelnými endosporami (Johnson, 2009)

### **Mikroskopie**

Jsou to grampozitivní až gramvariabilní fialově zbarvené tyčinky, jejichž morfologie a přítomnost spor závisí na fázi růstového cyklu. Mohou mít špendlíkový tvar, kyjovitý tvar (pokud jsou spory umístěné subterminálně), dále mohou připomínat tenisovou raketu (terminální umístění). Spory jsou viditelné pod fázovým kontrastem a jsou širší než vegetativní buňky (Johnson, 2009). Tvoří řetězky ve tvaru spirály (*C. cocleatum*), ale někdy vypadají spíše jako kokobacily (*C. coccoides*). V některých případech se mohou klostridie barvit gramnegativně z důvodu ztráty některých komponent buněčné stěny, příkladem je *C. chauvoei* (Bednář et al., 1996).

### **Kultivace**

Bakterie rodu *Clostridium* jsou schopné růst při různých teplotách i pH. Většina preferuje pH slabě kyselé až neutrální (pH 6-7), některé ale zvládají i růst v kyselém nebo



naopak silně alkalickém prostředí. Nejrady rostou při 25-37°C, ale opět existují výjimky, které rostou při teplotách nižších 10°C (psychrofilní bakterie) a na druhém konci spektra jsou bakterie termofilní s růstem nad 60°C. Spory většiny druhů mohou být produkovány v masovém bujónu nebo na médiu TPGY (obsahuje trypton, pepton, glukózu a kvasnicový extrakt; Johnson, 2009). Ke striktně anaerobní kultivaci *C. tetani* se používá VL agar za vzniku kolonií s plazivým růstem a beta-hemolýzou pod koloniemi. *C. perfringens* je více aerotolerantní, proto roste na krevním agaru i v přítomnosti kyslíku, kolonie mají nepravidelné okraje a je přítomna zóna dvojité hemolýzy. *C. difficile*, jak už napovídá název, byly hlavně dříve těžce kultivovatelné mikroorganismy, lépe se kultivují na obohacených půdách s antibiotiky (Votava et al., 2010).

### ***Clostridium perfringens***

*C. perfringens* je tyčinka, která obsahuje oválné subterminální spory. Ve střevě dobře sporulují. Od ostatních klostridií se liší tím, že jsou nepohyblivé a opouzdřené polysacharidovým pouzdem. Ačkoli jsou kataláza negativní, přežívají přítomnost kyslíku a příležitostně v jeho přítomnosti mohou růst, jsou tedy aerotolerantní. Tato vlastnost je umožněna enzymem peroxidázou. Stejně jako *C. difficile* štěpí sacharidy a hydrolyzuje želatinu (Bednář et al., 1996; Adams, 2016).

### ***Clostridium (Clostridioides) difficile***

*C. difficile* může být úzká tyčinka s malými sporami, které tyčinku neztlušťují. Druhým případem jsou tyčinky větších rozměrů obsahující subterminální spory. Ve střevě dochází k časté sporulaci této bakterie. Spory nejsou ve velké míře rezistentní na teplo z důvodu ničení jejich lytického germinálního enzymu. Řadíme ji mezi středně striktní anaeroby, její izolaci usnadní použití selektivních půd obohacených cefoxitinem a cykloserinem, které působí jako inhibitory kontaminace (Bednář et al., 1996). *C. difficile* se objevuje ve formě vegetativní a sporulující. Pokud je bakterie ve vegetativní formě, tak v prostředí nepřežívá po dlouhou dobu, protože je obligátní anaerob. Sporulující forma není metabolicky aktivní a je odolná vůči oxidativnímu stresu, kyselému pH v žaludku, alkoholu obsaženému v prostředcích na mytí a dezinfekci rukou a na další faktory. Poprvé byl tento komenzál izolován v roce 1935 od novorozenců (Samarkos et al., 2018). Kolonizace trávicího traktu touto bakterií u zdravých dospělých jedinců může být v rozpětí od 2,4 % do 17,5 %. U novorozenců se může vyskytovat až v 71 % případů (Rodriguez et al., 2015).

## 1.4 GRAMPOZITIVNÍ NESPORULUJÍCÍ ANAEROBNÍ TYČINKY AŽ VLÁKNA

### 1.4.1 Rod *Bifidobacterium*

**Doména** *Bacteria*

**Kmen** *Actinobacteria*

**Třída** *Actinobacteria*

**Řád** *Bifidobacteriales*

**Čeleď** *Bifidobacteriaceae*

**Rod** *Bifidobacterium*

**Druh** *B. longum, adolescentis, breve, bifidum*

Bifidobakterie jsou grampozitivní, nesporeující a nepohyblivé tyčinky. Lékař Henri Tissier na konci 19. století bifidobakterie poprvé izoloval a to ze stolice kojených miminek. Popsal je jako plyn neprodukující tyčinky s anaerobním metabolismem a nazval je *Bacillus bifidus*. Vyznačují se vysokým obsahem guaninu a cytosinu. Katalázu neprodukují. Hodnoty pH v rozmezí 6-7 jsou pro růst bifidobakterií optimální, při pH pod 4,5 a nad 8,5 prakticky nerostou. Optimální teplota je 37-41 °C a při teplotách nižších než 25 °C růst nevykazují (Gomes a Malcata, 1999). Jsou považovány za jednu z nejdůležitějších skupin bakterií pro zdraví lidí. Mají význam při fermentování mléka a jsou přidávány do potravinových doplňků (probiotika). Bifidobakterie mají na lidský organismus mnoho pozitivních účinků, např. antikarcinogenní účinky, ochrana před infekčním průjmem, ochrana před patogeny obecně nebo snižují koncentraci sérového cholesterolu (Russell et al., 2011).

#### **Biochemické vlastnosti**

Jsou schopné degradovat sacharidy za vzniku kyseliny octové a mléčné, jsou tedy heterofermentativní. Oxid uhličitý při těchto procesech nevzniká. Jako zdroj uhlíku mohou použít glukózu, ale i galaktózu, laktózu a fruktózu. Dokáží fermentovat komplexní sacharidy, jako je D-galaktosamin, D-glukosamin, amylóza a amylopektin. Hlavní roli v glykolýze hraje enzym fruktózo-6-fosfoketoláza (Gomes a Malcata, 1999). Dalšími konečnými metabolity mohou být i vitamíny či kyselina linolová (Ventura et al., 2014). Některé druhy mohou být rezistentní na žlučové kyseliny. Jedním z důvodů rezistence může být přítomnost efluxních pump, které slouží k detoxikaci bakterie. Tolerance žlučových solí může být způsobena

enzymaticky, a to hydrolýzou žlučových solí enzymem hydroláza, která žlučové soli dekonjuguje. Výskyt tohoto enzymu se pozoroval u *B. animalis* subsp. *lactis* a poté v *in vivo* studiích králičích střev, nenašel se ale žádný prokazatelný vztah mezi tímto enzymem a tolerancí na žlučové soli (González-Rodríguez et al., 2013).

## Výskyt

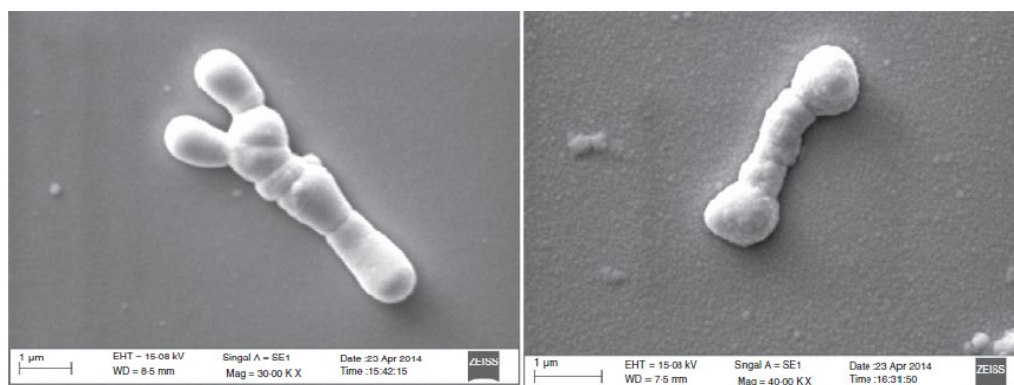
Bifidobakterie osídlují GIT lidí, zvířat a včel, dále systém genitourinární a dutinu ústní. Nalézáme je také v odpadních vodách (Ventura et al., 2014). Jejich zastoupení je závislé na věku jedince a jeho stravovacích návycích. Největší zastoupení bifidobakterií je u miminek. Mlézivo a mateřské mléko obsahují kasein, který podporuje jejich růst. V dospělém věku počet bakterií rodu *Bifidobacterium* klesá a stávají se třetím nejhojněji zastoupeným rodem (Gomes a Malcata, 1999).

## Patogenita a faktory patogenity

Patogenní působení se pozoruje pouze u zástupce *Bifidobacterium dentium*, který se podílí na tvorbě zubního kazu nebo raritně na smíšených endogenních infekcích (Bednář et al., 1996).

## Mikroskopie

Jejich tvar může být kyjovitý, rozdvojený připomínající písmeno Y nebo se mohou vyskytovat jako krátké zakřivené tyčinky zbarvené do modra (Gomes a Malcata, 1999).



**Obrázek 4** Bifidobakterie pod elektronovým mikroskopem (Awasti et al., 2016)

## **Kultivace**

Jako jiné anaerobní bakterie již popsané, i bifidobakterie rostou na VL agaru (Votava et al., 2010). Ke správné identifikaci bifidobakterií z jídla a biologických materiálů slouží molekulární a kultivační metody. Existuje mnoho selektivních půd, velké množství z nich jsou média používaná pro průmyslové laboratoře kontroly kvality. Beerensovo médium, *Bifidobacterium* selektivní médium, *Bifidobacterium* médium a modifikované TPY médium se používají k izolaci ze stolice lidí i zvířat, mají ale řadu nevýhod. Jednou z těchto nežádoucích vlastností může být nemožnost skladování Beerensova média, protože nemůže být sterilizováno autoklávováním (musí se tedy použít co nejdříve od jeho připravení) nebo nutnost přidat další přísady (např. kyselinu propionovou) a poté upravit pH sterilním hydroxidem sodným. Proto se francouzští vědci rozhodli otestovat neselektivní médium Wilkins-Chalgren pro bifidobakterie s přidaným mupirocinem (WCBM), které je dle nich lehce připravitelné a může se tak používat rutinně. Přišli na to, že médium WCB (bez přidaného mupirocinu) a WCBM v porovnání s Beerensovým médiem vykazovaly vyšší záchyt bifidobakterií. Není třeba úprava pH, může být autoklávováno, není třeba dlouhé kultivace a v neposlední řadě umožňuje růst bifidobakterií ve tvaru Y (Ferraris et al., 2010).

### ***Bifidobacterium longum***

*B. longum* je nejčastěji vyskytující se druh rodu *Bifidobacterium* u dospělých lidí i kojenců a byl uznán jako bezpečný komenzál. Existují 4 poddruhy: *B. longum* subsp. *infantis* a *B. longum* subsp. *longum* vyskytující se u člověka. *B. longum* subsp. *suis* a *B. longum* subsp. *suillum* byly izolovány od prasat či telat. Přítomnost zdrojů uhlíku, jako jsou oligosacharidy obsažené v mateřském mléce a jiné rostlinné polysacharidy, umožňuje kolonizaci *B. longum*. Tento komenzál je schopen odolávat kyselinám různými způsoby, např. je schopen změnit permeabilitu buněčné membrány. Dalším mechanismem bojujícím proti kyselinám je systém F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATPáza, díky kterému dochází k neutralizaci kyseliny a produkci amoniaku. Na žlučové soli je také rezistentní. Stejně jako *B. adolescentis* produkuje exopolysacharidy, které mají za následek zvýšení sekrece prozánětlivých a protizánětlivých cytokinů (Zhang et al., 2019).

### ***Bifidobacterium adolescentis***

Tento zástupce nahrazuje v dospělosti *B. infantis* a *B. breve*, zatímco *B. longum* přetrvává u člověka celý život (Gomes a Malcata, 1999). Studie Dhanashree et al. (2017)

prokazuje, že *B. adolescentis* a dalších několik zástupců má přirozeně rozvětvenou morfologii buněk, ale že tomu tak není pokaždé.

#### 1.4.2 Rod *Eubacterium*

**Doména** *Bacteria*

**Kmen** *Firmicutes*

**Třída** *Clostridia*

**Řád** *Clostridiales*

**Čeleď** *Eubacteriaceae*

**Rod** *Eubacterium*

**Druh** *E. rectale, ramulus*

Jsou to obligátní anaeroby, které netvoří spory. Některé jsou asacharolytické. Do tohoto rodu se řadí všechny bakterie, které nebyly zařazeny do rodu *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* nebo *Propionibacterium*, což však vede k nejasné klasifikaci různých mikroorganismů. Obsahuje tedy bakterie různých druhů či skupin, které se fenotypově ani fylogeneticky nemusejí podobat. Druhy zařazené v tomto rodu jsou tedy heterogenní (Nakazawa et al., 2011). Několik zástupců je příbuzných klostridiím (Schwiertz et al., 2002).

#### **Biochemické vlastnosti**

Eubakterie neprodukují propionát, laktát a ani acetát. Tvoří však butyrát, kyselinu octovou a mravenčí (Kageyama a Benno, 2000). Nicméně, některé asacharolytické druhy nevykazují žádnou reaktivitu na běžné biochemické testy (Itoh et al., 1995).

#### **Výskyt**

Nacházíme je jako součást běžné orální flóry, konkrétně v zubní dřeni nebo periodontálních vacích (Itoh et al., 1995). Dále sídlí ve střevě a to až v koncentraci  $10^{10}$  kolonie tvořících jednotek (CFU, colony forming units) na gram střevního obsahu (Paraiso et al., 2018).

#### **Patogenita a faktory patogenity**

Asacharolytické druhy rodu *Eubacterium* jsou spojovány s infekcemi ústní dutiny, jako je např. periodontitida nebo periapikální abscesy. Tyto bakteriální druhy způsobují u pacientů

s periodontitidou imunologické reakce (vznik sérových protilátek). Dokáží tedy narušit obranu hostitele tak, aby došlo ke stimulaci imunitní odpovědi na přítomnost těchto bakterií. V infekčních lézích jsou přítomné proteiny, ze kterých asacharolytické bakterie tohoto rodu čerpají energii nezbytnou pro jejich růst.

### **Mikroskopie**

Jsou to pleomorfní tyčinky a dle Grama se barví modře (Nakazawa et al., 2011).

### **Kultivace**

Jako kultivační půda se používá např. VL agar (Votava et al., 2010).

### ***Eubacterium ramulus***

Tato anaerobní bakterie představuje zhruba 0,16 % bakterií trávicího traktu. Ve stolici je jejich počet přibližně  $10^8$  CFU/gram suché stolice (Paraiso et al., 2018). Dokáže degradovat flavonoidy, konkrétně štěpí heterocyklický C-kruh isoflavonoidů, jako je genistein a daidzein (Schoefer et al., 2002). *Eubacterium ramulus* byl poprvé popsán v roce 1974 Moorem a Holdemanem.

### ***Eubacterium rectale***

*E. rectale* je členem klostridií klastru XIVa a je to velmi častý zástupce střevní mikrobioty. V porovnání se členy kmene *Bacteroidetes* má méně glykosidových hydroláz, což znamená, že má nižší kapacitu štěpit různé polysacharidy (Cockburn et al., 2015).

## 1.5 GRAMPOZITIVNÍ ANAEROBNÍ KOKY

### 1.5.1 Rod *Peptostreptococcus*

**Doména** *Bacteria*

**Kmen** *Firmicutes*

**Třída** *Clostridia*

**Řád** *Clostridiales*

**Čeleď** *Peptostreptococcaceae*

**Rod** *Peptostreptococcus*

## **Druh *P. anaerobius*, *stomatis*, *russellii*, *canis***

Peptostreptokoky byly původně klasifikovány na základě morfologických charakteristik. Z důvodu vytváření dlouhých řetízků byly tedy ekvivalentem streptokoků. Dříve byl tento rod velmi geneticky a fenotypově heterogenní, byly však vytvořeny nové rody, aby původní zástupci rodu *Peptostreptococcus* mohli být lépe řazeni dle základních charakteristik. Do zmíněných nově vytvořených rodů patří: *Finegoldia*, *Parvimonas*, *Anaerococcus*, *Peptoniphilus* a další. K roku 2011 má rod *Peptostreptococcus* 3 druhy: *P. anaerobius*, *P. stomatis* a *P. russellii*. O rok později studie Lawsona et al. (2012) píše o nově izolovaném kmeni *P. canis* z dutiny ústní psa. Obsah guaninu a cytosinu mají peptostreptokoky nízký (Murphy a Frick, 2013).

## **Biochemické vlastnosti**

Hlavním zdrojem energie jsou peptidy, proto nesou název peptostreptokoky (Votava et al., 2010). Z dalších látek štěpí muciny. Několik druhů metabolizuje aminokyselinu tryptofan k produkci indolakrylové kyseliny (Wlodarska et al., 2017).

## **Výskyt**

Rod *Peptostreptococcus* kolonizuje kůži, dále sliznice dutiny ústní, zažívacího systému a genitourinárního traktu žen (Murphy a Frick, 2013).

## **Patogenita a faktory patogenity**

Peptostreptokoky patří mezi oportunní patogeny. *P. anaerobius* je nejčastěji izolovaný zástupce grampozitivních koků z infekcí břišní dutiny a genitourinárního systému žen. Při bakteriální vaginóze jsou laktobacily nahrazeny právě *P. anaerobius*, dále *Prevotella* spp., *Gardnerella vaginalis* a dalšími bakteriemi. Peptostreptokoky jsou také izolovány z abscesů mozku, pleurální dutiny, míšní a kloubní tekutiny, pánve i ucha. Společně se *Staphylococcus aureus* způsobuje infekce kůže. Nejvíce jsou spojovány se smíšenými infekcemi. *P. stomatis* se podílí na infekcích dutiny ústní (dentoalveolární abscesy; Murphy a Frick, 2013).

## **Mikroskopie**

Peptostreptokoky jsou grampozitivní, nesporulující koky nebo kokobacily (Lawson et al., 2012).

## **Kultivace**

Na VL agaru se za 2-3 dny v anaerobních podmínkách vytvoří bílé kolonie, které zapáchají (Votava et al., 2010).

### ***Peptostreptococcus anaerobius***

*P. anaerobius* jsou obvykle kokobacily s průměrem 0,5-0,7 μm řazené do krátkých řetízků. Rostou na obohaceném krevním agaru rychleji než ostatní grampozitivní anaerobní koky, kolonie mají šedou barvu s bílým středem a nasládlý zápach. Nachází se ve střevě a pochvě (Murphy a Frick, 2013).

### ***Peptostreptococcus stomatis***

Kolonie *P. stomatis* mají kruhový tvar, jsou lesklé, neprůhledné, krémově zbarvené. Na obvodu mají úzký šedý prstenec. Růst v bujónu může být podpořen, přidají-li se fermentovatelné sacharidy. *P. stomatis* je schopen rozkládat sacharidy (fruktózu, glukózu, maltózu) pouze částečně. Konečnými metabolity jsou hlavně kyselina octová a isokapronová, minoritně pak kyselina isobutyrová nebo isomáselná, isovalerová a máselná. Tvoří mikrobiom v dutině ústní (Murphy a Frick, 2013).

## **1.5.2 Rod *Peptococcus***

**Doména** *Bacteria*

**Kmen** *Firmicutes*

**Třída** *Clostridia*

**Řád** *Clostridiales*

**Čeleď** *Peptococcaceae*

**Rod** *Peptococcus*

**Druh** *P. niger*

Jediným členem rodu je striktně anaerobní bakterie *Peptococcus niger*, která vytváří tmavé kolonie (Votava et al., 2003). Dokáže přeměnit steroidní látky, především hormony, které jsou pro naše tělo důležité. Produkuje sulfan. Hojně se vyskytuje ve střevě a stejně jako rod *Peptostreptococcus* byl rod *Peptococcus* heterogenní, což vedlo ke vzniku nových taxonů zmíněných u rodu *Peptostreptococcus* (Rajilić-Stojanović a De Vos, 2014). Od ostatních G+



koků se peptokoky a peptostreptokoky liší tím, že hlavním energetickým zdrojem jsou pro ně peptidy (Votava et al., 2003).

### 1.5.3 Rod *Peptoniphilus*

**Doména** *Bacteria*

**Kmen** *Firmicutes*

**Třída** *Clostridia*

**Řád** *Clostridiales*

**Čeleď** *Peptoniphilaceae*

**Rod** *Peptoniphilus*

**Druh** *P. asaccharolyticus, harei*

Jak už název napovídá, pepton je hlavním zdrojem energie pro mikroorganismy tohoto rodu. Sacharidy nefermentují a hlavním metabolickým produktem je butyrát. Mezi zástupce patří *Peptoniphilus asaccharolyticus*, který byl původně řazen do rodu *Peptococcus* a následně i do rodu *Peptostreptococcus*. *Peptoniphilus harei* má stejné biochemické vlastnosti. Zjistilo se, že se rod *Peptoniphilus* nachází hojně v podpaží zdravých mužů. Dále mohou kolonizovat kůži, měkké tkáně a genitourinární trakt (Murphy a Frick, 2013). *Peptoniphilus asaccharolyticus* byl popsán jako první a vyskytuje se nejčastěji (Rajilić-Stojanović a De Vos, 2014).

## 2 STŘEVNÍ MIKROBIOTA

Lidská mikrobiota je soubor mikroorganismů, kteří žijí na povrchu a uvnitř našeho těla. Tato mikrobiota je důležitá pro zažívání, správný vývoj imunitního systému a detoxikaci organismu. Trávicí trakt obsahuje více než  $10^{11}$  buněk v 1 gramu, což odpovídá 1-2 kg z celkové tělesné váhy. Mezi nejvíce vyskytující se kmeny patří *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* a *Proteobacteria* (D'Argenio a Salvatore, 2015). V trávicím traktu, kromě nejvíce vyskytujících se bakterií, se nacházejí také eukaryota (houby, prvoci) nebo viry. Ve střevě nacházíme až 1000 bakteriálních druhů. Gastrointestinální trakt (GIT) obsahuje více než 3 miliony mikrobiálních genů, což znamená, že obsahuje 150 krát více genů než lidský genom (Maier et al., 2015).

Člověk má 2 genomy, z nichž jeden je zděděný od rodičů a během života se téměř nemění a druhý je genom získaný. Mikrobiom nese název „zapomenutý orgán“, protože jeho geny nejsou přítomny v genomu lidském (D'Argenio a Salvatore, 2015).

Většina výzkumů se zabývá studiem aerobních bakterií, protože obligátní anaeroby je obtížné kultivovat. Pro většinu (až 99%) bakterií v tlustém střevě je však kyslík toxický, vyžadují tedy anaerobní kultivaci. Mnoho funkcí mikrobioty střeva není proto známo (Maier et al., 2015).

### 2.1 VÝVOJ STŘEVNÍ MIKROBIOTY

#### **Střevní mikrobiota před narozením**

Je známo, že osídlování trávicího traktu začne ihned po porodu, poslední studie ale říkají, že tento proces začíná už během nitroděložního stádia. Mikroorganismy se tedy objevují v placentě, pupeční šňůře či mekoniu (Woodmansey, 2007; Nagpal et al., 2018; Zhuang et al., 2019).

#### **Střevní mikrobiota po narození**

Kolonizace střeva závisí na tom, jestli je dítě narozeno vaginálním porodem nebo císařským řezem. V prvním případě dochází ke kolonizaci rody *Lactobacillus*, *Bacteroides* a *Prevotella*, které pocházejí ze sliznice vaginy matky. Naopak kojenci narození císařským

řezem mají výše zmíněných bakterií méně a častěji je jejich střevo osídleno *Clostridium* (nově *Clostridioides*) *difficile*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* (Woodmansey, 2007; Nagpal et al., 2018; Zhuang et al., 2019). Střevo těchto jedinců je také více osídleno bakteriemi, které sídlí na kůži. Patří sem rod *Staphylococcus*, *Corynebacterium* a *Propionibacterium*. Rozdíly v kolonizaci potom mohou ovlivnit vznik např. alergie či astmatu. Mikrobiom dítěte v 1. roce života se už velmi podobá mikrobiomu v dospělosti (Gorkiewicz a Moschen, 2018). Ovlivnit mikroflóru střeva také může delší pobyt v nemocnici či léčba antibiotiky.

Kojení je další důležitý faktor, který má vliv na vývoj mikrobiomu. Kojenci, kteří jsou kojeni mateřským mlékem, mají ve střevě více bifidobakterií, laktobacilů, stafylokoků a streptokoků, kdežto u dětí, kterým je podávána umělá výživa, nacházíme více bakterií rodu *Bacteroides* a *Clostridium* (Woodmansey, 2007; Nagpal et al., 2018; Zhuang et al., 2019).

### **Střevní mikrobiota a stáří**

U starších lidí se nachází rozdílná střevní mikrobiota a to může být způsobeno změnou životního stylu, sníženou pohybovou aktivitou (střevní pohyblivost je také nižší), slabším imunitním systémem či užíváním léků. Další faktor souvisí s potížemi při žvýkání spojený se ztrátou zubů a svalové hmoty, jehož důsledkem je příjem nevyvážené stravy. Vyprazdňování není tak časté, což může být zapříčiněno fermentací proteinů. Tento proces poté vede ke tvorbě amoniaku a fenolu. Rozmanitost komezálů, jako je rod *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* nebo *Eubacterium*, klesá. U starší populace se v gastrointestinálním traktu nacházejí pouze jeden až dva druhy z rodu *Bifidobacterium*, a to *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium angulatum* či *Bifidobacterium longum*. Tyto bakterie mají sníženou adhezivní schopnost ke sliznici střeva. *Clostridium perfringens*, *Clostridioides difficile* a fusobakterie jsou naopak zastoupeny častěji. Dalším faktorem je geografická lokace. V západních zemích je více kladen důraz na užívání probiotik (Woodmansey, 2007; Nagpal et al., 2018; Zhuang et al., 2019).

## **2.2 VÝZNAM ANAEROBNÍCH BAKTERIÍ VE ZDRAVÉM STŘEVĚ**

Mikrobiální rozmanitost je důležitá pro zdraví jedince (D'Argenio a Salvatore, 2015). Komezálové gastrointestinálního traktu mají mnoho funkcí. Regulují ukládání tuků nebo stimulují angiogenezi ve střevě. Mezi další funkce patří výměna živin a vyvolání vrozené

imunity (Eckburg et al., 2005). Střevní mikrobiota je důležitá pro vývoj střevní sliznice a imunitního systému, poskytuje také energii a živiny rozkladem pro člověka nestravitelných zbytků (Maier et al., 2015; Thursby a Juge, 2017). Bakterie ve střevě štěpí komplexní sacharidy pomocí enzymů na metabolické produkty, což jsou často mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA, short chain fatty acids), jako je acetát, propionát nebo butyrát v poměru 3:1:1. Epiteliální buňky nacházející se ve střevě, které se účastní apoptózy, chemotaxe a dalších reakcí, tyto SCFA ve velké míře pohlcují. Propionát je produkován hlavně kmenem *Bacteroidetes* a převážným producentem butyrátu je kmen *Firmicutes*, např. *Eubacterium rectale* a *Eubacterium hallii* se z velké části podílí na jeho tvorbě. Butyrát poskytuje energii kolonocytům. Dokáže vyvolat apoptózu nádorových buněk (má tedy protirakovinné účinky), aktivovat glukoneogenezi ve střevě a má protizánětlivé účinky. Propionát je ve velké míře metabolitem anaerobní bakterie *Akkermansia muciniphila* a podílí se na regulaci glukoneogeneze v játrech. Acetát se ve střevě tvoří nejvíce a je to esenciální látka důležitá pro růst ostatních bakterií. Dostává se do periferních tkání (na rozdíl od butyrátu a propionátu), ve kterých reguluje metabolismus cholesterolu a lipogenezi. Acetát i butyrát mají lipogenní účinek. Další funkcí SCFA je regulace imunitního systému a zánětlivé reakce. Příkladem je ovlivnění tvorby cytokinů (např. interleukin 18 ovlivňuje epitel). Ovlivňují také chuť k jídlu. Metabolity bakterií, které nepatří do SCFA, mají vliv na funkci bariéry střeva nebo na proliferaci epitelu (Thursby a Juge, 2017; Valdes et al., 2018; Singh, 2019). Mezi jejich další vlastnosti patří to, že mohou inhibovat expresi genů virulence patogenů z čeledi *Enterobacteriaceae*. Příkladem může být snížení exprese genů virulence patogenu *Salmonella enterica* butyrátem. Tyto SCFA také snižují pravděpodobnost napadení hostitelské buňky či vyvolání její apoptózy. Dalším metabolickým produktem může být laktát, který lokálně snižuje pH, které je pro střevní patogeny nevlídným prostředím. Acetát a propionát jsou látky detekovatelné i z krve, což naznačuje spojitost mezi střevní mikrobiotou, celkovým zdravím a homeostázou (Lawley a Walker, 2013).

Ve střevě převažuje anaerobní prostředí, takže nízký redox potenciál snižuje virulenci mnoha patogenů. Dalším ochranným metabolitem před nežádoucími bakteriemi jsou látky zvané bakteriociny (složením peptidy), které mohou mít úzké i široké spektrum baktericidní účinnosti proti patogenům, jako je *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Clostridium botulinum*, *C. difficile* nebo *C. perfringens*. Bakteriociny by proto mohly fungovat jako antibiotika s úzkým spektrem účinku, které by potlačily pouze patogeny a nikoliv ostatní mikrobiotu (Lawley a Walker, 2013). Bakterie také chrání epitel tím, že jsou navázány na

vazebná místa buněk epitelu, na které patogeny poté neadherují. Dalším ochranným mechanismem je soutěžení o dostupné živiny (Maier et al., 2015).

Střevní bakterie jsou důležitým producentem vitamínů, které si naše tělo nedokáže vytvořit samo. Kyselina listová je důležitá pro syntézu i opravu DNA a je produkována bifidobakteriemi. Mezi další vitamíny bakteriálního původu patří vitamín B12, K, riboflavin, biotin a další (Thursby a Juge, 2017).

Narušení symbiózy s mikroorganismy a mezi nimi vede k zánětlivým střevním onemocněním, celiakii, kolorektálnímu karcinomu či obezitě. Střevo hraje důležitou roli v imunitním systému. Jeho úkolem je udržovat homeostázu, tzn. vyvolat imunitní odpověď po vniknutí cizorodých látek a tolerovat ty neškodné. Komunikace mezi mikrobiálními komezály, střevními epiteliálními buňkami a imunitními buňkami střeva je tedy důležitá k docílení rovnováhy mezi těmito mechanismy (Maier et al., 2015).

*Bacteroides thetaiotaomicron* je významný zástupce střevní mikrobioty, který rozkládá polysacharidy, zejména ty ze sliznice. Jeho hlavními metabolity jsou propionát a acetát. *Faecalibacterium prausnitzii* tento acetát spotřebuje a vytvoří butyrát, kterého se vytvoří více právě v přítomnosti *B. thetaiotaomicron*. Mastné kyseliny s krátkým řetězcem ovlivňují syntézu mucinu. *B. thetaiotaomicron* zvyšuje diferenciaci pohárkových buněk (budou se tedy více tvořit). Může také vyvolat fukosylaci epiteliálních buněk střeva, což je spojováno s následným využitím fukózy (Wrzosek et al., 2013). Dále hraje roli v imunitním systému, kde tlumí expresi prozánětlivých cytokinů. Stimuluje produkci peptidů, které mají antimikrobiální účinek na patogeny již zmíněné (Maier et al., 2015). *B. thetaiotaomicron* a *F. prausnitzii* se také podílejí na tvorbě hlenu (Thursby a Juge, 2017).

Imunitní odpověď, díky které je omezen vstup a množení patogenů, závisí na přítomnosti *B. fragilis*. Zwitterionické polysacharidy *B. fragilis* mohou aktivovat CD4+ T-lymfocyty, které produkují interleukin 10 (IL-10), který preventivně působí proti vzniku zánětu či abscesů. Dále je produkován gama interferon, IL-2 a IL-12. Z důvodu přítomnosti obou nábojů se ZPS mohou vázat na molekuly antigen prezentujících buněk hlavního histokompatibilního komplexu II a poté mohou být prezentovány receptorům T-lymfocytů (Wexler, 2007).

## 2.3 ANAEROBNÍ STŘEVNÍ BAKTERIE ZPŮSOBUJÍCÍ STŘEVNÍ ONEMOCNĚNÍ

Anaerobní bakterie mohou způsobovat nejrůznější infekční onemocnění s vysokou morbiditou a mortalitou. Většina anaerobních mikroorganismů způsobujících onemocnění běžně kolonizuje člověka (Wexler, 2015). Střevní patogenní bakterie narušují zdravou mikrobiotu, což vede ke vzniku zánětu a průjmu. Stolicí se patogen dostává do okolního prostředí, takže může dojít k nakažení dalších jedinců. Průjmové infekce jsou problémem v rozvojových zemích (způsobené hlavně patogenními enterobakteriemi), ale i ve vyspělých zemích (způsobené převážně *C. difficile*; Lawley a Walker, 2013).

### 2.3.1 Průjem a pseudomembranózní kolitida

*Clostridioides difficile* způsobuje průjem vyvolaný antibiotickou léčbou, který může vést až k závažnému onemocnění ohrožující život zvané pseudomembranózní kolitida. Rizikovým faktorem může být klindamycin a linkomycin či širokospektré cefalosporiny, které jsou častěji užívány. Riziková je ale řada antibiotik tím, že rozvrací normální mikrobiotu a uvolněnou niku střeva pak kolonizují právě klostridie, které jsou na tato antibiotika rezistentní. K nákaze dochází většinou z okolí a je častá u starších pacientů a u pacientů, kteří byli delší dobu hospitalizováni. Opakované infekce jsou velmi časté a střevo může být postiženo až 3 měsíce. Nejčastější bakterií vyvolávající průjem získaný v nemocnici je právě *C. difficile* (Riley, 2012).



**Obrázek 5** Pseudomembranózní kolitida (Riley, 2012)

### 2.3.2 Otrava jídlem způsobená *Clostridium perfringens* a nekrotizující enteritida

Kontaminovanou potravinou obvykle bývá maso, protože *C. perfringens* je bakterie přítomná u zvířat. Při chladnutí uvařeného masa dochází k množení spor rezistentních na teplo. Pokud dojde k požití kontaminovaného masa, tak se patogen dostane až do střeva. Kyselé prostředí žaludku ho nezničí, protože je chráněn bílkovinou z masa. *C. perfringens* typ A (ale i B a D; Votava et al., 2006) produkuje enterotoxin, který způsobuje průjem a bolesti břicha. Horečka či zvracení nejsou častými projevy. Příznaky se objeví do 12 hodin po přijmutí potravy a odezní do dvou dnů (Riley, 2012), nicméně u starších či oslabených jedinců může dojít až ke smrti. U zdravých lidí není třeba léčby. Množství klostridií, které způsobí otravu jídlem, se odhaduje na  $10^6$ - $10^8$  CFU (Adams, 2016).

Enterotoxin je produkován sporulujícími buňkami, v malé míře i vegetativními. Je sensitivní na některé proteolytické enzymy a jeho aktivita může být zastavena zahřátím na 60°C po dobu 10 minut ve fyziologickém roztoku. Způsobuje rozpad buněk, protože v membráně produkuje póry, které ji poruší (Adams, 2016).

*Clostridium perfringens* typ C, který tvoří  $\beta$ -toxin (Votava et al., 2006), způsobuje nekrotizující kolitidu (pigbel). Tato nemoc je typická pro domorodce Nové Guiney, kteří při slavnostech konzumují vepřové maso spolu se sladkými brambory, které obsahují inhibitory proteáz (trypsinu). U těchto lidí je také nižší koncentrace střevního trypsinu, takže jsou ke vzniku nemoci více náchylní. Pokud tedy dojde k požití kontaminovaného masa, tak zmíněný toxin napadá tenké střevo a vyvolá nekrotizující enteritidu. Očkování však snížilo četnost tohoto onemocnění (Riley, 2012; Adams, 2016).

### 2.3.3 Kolorektální karcinom

Kolorektální karcinom je třetí nejčastěji diagnostikovaný typ rakoviny a čtvrté nejčastější rakovinné onemocnění způsobující smrt. Nepochybně s tímto onemocněním souvisí změněná střevní mikrobiota (Gorkiewicz a Moschen, 2018). V poslední době však klesá morbidita a mortalita díky screeningovým testům, prevenci a léčbě. Mezi předpoklady ke vzniku rakoviny kolorekta patří střevní zánětlivá onemocnění, polypy či dysplazie (Zamani et al., 2020).

Při tomto onemocnění se ve střevě může nacházet více některých bakterií. Mezi tyto organismy patří např. rod *Fusobacterium*, který může přímo nebo nepřímo ovlivnit vznik rakoviny. Zjistilo se, že se ve větší míře nachází ve stolici lidí s karcinomem než u zdravých

lidí. S kolorektálním karcinomem je nejčastěji spojován zástupce *F. nucleatum*, který se vyskytuje ve větším množství v počáteční fázi tvorby nádoru. Může také přispět ke vzniku karcinomu pankreatu nebo spinocelulárnímu karcinomu dutiny ústní (Gholizadeh et al., 2017). Mezi prvními bakteriemi, nad kterými se přemýšlelo ve spojitosti s rakovinou tlustého střeva a konečníku, bylo právě *F. nucleatum*. Existuje několik mechanismů vzniku karcinomu, např. antigen FadA *F. nucleatum* je ligandem pro E-kadherin nacházející se na epiteliálních buňkách střeva, poté dochází k aktivaci  $\beta$ -kateninové cesty, což vede k nekontrolovatelnému růstu buněk (Gorkiewicz a Moschen, 2018).

Mezi další mikroorganismy související s touto nemocí patří enterotoxigenní *Bacteroides fragilis*, který se nachází i u zdravých lidí a jehož enterotoxinem je metaloproteáza, která ke své aktivitě potřebuje zinek (Sheila, 2015).

#### 2.3.4 Zánětlivá střevní onemocnění

Stejně jako u kolorektálního karcinomu, tak i u zánětlivých onemocnění střev může být rizikovým faktorem enterotoxigenní *Bacteroides fragilis*, který je detekovatelný ze stolice a ze vzorků biopsie. Podobně jako *Fusobacterium nucleatum* aktivuje  $\beta$ -kateninovou cestu a podporuje produkci IL-8 v epiteliálních buňkách střeva (Zamani et al., 2020). Svoji roli při vzniku onemocnění hraje i životní styl a stravování jedince. Příjem průmyslově zpracovaných potravin, velkého množství živočišných tuků a bílkovin a nedostatek vlákniny svým dílem přispívá ke vzniku onemocnění. Do této skupiny nemocí patří Crohnova choroba a ulcerózní kolitida a jejich četnost po celém světě stoupá. V rámci těchto onemocnění byla střevní mikrobiota více prozkoumána. Mikrobiom u nemocných není tak stálý jako u zdravých lidí, zvýšený výskyt bakterií je z čeledi *Enterobacteriaceae* a *Pasteurellaceae* a naopak nižší výskyt je pozorován u řádu *Bacteroidales* a *Clostridiales*. Ochranní komenzálové se tedy vyskytují méně a k povrchu sliznice střeva méně adherují (Gorkiewicz a Moschen, 2018).

## 2.4 ANAEROBNÍ STŘEVNÍ BAKTERIE JAKO PROBIOTIKA

Probiotika jsou živé mikroorganismy, které mají prospěšný vliv na lidský organismus, pokud jsou užívány ve správné dávce (Sen a Mansell, 2020). Užívají se ve formě doplňků stravy. Probiotiky se zabývalo už hodně studií. Jsou schopné pozměnit složení mikrobioty nebo její metabolismus. Mečnikov byl prvním vědcem, který na počátku 20. století mluvil o živých



mikroorganismech obsažených ve fermentovaném mléce podporujících lidské zdraví (Woodmansey, 2007).

Jak už bylo zmíněno v kapitole o významu střevních anaerobních bakterií, tak jejich přítomnost je důležitá pro tvorbu SCFA a dalších metabolitů majících nízké pH, které brání průniku patogenů a stejně tak produkují bakteriociny. Zlepšují humorální imunitu, čímž je podpořena imunologická střevní bariéra. Jsou schopné regulovat imunitní odpověď a tím snížit přecitlivělost na různé potraviny nebo zmírnit projevy atopického ekzému. Tyto bakterie musí umět bojovat o dostupné živiny, aby byly schopné ve střevním traktu přežít. Růst a přežití probiotických kmenů také pozitivně ovlivňují prebiotika (Woodmansey, 2007). Jsou schopné syntetizovat antioxidanty působící proti rakovinotvorným buňkám (Lin et al., 2019).

Mezi tradiční probiotika patří z největší části zástupci rodu *Bifidobacterium*, patřící do kmene *Actinobacteria* a fakultativně anaerobní rod *Lactobacillus*, patřící do kmene *Firmicutes*. *Streptococcus* spp. či kvasinky bývají také součástí probiotik. Tradiční probiotika odkazují na naše předky, kteří jedli fermentované mléčné produkty obsahující bakterie mléčného kvašení (Lin et al., 2019). Bifidobakterie jsou hojně přidávány do potravin mléčného původu, jako jsou jogurty, mléko, sýry nebo do stravy pro kojence. Jejich patogenní působení je skoro nulové. Bifidobakterie se v žaludku setkají s nízkým pH, které může ovlivnit jejich životaschopnost. Obecně druhy bifidobakterií kolonizující GIT lidí jsou k nižšímu pH více náchylnější než *B. animalis*. Kyselejší prostředí také tolerují probiotické bakterie *B. bifidum* a *B. longum*, zejména *B. longum* subsp. *infantis*. Bifidobakterie mohou snižovat koncentraci cholesterolu v séru a jedním z důvodů může být hydrolýza žlučových solí. Další cesty, jakými pomáhají snižovat hladiny cholesterolu, nejsou objasněny. Mezi další přednosti bifidobakterií patří ty již popsané výše v předchozích kapitolách (Russel et al., 2011).

Další skupinou probiotik jsou probiotika nové generace, která by obsahovala další kmény obsažené v lidské mikrobiotě a mohla by být specializována na určité onemocnění (jako je prevence před nemocemi trávicího traktu, alergií či ekzémem) nebo se zaměřením na těhotné a kojící ženy. Při výběru nových kmenů je nejdůležitější jejich bezpečnost. Mezi navrhované organismy patří např. *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Prevotella copri*, bakterie rodu *Clostridium* či *Bacteroides* a další (Lin et al., 2019).

## 3 PREVENCE, LÉČBA A LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA STŘEVNÍCH ANAEROBNÍCH INFEKČÍ

### 3.1 PRŮJEM A PSEUDOMEMBRANÓZNÍ KOLITIDA

#### Prevence

Hlavním preventivním opatřením je léčba antibiotiky po dobu nezbytně nutnou a pouze pokud je to opravdu potřeba. Preferencí jsou také antibiotika s úzkým spektrem účinku. Samozřejmě je důležitá hygiena pracovníků ve zdravotnických zařízeních, mytí rukou před a po ošetření pacientů a použití ochranných rukavic (Hunt a Thomas, 2006). Pokud dojde ke vzniku průjmu během pobytu v nemocnici a navíc má pacient nasazenou antibiotickou léčbu, je zde pravděpodobnost vzniku infekce způsobené *Clostridioides difficile* (Riley, 2012).

#### Léčba

Klíčové pro uzdravení je zahájit léčbu co nejrychleji. Prvním krokem léčby je zastavení růstu *C. difficile* a produkce toxinu tím, že pacient přestane užívat antibiotika, která přispěla ke vzniku onemocnění. Následně je pacientovi podáván vankomycin nebo metronidazol (Riley, 2012). Metronidazol se podává orálně 3x denně a to po dobu až 14 dnů. Pokud je *C. difficile* rezistentní na metronidazol, zahájí se léčba vankomycinem, který pacient bere 4x denně v rozmezí od jednoho do dvou týdnů. Léčbu je možno podpořit probiotiky, není na to ale dostatek studií, jestli je to účinné. Pokud nedojde ke zlepšení, možností je i operace (Hunt a Thomas, 2006).

#### Laboratorní diagnostika

Toxiny lze prokázat enzymovou metodou ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) či imunochromatograficky. Při stanovení toxinu metodou ELISA reaguje toxin (antigen) se specifickou protilátkou za vzniku imunokomplexu, díky kterému dojde ke změně barvy substrátu. *Clostridium difficile* je producentem enzymu glutamátdehydrogenázy (GDH), který při stanovení představuje antigen reagující se specifickou protilátkou. GDH však neprokáže přítomnost samotného toxinu (Shetty et al., 2011; Pérez-Topete et al., 2016). Tyto metody jsou snadnější na provedení a také levnější než PCR (polymerase chain reaction, polymerázová řetězová reakce), proto je právě ELISA metoda nejhojněji používána i přes to, že nevykazuje

tak vysokou senzitivitu a specifitu, jako PCR (Pérez-Topete et al., 2016). Většina testů dokáže stanovit pouze jeden z genů toxinů *C. difficile*, což znamená, že pokud nějaký kmen obsahuje pouze jeden toxin, tak nemusí dojít k jeho záchytu. Bélanger et al. (2003) vyvinul real-time PCR sloužící k přímé detekci genů *tcdA* i *tcdB*, tzn. všech kmenů *C. difficile* produkujících toxiny.

## 3.2 OTRAVA JÍDLEM ZPŮSOBENÁ *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* A NEKROTIZUJÍCÍ ENTERITIDA

### Prevence

Důležitou prevencí je uchování připraveného masa v chladu (Adams, 2016). Dále užívání probiotik, protože studie na zvířatech prokázala schopnost probiotik snížit růst a produkci toxinů *Clostridium perfringens* ve střevě. Prebiotika by také mohla být součástí prevence před vznikem enteritidy vyvolané *C. perfringens*, jejich účinek však není přesně znám. Další výzkumy prebiotik a jejich preventivních účinků by mohly specifikovat výběr a dávku probiotik, a tím předcházet vzniku tohoto onemocnění. Prebiotika jsou pro člověka nestravitelné složky potravy (nestravitelné sacharidy), které podporují kolonizaci střeva bakteriemi příznivými pro střevo. Podáváním probiotik by se tedy růst těchto komenzálů zvýšil a naopak růst *C. difficile* i produkce jeho toxinu by se snížila. Jak už bylo popisováno v jiných kapitolách, tak nestravitelné sacharidy bakterie ve střevě štěpí na SCFA, které mohou snižovat pH a tím potlačit růst patogenních organismů. Mezi prebiotika patří fruktooligosacharidy, inulin, pektin, arabinogalaktan a další (Allaart et al., 2013).

### Léčba

Onemocnění je většinou život neohrožující a k uzdravení dojde během 1-2 dnů. K horšímu průběhu či smrti dochází raritně, a to hlavně u lidí se sníženou funkcí imunitního systému a starších lidí a také v případě vzácných nekrotizujících enteritid (Lindström et al., 2011).

### Laboratorní diagnostika

*Clostridium perfringens* na agaru obsahujícím železo a cykloserin pozorujeme jako černé kolonie, protože redukuje sulfát na sulfid železnatý. Testuje se také pohyblivost

a schopnost kolonií redukovat dusičnany a fermentovat laktózu. Někdy však nedojde ke tvorbě černých kolonií, místo toho se vytvoří kolonie světle zbarvené, takže mohou vzniknout falešně negativní výsledky. Na krevním agaru tvoří dvojistou  $\beta$ -hemolýzu. Detekce enterotoxinu *C. perfringens* je jako u *C. difficile* možná pomocí metody PCR (Lindström et al., 2011).  $\alpha$ -toxin (lecitináza) zachycuje Naglerova reakce využívající žloutkový agar (Adams, 2016).

### 3.3 KOLOREKTÁLNÍ KARCINOM

#### Prevence

Prevence a brzké odhalení tohoto onemocnění je klíčové pro snížení morbidity a mortality. Obecně můžeme prevenci rozdělit na primární, sekundární a terciální. Primární prevence se zaměřuje na předcházení vzniku onemocnění, sekundární prevence ovlivňuje případnou recidivu onemocnění nebo jeho další vývoj a terciální prevence se zabývá chronickým onemocněním (Fletcher et al., 2018). Důležitý je způsob stravování, neboť potraviny obsahující vlákninu (zelenina, ovoce a celozrnné potraviny) mají pozitivní vliv na organismus a vývoj mikrobioty střeva a mohou tak předcházet vzniku rakoviny. V rámci prevence je také vhodné konzumování ryb alespoň jednou týdně. Obézní lidé patří do rizikové skupiny pro vznik tohoto onemocnění, takže společně se zdravou stravou je důležitý pohyb, který následně souvisí se zvýšenou střevní pohyblivostí. Nekouřit patří také mezi důležitá rozhodnutí mající vliv na prognózu (Stockenhuber a East, 2019). Další možností jsou probiotika, konkrétně bifidobakterie, nejsou ale dosud žádné studie potvrzující účinek na lidech, pouze na zvířatech (Russell et al., 2011). Mezi látky, které mají protirakovinné účinky, patří vitamín D a kurkumin nebo polynenasycené mastné kyseliny mořského původu. Nedostatek vitamínu D se často vyskytuje právě u kolorektálního karcinomu a u zánětlivých onemocnění střev. Kurkumin je látka rostlinného původu, která povzbuzuje imunitní systém (Fletcher et al., 2018). Aspirin je nesteroidní protizánětlivý lék, který je součástí chemoprevence mající vliv na snížení rizika vzniku onemocnění. Podílí se ale na zvýšeném krvácení, takže jeho užívání není často doporučováno. Důležitou prevencí jsou screeningové testy, kam řadíme test na okultní krvácení ve stolici a imunochemické testování stolice. Pokud je výsledek pozitivní, tak pacient podstoupí kontrolní kolonoskopii. Ne pokaždé však dochází ke krvácení, i pokud má pacient nějaké rakovinné léze (Stockenhuber a East, 2019).

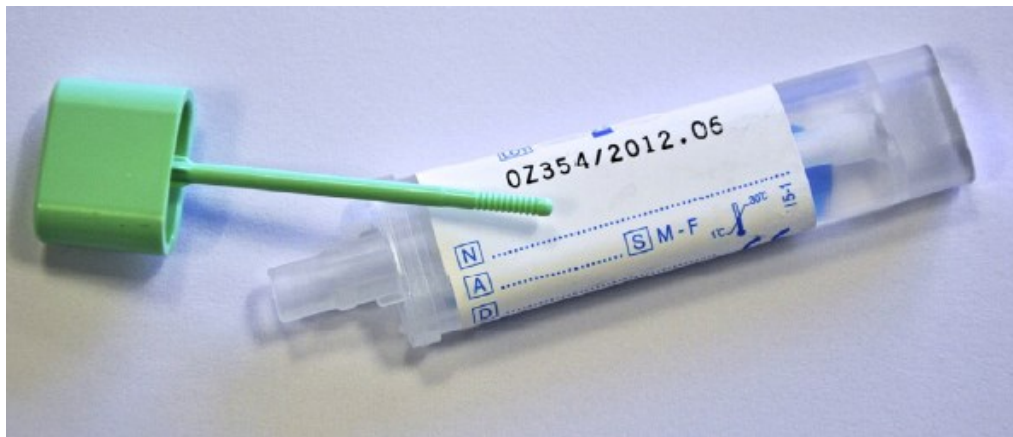
## Léčba

Nejčastějším způsobem léčby je operace. Chemoterapie není pro tento typ rakoviny moc typická a většinou se zahajuje až po operaci (Frankenfeld et al., 2020). Tento postup se označuje jako terapie adjuvantní. Při neoadjuvantní léčbě se nejprve začíná radioterapií či chemoterapií, čímž dojde ke zmenšení nádoru a až poté následuje operace (Buccafusca et al., 2019). Při chemoterapii je pacient léčen např. 5-fluorouracilem, kapecitabinem a oxaliplatinou. Snížit efekt léčby těmito léky může větší množství *Fusobacterium nucleatum*. Další možností je fekální mikrobiální transplantace, což je metoda zahrnující transplantaci stolice od zdravého dárce do těla pacienta (příjemce), která je účinná hlavně u infekcí způsobených *Clostridioides difficile*. Probiotické kmeny, které produkují látky působící proti *F. nucleatum*, mají také význam. Probiotika snižují počty patogenních bakterií rodu *Fusobacterium* a naopak podporují růst prospěšných bakterií. Stravou a pohybovou aktivitou může člověk ovlivnit nejen vznik této nemoci, ale zároveň dokáže ovlivnit léčbu a střevní mikrobiotu při probíhajícím onemocnění. Již zmiňované potraviny s vysokým obsahem vlákniny jsou důležité, protože podporují bakterie produkující SCFA, které jsou schopny potlačit rakovinné bujení (Si et al., 2020).

## Laboratorní diagnostika

Mezi dvě základní laboratorní vyšetření CRC patří test na okultní krvácení (fecal occult blood test, FOBT) a imunochemické testování stolice (fecal immunochemical test, FIT). Nejčastěji využívaným typem FOBT je guajakový FOBT (gFOBT). Guajak je extrakt z pryskyřice pocházející ze stromu *Guaiacum officinale* a v minulosti byl používán na léčbu syfilis. Později bylo zjištěno, že guajak dokáže změnit barvu v přítomnosti krve, čehož tento test využívá. Metoda gFOBT využívá peroxidázu hemu, která uvolní kyslík z peroxidu vodíku. Tento kyslík pak reaguje s kyselinou alfa-guajakovou a fenolovou sloučeninou obsaženou v guajaku za vzniku modře zbarveného chininového barviva. Cena tohoto testu není vysoká a test je snadno použitelný, má však řadu nevýhod. Zachycuje i hem zvířecího původu (z potravy), protože molekuly hemu lidí a zvířat jsou shodné. Dalším faktorem ovlivňujícím testování je peroxidáza některé zeleniny (např. brokolice a křen) a antioxidant (vitamín C), který reaguje s peroxidázou, což vede ke vzniku falešně negativních výsledků. Ovlivněné výsledky testu mohou být také u pacientů užívající warfarin nebo aspirin, protože dochází k častějšímu krvácení. Test se vyhodnocuje vizuálně na základně změny barvy. Tato metoda má nízkou analytickou senzitivitu a specificitu a nezaznamená nízké koncentrace hemu. FIT (také znám pod názvem iFOBT, immunochemical fecal occult blood test) využívá globin místo

hemu. Principem metody je použití protilátek namířených proti globinu za tvorby agregátu, což umožňuje turbidimetrické či spektrofotometrické stanovení. Test je tedy možno vyhodnotit i kvantitativně, získá se tak koncentrace hemoglobinu ve stolici. Kvalitativní detekce je opět založena na odečtení zabarvené linie. Součástí odběrové nádoby je plastová tyčinka, kterou se nabere vzorek stolice. Výhodou oproti gFOBT je odběr pouze jednoho vzorku stolice místo tří. Dokáže detekovat i nízké koncentrace hemoglobinu a strava test neruší, nevýhodou je jeho vyšší cena než u gFOBT. Analytická senzitivita a specifita testu je vyšší než u gFOBT. Vyšetření s nejvyšší specificitou a senzitivitou stále zůstává kolonoskopie (Halloran, 2009; Carroll et al., 2014). *Fusobacterium nucleatum* je mikroorganismus, který se může podílet na vzniku rakoviny. Jeho přítomnost může indukovat tvorbu sérových protilátek, které je možno prokázat nepřímou verzí metody ELISA. Další možností je detekce DNA *F. nucleatum* ze stolice metodou PCR (Wang et al., 2016).

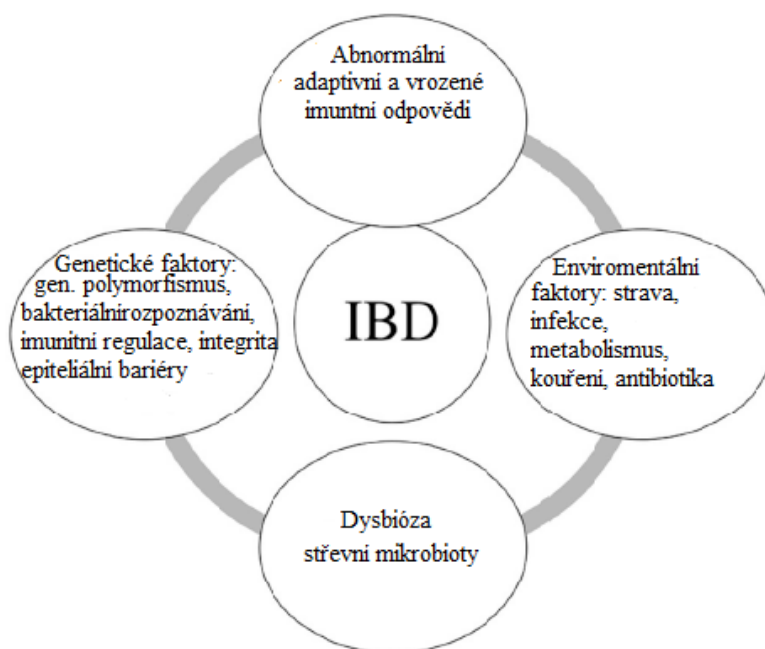


**Obrázek 6** Odběrová nádoba na stolici pro stanovení FIT (Carroll et al., 2014)

### 3.4 ZÁNĚTLIVÁ STŘEVNÍ ONEMOCNĚNÍ

#### Prevence

Stejně jako u CRC hraje u těchto onemocnění klíčovou roli způsob stravování (Gorkiewicz a Moschen, 2018). Jak popisuje obr. 9, ke vzniku onemocnění přispívají i faktory genetické, antibiotika či kouření, následně vedoucí ke vzniku dysbiózy střevní mikrobioty.



**Obrázek 7** Faktory ovlivňující vznik IBD (Aggeletopoulou et al., 2019)

#### Léčba

Existuje mnoho terapeutických přístupů k léčbě zánětlivých střevních onemocnění včetně užívání probiotik, prebiotik, postbiotik či synbiotik až po fekální mikrobiální transplantaci. Antibiotika se používají při léčbě dalších potíží, mezi které patří píštěle nebo vředy (Reinoso Webb et al., 2016). Léčení antibiotiky je však nevyzpytatelné, mohou sice v některých případech zabránit znovuobjevení příznaků onemocnění, na druhou stranu ale negativně ovlivňují složení mikrobioty a jejich nadužívání může být naopak příčinou vzniku zánětlivých onemocnění. Prebiotika působí na růst příznivých bakterií a produkci SCFA, které pozitivně ovlivňují zánětlivou sliznici střeva. Mezi nejčastěji používané probiotické kmeny

patří *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* a *Enterococcus*. Postbiotika jsou metabolické produkty bakterií ve střevě a mohou stimulovat protizánětlivou imunitní odpověď. Synbiotika jsou kombinací prebiotik a probiotik. Studie říkají, že synbiotika by mohla být účinná v léčbě akutní i chronické Crohnovy choroby a v udržování ulcerózní kolitidy ve stadiu remise (Aggeletopoulou et al., 2019). Pacienti jsou léčeni nejčastěji sulfasalazinem, mesalazinem nebo steroidy a to perorálně či klystýry (Scholmerich, 2006).

### **Laboratorní diagnostika**

Metodou ELISA se ze stolice stanovuje kalprotektin, což je protein obsažený v cytosolu neutrofilů. Při zánětu se neutrofilly aktivují, putují do střevní sliznice a uvolňují právě kalprotektin. Principem metody je reakce specifické protilátky navázané na mikrotitrační destičce s kalprotektinem (Simioni et al., 2019). Tento marker je velice senzitivní, ne však specifický, protože jeho koncentrace může být zvýšená i u potravinových alergií. Mezi další markery značící zánět patří plazmatický C-reaktivní protein (CRP), zvýšená sedimentace erytrocytů a snížená koncentrace albuminu (Daniluk et al., 2019).



## ZÁVĚR

Cílem práce bylo charakterizovat striktně anaerobní bakteriální zástupce kolonizující střeva a popsat jejich význam.

Ve střevě se vyskytuje velké množství rodů anaerobních bakterií, pro účely této práce byly vybrány ty nejvýznamnější a nejčastěji se vyskytující, a to rody *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Peptococcus* a *Peptoniphilus*. Zmíněné rody jsou rozlišovány na základě Gramova barvení, morfologie a sporulace. Jediným rodem tvořící spory je rod *Clostridium* (*Clostridioides*). Každý rod je popsán obecnou charakteristikou, biochemickými vlastnostmi, výskytem, faktory patogenity, mikroskopickými a kultivačními vlastnostmi. Mnoho uvedených rodů se kromě střeva vyskytuje také na sliznici genitourinárního traktu nebo dutiny ústní. Mezi hlavní zjištěné biochemické vlastnosti patří schopnost degradace sacharidů na mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA) nebo jiné metabolity. Většina zástupců je kataláza negativní, což vyplývá z jejich anaerobního metabolismu.

Druhá kapitola je věnována významu těchto komenzálů ve smyslu pozitivním i negativním. Účinků blahodárných mají mnoho, např. ochrana před patogeny a karcinogenními buňkami, a to za pomoci kyselých metabolických produktů nebo antimikrobiálních látek. Stejně tak hrají roli v tvorbě vitamínů. Z těchto důvodů mají anaerobní bakterie, hlavně bifidobakterie, význam v rámci probiotik. V této části jsou taky popsána nejčastější střevní onemocnění, která mohou být vyvolána bakteriemi běžně osídlujícími střeva nebo infekce způsobené rodem *Clostridium*.

Poslední část pojednává o prevenci, léčbě a laboratorní diagnostice patologických stavů popsaných v druhé kapitole. Součástí prevence i léčby jsou často probiotika a prebiotika, která podporují střevní mikrobiotu. Dosud provedené studie však jednoznačně neprokazují jejich účinnost hlavně během léčby. Je však nesporné, že podporují mikrobiální diverzitu a jejich užívání není na škodu.

Na závěr je třeba říci, že ve střevě je důležitá rovnováha mezi komenzály. Její vychýlení z rovnovážného stavu může vést ke vzniku chorob, proto je nutné o mikrobiotu střeva pečovat,

a to ve formě kvalitní stravy (se zařazením vlákniny), pohybu, a také zahajovat léčbu antibiotiky pouze v nutných případech.

## SEZNAM LITERATURY

1. ADAMS, Martin R. *Bacterial Agents of Foodborne Illness. Food microbiology*. 4. vydání. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2016, 81 s. ISBN 978-1849739603.
2. AGGELETOPOULOU, Ioanna, Christos KONSTANTAKIS, Stelios F. ASSIMAKOPOULOS a Christos TRIANTOS. The role of the gut microbiota in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Microbial Pathogenesis* [online]. 2019, **137**, 1-10 [cit. 2020-06-12]. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.103774. ISSN 08824010. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S088240101930957X>
3. ALLAART, Janneke G., Alphons J. A. M. VAN ASTEN a Andrea GRÖNE. Predisposing factors and prevention of Clostridium perfringens-associated enteritis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* [online]. 2013, **36**(5), 449-464 [cit. 2020-05-05]. DOI: 10.1016/j.cimid.2013.05.001. ISSN 01479571. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147957113000386>
4. ARIF, N., T. DO, R. BYUN, E. SHEEHY, D. CLARK, S. C. GILBERT a D. BEIGHTON. Veillonella rogosae sp. nov., an anaerobic, Gram-negative coccus isolated from dental plaque. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* [online]. 2008, **58**(3), 581-584 [cit. 2020-03-26]. DOI: 10.1099/ijs.0.65093-0. ISSN 1466-5026. Dostupné z: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijs.0.65093-0>
5. AWASTI, N., S. K. TOMAR, S. D. POPHALY, POONAM, V. K. LULE, T. P. SINGH a S. ANAND. Probiotic and functional characterization of bifidobacteria of Indian human origin. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 2016, **120**(4), 1021-1032 [cit. 2020-06-14]. DOI: 10.1111/jam.13086. ISSN 13645072. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/jam.13086>
6. BEDNÁŘ, Marek, V. FRAŇKOVÁ, J. SCHINDLER, A. SOUČEK a J. VÁVRA. *Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie, virologie, parazitologie*. Dotisk prvního vydání. Praha: Marvil, 1996. ISBN 8594031505280.
7. BÉLANGER, Simon D., Maurice BOISSINOT, Natalie CLAIROUX, Francois. J. PICARD a Michel G. BERGERON. Rapid Detection of Clostridium difficile in Feces by Real-Time PCR. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. 2003, **41**(2), 730-734

- [cit. 2020-05-04]. DOI: 10.1128/JCM.41.2.730–734.2003. Dostupné z: <https://jcm.asm.org/content/41/2/730>
8. BUCCAFUSCA, Gabriella, Ilaria PROSERPIO, Antonino Carmelo TRALONGO, Sebastiano RAMETTA GIULIANO a Paolo TRALONGO. Early colorectal cancer: diagnosis, treatment and survivorship care. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* [online]. 2019, **136**, 20-30 [cit. 2020-05-14]. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2019.01.023. ISSN 10408428. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1040842817304511>
  9. CALATAYUD, Marta, Olivier DEZUTTER, Emma HERNANDEZ-SANABRIA, Silvia HIDALGO-MARTINEZ, Filip J. R. MEYSMAN a Tom VAN DE WIELE. Development of a host-microbiome model of the small intestine. *The FASEB Journal* [online]. 2018, **33**(3), 3985-3996 [cit. 2020-04-24]. DOI: 10.1096/fj.201801414R. ISSN 0892-6638. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fj.201801414R>
  10. CARROLL, Magdalen R. R., Helen E. SEAMAN a Stephen P. HALLORAN. Tests and investigations for colorectal cancer screening. *Clinical Biochemistry* [online]. 2014, **47**(10-11), 921-939 [cit. 2020-05-18]. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2014.04.019. ISSN 00099120. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000991201400188X>
  11. COCKBURN, Darrell W., Nicole I. ORLOVSKY, Matthew H. FOLEY, Kurt J. KWIATKOWSKI, Constance M. BAHR, Mallory MAYNARD, Borries DEMELER a Nicole M. KOROPATKIN. Molecular details of a starch utilization pathway in the human gut symbiont *E. coli* bacterium rectale. *Molecular Microbiology* [online]. 2015, **95**(2), 209-230 [cit. 2020-04-24]. DOI: 10.1111/mmi.12859. ISSN 0950382X. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/mmi.12859>
  12. DANILUK, Urszula, Jaroslaw GHOL, Milena KRASNODEBSKA, Joanna Maria LOTOWSKA, Maria Elzbieta SOBANIEC-LOTOWSKA a Dariusz Marek LEBENSZTEJN. The combination of fecal calprotectin with ESR, CRP and albumin discriminates more accurately children with Crohn's disease. *Advances in Medical Sciences* [online]. 2019, **64**(1), 9-14 [cit. 2020-06-12]. DOI: 10.1016/j.advms.2018.08.001. ISSN 18961126. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1896112618302827>
  13. D'ARGENIO, Valeria a Francesco SALVATORE. The role of the gut microbiome in the healthy adult status. *Clinica Chimica Acta* [online]. 2015, **451**, 97-102 [cit. 2020-

- 02-19]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.01.003>. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898115000170?via%3Dihub>
14. DHANASHREE, Sharika RAJASHEKHARAN, Balamurugan KRISHNASWAMY a Rajagopal KAMMARA. Bifid Shape Is Intrinsic to Bifidobacterium adolescentis. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2017, **8**, 1-12 [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00478. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.00478/full>
  15. DIETZ, David, Wael SABRA a An-Ping ZENG. Co-cultivation of Lactobacillus zeae and Veillonella cricetifor the production of propionic acid. *AMB Express* [online]. 2013, **3**(1), 1-9 [cit. 2020-06-14]. DOI: 10.1186/2191-0855-3-29. ISSN 2191-0855. Dostupné z: <http://amb-express.springeropen.com/articles/10.1186/2191-0855-3-29>
  16. DJAIS, Ariadna A., Citra Fragrantia THEODOREA, Izumi MASHIMA, Maiko OTOMO, Masato SAITOH a Futoshi NAKAZAWA. Identification and phylogenetic analysis of oral Veillonella species isolated from the saliva of Japanese children. *F1000Research* [online]. 2019, **8**, 1-19 [cit. 2020-03-23]. DOI: 10.12688/f1000research.18506.1. ISSN 2046-1402. Dostupné z: <https://f1000research.com/articles/8-616/v1>
  17. DONELLI, Gianfranco, Claudia VUOTTO, Rita CARDINES a Paola MASTRANTONIO. Biofilm-growing intestinal anaerobic bacteria. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* [online]. 2012, **65**(2), 318-325 [cit. 2020-03-04]. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2012.00962.x. ISSN 0928-8244. Dostupné z: <https://academic.oup.com/femspd/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-695X.2012.00962.x>
  18. ECKBURG, P. B., Elisabeth M. BIK, Charles N. BERNSTEIN, et al. Diversity of the Human InIntestinal Microbial Flora. *Science* [online]. 2005, **308**(5728), 1635-1638 [cit. 2020-02-28]. DOI: 10.1126/science.1110591. ISSN 0036-8075. Dostupné z: <https://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.1110591>
  19. FALAGAS, Matthew E. a Elias SIAKAVELLAS. Bacteroides, Prevotella, and Porphyromonas species: a review of antibiotic resistance and therapeutic options. *International Journal of Antimicrobial Agents* [online]. 2000, **15**(1), 1-9 [cit. 2020-03-08]. DOI: 10.1016/S0924-8579(99)00164-8. ISSN 09248579. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857999001648>

20. FEHLNER-PEACH, Hannah, Cara MAGNABOSCO, Varsha RAGHAVAN, et al. Distinct Polysaccharide Utilization Profiles of Human Intestinal *Prevotella copri* Isolates. *Cell Host and Microbe* [online]. 2019, **26**(5), 680-690 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1016/j.chom.2019.10.013. ISSN 19313128. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1931312819305372>
21. FERRARIS, Laurent, Julio AIRES, Anne-Judith WALIGORA-DUPRIET a Marie-José BUTEL. New selective medium for selection of bifidobacteria from human feces. *Anaerobe* [online]. 2010, **16**(4), 469-471 [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2010.03.008. ISSN 10759964. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S107599641000034X>
22. FIELD, Tyler R., Christopher D. SIBLEY, Michael D. PARKINS, Harvey R. RABIN a Michael G. SURETTE. The genus *Prevotella* in cystic fibrosis airways. *Anaerobe* [online]. 2010, **16**(4), 337-344 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2010.04.002. ISSN 10759964. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1075996410000600>
23. FLETCHER, Rochelle, Yi-Jun WANG, Robert E. SCHOEN, Olivera J. FINN, Jian YU a Lin ZHANG. Colorectal cancer prevention: Immune modulation taking the stage. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* [online]. 2018, **1869**(2), 138-148 [cit. 2020-05-11]. DOI: 10.1016/j.bbcan.2017.12.002. ISSN 0304419X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304419X17302172>
24. FRANKE, Thomas a Uwe DEPPENMEIER. Physiology and central carbon metabolism of the gut bacterium *Prevotella copri*. *Molecular Microbiology* [online]. 2018, **109**(4), 528-540 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1111/mmi.14058. ISSN 0950382X. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/mmi.14058>
25. FRANKENFELD, Cara L., Nirup MENON a Timothy F. LESLIE. Racial disparities in colorectal cancer time-to-treatment and survival time in relation to diagnosing hospital cancer-related diagnostic and treatment capabilities. *Cancer Epidemiology* [online]. 2020, **65**, 1-10 [cit. 2020-05-14]. DOI: 10.1016/j.canep.2020.101684. ISSN 18777821. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1877782120300187>
26. FTEITA, Dareen, Eija KÖNÖNEN, Mervi GÜRISOY, Xiaochu MA, Herman O. SINTIM a Ulvi Kahraman GÜRISOY. Quorum sensing molecules regulate epithelial cytokine response and biofilm-related virulence of three *Prevotella* species. *Anaerobe* [online]. 2018, **54**, 128-135 [cit. 2020-04-23]. DOI:

- 10.1016/j.anaerobe.2018.09.001. ISSN 10759964. Dostupné z:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1075996418301562>
27. GHOLIZADEH, Pourya, Hosein ESLAMI a Hossein Samadi KAFIL. Carcinogenesis mechanisms of *Fusobacterium nucleatum*. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [online]. 2017, **89**, 918-925 [cit. 2020-04-29]. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.02.102. ISSN 07533322. Dostupné z:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332217304924>
28. GOMES, Ana M. P. a F. Xavier MALCATA. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 1999, **10**(4-5), 139-157 [cit. 2020-04-02]. DOI: 10.1016/S0924-2244(99)00033-3. ISSN 09242244. Dostupné z:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224499000333>
29. GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, Irene, Lorena RUIZ, Miguel GUEIMONDE, Abelardo MARGOLLES a Borja SÁNCHEZ. Factors involved in the colonization and survival of bifidobacteria in the gastrointestinal tract. *FEMS Microbiology Letters* [online]. 2013, **340**(1), 1-10 [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1111/1574-6968.12056. ISSN 03781097. Dostupné z: <https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/1574-6968.12056>
30. GORKIEWICZ, Gregor a Alexander MOSCHEN. Gut microbiome: a new player in gastrointestinal disease. *Virchows Archiv* [online]. 2018, **472**(1), 159-172 [cit. 2020-02-29]. DOI: 10.1007/s00428-017-2277-x. ISSN 0945-6317. Dostupné z:  
<http://link.springer.com/10.1007/s00428-017-2277-x>
31. GUO, Pingting, Ke ZHANG, Xi MA a Pingli HE. *Clostridium* species as probiotics: potentials and challenges. *Journal of Animal Science and Biotechnology* [online]. 2020, **11**(1), 1-10 [cit. 2020-03-25]. DOI: 10.1186/s40104-019-0402-1. ISSN 2049-1891. Dostupné z: <https://jasbsci.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40104-019-0402-1>
32. HALLORAN, Stephen P. Bowel cancer screening. *Surgery (Oxford)* [online]. 2009, **27**(9), 397-400 [cit. 2020-05-18]. DOI: 10.1016/j.mpsur.2009.08.013. ISSN 02639319. Dostupné z:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0263931909001872>
33. HASHEMI GORADEL, Nasser, Siamak HEIDARZADEH, Samira JAHANGIRI, Bagher FARHOOD, Keywan MORTEZAEE, Neda KHANLARKHANI a Babak

- NEGAHDARI. *Fusobacterium nucleatum* and colorectal cancer: A mechanistic overview. *Journal of Cellular Physiology* [online]. 2018, **234**(3), 2337-2344 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1002/jcp.27250. ISSN 0021-9541. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jcp.27250>
34. HUNT, Kelly a Simon THOMAS. Recognition and treatment of pseudomembranous colitis. *Prescriber* [online]. 2006, **17**(11), 18-22 [cit. 2020-05-04]. DOI: 10.1002/psb.200617114. ISSN 09596682. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/psb.200617114>
35. ITOH, Uichi, Masaru SATO, Hironori TSUCHIYA a Isamu NAMIKAWA. Cellular fatty acids and aldehydes of oral Eubacterium. *FEMS Microbiology Letters* [online]. 1995, **126**(1), 69-74 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1995.tb07392.x. ISSN 03781097. Dostupné z: <https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.1995.tb07392.x>
36. JOHNSON, E. A. *Clostridia. Encyclopedia of Microbiology* [online]. Third Edition. Oxford: Elsevier, 2009, 87-93 [cit. 2020-03-25]. DOI: 10.1016/B978-012373944-5.00139-5. ISBN 9780123739445. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123739445001395>
37. JOVER-DÍAZ, Francisco, José M. CUADRADO, Raquel LAVEDA, Lucio ANDREU a Jaime MERINO. Porphyromonas asaccharolytica liver abscess. *Anaerobe* [online]. 2003, **9**(2), 87-89 [cit. 2020-04-24]. DOI: 10.1016/S1075-9964(03)00065-9. ISSN 10759964. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1075996403000659>
38. JUMAS-BILAK, Estelle, Jean-Philippe CARLIER, Hélène JEAN-PIERRE, Corinne TEYSSIER, Bernard GAY, Josiane CAMPOS a Hélène MARCHANDIN. Veillonella montpellierensis sp. nov., a novel, anaerobic, Gram-negative coccus isolated from human clinical samples. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* [online]. 2004, **54**(4), 1313-1316 [cit. 2020-04-24]. DOI: 10.1099/ijs.0.02952-0. ISSN 1466-5026. Dostupné z: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijs.0.02952-0>
39. KAGEYAMA, Akiko a Yoshimi BENNO. Phylogenic and Phenotypic Characterization of Some Eubacterium -Like Isolates from Human Feces: Description of Solobacterium moorei Gen. Nov., Sp. Nov. *Microbiology and Immunology* [online]. 2000, **44**(4), 223- 227 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2000.tb02487.x. ISSN



03855600. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1348-0421.2000.tb02487.x>
40. LAWLEY, Trevor D. a Alan W. WALKER. Intestinal colonization resistance. *Immunology* [online]. 2013, **138**(1), 1-11 [cit. 2020-04-27]. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2012.03616.x. ISSN 00192805. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2567.2012.03616.x>
41. LAWSON, Paul A., Crystal N. JOHNSON, Lisbeth BENGTSSON, Georgios CHARALAMPAKIS, Gunnar DAHLÉN, Edward MOORE a Enevold FALSEN. *Peptostreptococcus canis* sp. nov., isolated from subgingival plaque from canine oral cavity. *Anaerobe* [online]. 2012, **18**(6), 597-601 [cit. 2020-04-24]. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2012.10.008. ISSN 10759964. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1075996412001497>
42. LIN, Tzu-Lung, Ching-Chung SHU, Wei-Fan LAI, Chi-Meng TZENG, Hsin-Chih LAI a Chia-Chen LU. Investiture of next generation probiotics on amelioration of diseases – Strains do matter. *Medicine in Microecology* [online]. 2019, **1-2**, 1-7 [cit. 2020-04-30]. DOI: 10.1016/j.medmic.2019.100002. ISSN 25900978. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2590097819300023>
43. LINDSTRÖM, Miia, Annamari HEIKINHEIMO, Päivi LAHTI a Hannu KORKEALA. Novel insights into the epidemiology of *Clostridium perfringens* type A food poisoning. *Food Microbiology* [online]. 2011, **28**(2), 192-198 [cit. 2020-05-05]. DOI: 10.1016/j.fm.2010.03.020. ISSN 07400020. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740002010000626>
44. LIU, Jinman, Justin MERRITT a Fengxia QI. Genetic transformation of *Veillonella parvula*. *FEMS Microbiology Letters* [online]. 2011, **322**(2), 138-144 [cit. 2020-03-22]. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2011.02344.x. ISSN 03781097. Dostupné z: <https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.2011.02344.x>
45. MAIER, Eva, Rachel C. ANDERSON a Nicole C. ROY. Understanding How Commensal Obligate Anaerobic Bacteria Regulate Immune Functions in the Large Intestine. *Nutrients* [online]. 2015, **7**(1), 45-73 [cit. 2020-02-28]. DOI: 10.3390/nu7010045. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2072-6643/7/1/45>

46. MASHIMA, Izumi a Futoshi NAKAZAWA. A review on the characterization of a novel oral Veillonella species, *V. tobetsuensis*, and its role in oral biofilm formation. *Journal of Oral Biosciences* [online]. 2013, **55**(4), 184-190 [cit. 2020-03-22]. DOI: 10.1016/j.job.2013.07.002. ISSN 13490079. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1349007913000984>
47. MEGRIAN, Daniela, Najwa TAIB, Jerzy WITWINOWSKI, Christophe BELOIN a Simonetta GRIBALDO. One or two membranes? Diderm Firmicutes challenge the Gram-positive/Gram-negative divide. *Molecular Microbiology* [online]. 2020, **113**(3), 659-671 [cit. 2020-03-22]. DOI: 10.1111/mmi.14469. ISSN 0950-382X. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/mmi.14469>
48. MURPHY, Elizabeth Carmel a Inga-Maria FRICK. Gram-positive anaerobic cocci – commensals and opportunistic pathogens. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 2013, **37**(4), 520-541 [cit. 2020-04-15]. DOI: 10.1111/1574-6976.12005. ISSN 1574-6976. Dostupné z: <https://academic.oup.com/femsre/article-lookup/doi/10.1111/1574-6976.12005>
49. NAKAZAWA, Futoshi, Hiroshi MIYAKAWA, Mari FUJITA a Arihide KAMAGUCHI. Significance of Asaccharolytic Eubacterium and Closely Related Bacterial Species in the Human Oral Cavity. *Journal of Experimental and Clinical Medicine* [online]. 2011, **3**(1), 17-21 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1016/j.jecm.2010.12.008. ISSN 18783317. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878331710000549>
50. NAGPAL, Ravinder, Rabina MAINALIA, Shokouh AHMADIA, Shaohua WANG, Ria SINGH, Kylie KAVANAGH, Dalane W. KITZMAN a Hariom YADAV. Gut microbiome and aging: Physiological and mechanistic insights. *Nutrition and Healthy Aging* [online]. 2018, **4**(4), 267-285 [cit. 2020-02-21]. DOI: 10.3233/NHA-170030. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6004897/>
51. NDONGO, Sokhna, Saber KHELAIFIAA, Jean-Christophe LAGIERA a Didier RAOULTA. From anaerobes to aerointolerant prokaryotes. *Human Microbiome Journal* [online]. 2020, **15**, 1-10 [cit. 2020-03-04]. DOI: 10.1016/j.humic.2019.100068. ISSN 24522317. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S245223171930017X>
52. OELKE, Alisha M., T. G. NAGARAJA, Melinda J. WILKERSON a George C. STEWART. The leukotoxin operon of *Fusobacterium necrophorum* is not present in

- other species of Fusobacterium. *Anaerobe* [online]. 2005, **11**(1-2), 123-129 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2004.10.003. ISSN 10759964. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1075996404000939>
53. PARAISO, Ines L., Layhna S. PLAGMANN, Liping YANG, et al. Reductive Metabolism of Xanthohumol and 8-Prenylaringenin by the Intestinal Bacterium *Eubacterium ramulus*. *Molecular Nutrition & Food Research* [online]. 2018, **63**(2), 1-8 [cit. 2020-04-24]. DOI: 10.1002/mnfr.201800923. ISSN 1613-4125. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mnfr.201800923>
54. PEDERSEN, Rune M., Ea S. MARMOLIN a Ulrik S. JUSTESEN. Species differentiation of *Bacteroides dorei* from *Bacteroides vulgatus* and *Bacteroides ovatus* from *Bacteroides xylanisolvens* – Back to basics. *Anaerobe* [online]. 2013, **24**, 1-3 [cit. 2020-03-12]. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2013.08.004. ISSN 10759964. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1075996413001364>
55. PÉREZ-TOPETE, S. E., T. MIRANDA-AQUINO a J. A. HERNÁNDEZ-PORTALES. Valor predictivo positivo de la prueba de inmunoanálisis para detección de toxina A y B de *Clostridium difficile* en un hospital privado. *Revista de Gastroenterología de México* [online]. 2016, **81**(4), 190-194 [cit. 2020-06-22]. DOI: 10.1016/j.rgmx.2016.04.002. ISSN 03750906. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0375090616300337>
56. RAJILIĆ-STOJANOVIĆ, Mirjana a Willem M. DE VOS. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 2014, **38**(5), 996-1047 [cit. 2020-04-24]. DOI: 10.1111/1574-6976.12075. ISSN 1574-6976. Dostupné z: <https://academic.oup.com/femsre/article-lookup/doi/10.1111/1574-6976.12075>
57. REINOSO WEBB, Cynthia, Iurii KOBOZIEV, Kathryn L. FURR a Matthew B. GRISHAM. Protective and pro-inflammatory roles of intestinal bacteria. *Pathophysiology* [online]. 2016, **23**(2), 67-80 [cit. 2020-03-04]. DOI: 10.1016/j.pathophys.2016.02.002. ISSN 09284680. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928468016300025>
58. RILEY, T. V. *Clostridium: Gas gangrene; tetanus; food poisoning; pseudomembranous colitis. Medical Microbiology* [online]. Eighteenth edition. Churchill: Livingstone, 2012, 11 s. [cit. 2020-04-27]. ISBN 978-0-7020-4089-4. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702040894000378>

59. RODRIGUEZ, C., B. TAMINIAU, J. VAN BROECK, M. DELMEÉ a G. DAUBE. Clostridium difficile infection and intestinal microbiota interactions. *Microbial Pathogenesis* [online]. 2015, **89**, 201-209 [cit. 2020-03-30]. DOI: 10.1016/j.micpath.2015.10.018. ISSN 08824010. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0882401015301145>
60. RUSSELL, D. A., R. P. ROSS, G. F. FITZGERALD a C. STANTON. Metabolic activities and probiotic potential of bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2011, **149**(1), 88-105 [cit. 2020-04-30]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.06.003. ISSN 01681605. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160511003382>
61. SAMARKOS, Michael, Elpida MASTROGIANNI a Olga KAMPOUROPOULOU. The role of gut microbiota in Clostridium difficile infection. *European Journal of Internal Medicine* [online]. 2018, **50**, 28-32 [cit. 2020-03-30]. DOI: 10.1016/j.ejim.2018.02.006. ISSN 09536205. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0953620518300566>
62. SEN, Swastik a Thomas J. MANSELL. Yeasts as probiotics: Mechanisms, outcomes, and future potential. *Fungal Genetics and Biology* [online]. 2020, **137**, 1-8 [cit. 2020-04-30]. DOI: 10.1016/j.fgb.2020.103333. ISSN 10871845. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1087184519301665>
63. SHEILA, Patrick. *Bacteroides. Molecular Medical Microbiology* [online]. Second edition. Queen's University Belfast, Belfast, UK, 2015, 28 s. [cit. 2020-03-06]. ISBN 978-0-12-397169-2. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123971692000512?via%3Dihub>
64. SHETTY, N., M. W. D. WREN a P. G. COEN. The role of glutamate dehydrogenase for the detection of Clostridium difficile in faecal samples: a meta-analysis. *Journal of Hospital Infection* [online]. 2011, **77**(1), 1-6 [cit. 2020-06-22]. DOI: 10.1016/j.jhin.2010.07.024. ISSN 01956701. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195670110003828>
65. SCHOEFER, Lilian, Ruchika MOHAN, Annett BRAUNE, Marc BIRRINGER a Michael BLAUT. Anaerobic C-ring cleavage of genistein and daidzein by Eubacterium ramulus. *FEMS Microbiology Letters* [online]. 2002, **208**(2), 197-202 [cit. 2020-04-24]. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2002.tb11081.x. ISSN 03781097. Dostupné z:

<https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11081.x>

66. SCHOLMERICH, J. Inflammatory Bowel Disease: Pandora's Box, Present and Future. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. 2006, **1072**(1), 365-378 [cit. 2020-06-12]. DOI: 10.1196/annals.1326.026. ISSN 0077-8923. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1196/annals.1326.026>
67. SCHWIERTZ, A, G. JACOBASCH, G. JACOBASCH a M BLAUT. Influence of resistant starch on the SCFA production and cell counts of butyrate-producing Eubacterium spp. in the human intestine. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 2002, **93**(1), 157-162 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2002.01679.x. ISSN 13645072. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2672.2002.01679>
68. SI, Huifang, Qing YANG, Hong HU, Chunsheng DING, Huichao WANG a Xuhong LIN. Colorectal cancer occurrence and treatment based on changes in intestinal flora. *Seminars in Cancer Biology* [online]. 2020, 1-22 [cit. 2020-05-14]. DOI: 10.1016/j.semcancer.2020.05.004. ISSN 1044579X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1044579X20301000>
69. SILVA, V. L., M. A. R. CARVALHO, J. R. NICOLI a L. M. FARIAS. Aerotolerance of human clinical isolates of Prevotella spp. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 2003, **94**(4), 701-707 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2003.01902.x. ISSN 1364-5072. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2672.2003.01902.x>
70. SIMIONI, Juliana, Thelma L. SKARE, Ana Paula B. CAMPOS, Lorete KOTZE, Iara MESSIAS-REASON, Sergio O. IOSHII a Renato NISIHARA. Fecal Calprotectin, Gut Inflammation and Spondyloarthritis. *Archives of Medical Research* [online]. 2019, **50**(1), 41-46 [cit. 2020-06-12]. DOI: 10.1016/j.arcmed.2019.04.003. ISSN 01884409. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0188440918308245>
71. SINGH, Ravindra Pal. Glycan utilisation system in Bacteroides and Bifidobacteria and their roles in gut stability and healthsin. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2019, **103**(18), 7287-7315 [cit. 2020-03-08]. DOI: 10.1007/s00253-019-10012-z. ISSN 0175-7598. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-019-10012-z>
72. STOCKENHUBER, Krista a James E. EAST. Colorectal cancer: prevention and early diagnosis. *Medicine* [online]. 2019, **47**(7), 395-399 [cit. 2020-05-11]. DOI:

- 10.1016/j.mpmmed.2019.04.001. ISSN 13573039. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S135730391930101X>
73. SURANA, Neeraj K. a Dennis L. KASPER. The yin yang of bacterial polysaccharides: lessons learned from *B. fragilis* PSA. *Immunological Reviews* [online]. 2012, **245**(1), 13-26 [cit. 2020-03-16]. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2011.01075.x. ISSN 01052896. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-065X.2011.01075.x>
74. TAN, Huizi, Qixiao ZHAI a Wei CHEN. Investigations of *Bacteroides* spp. towards next-generation probiotics. *Food Research International* [online]. 2019, **116**, 637-644 [cit. 2020-03-08]. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.08.088. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996918307051>
75. THURSBY, Elizabeth a Nathalie JUGE. Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal* [online]. 2017, **474**(11), 1823-1836 [cit. 2020-04-27]. DOI: 10.1042/BCJ20160510. ISSN 0264-6021. Dostupné z: <https://portlandpress.com/biochemj/article/474/11/1823/49429/Introduction-to-the-human-gut-microbiota>
76. TOGO, Amadou Hamidou, Clotilde DES ROBERT, Pierre-Edouard FOURNIER, Didier RAOULT a Matthieu MILLION. « *Veillonella massiliensis* », a new anaerobic species isolated from human colostrum. *Human Microbiome Journal* [online]. 2017, **4**, 20-21 [cit. 2020-03-22]. DOI: 10.1016/j.humic.2017.05.003. ISSN 24522317. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2452231717300118>
77. VALDES, Ana M., Jens WALTER, Eran SEGAL a Tim D. SPECTOR. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *British Medical Journal* [online]. 2018, 36-44 [cit. 2020-03-08]. DOI: 10.1136/bmj.k2179. ISSN 0959-8138. Dostupné z: <http://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.k2179>
78. VAN DEN BOGERT, Bartholomeus, Oylum ERKUS, Jos BOEKHORST, Marcus DE GOFFAU, Eddy J. SMID, Erwin G. ZOETENDAL a Michiel KLEEREBEZE. Diversity of human small intestinal *Streptococcus* and *Veillonella* populations. *FEMS Microbiology Ecology* [online]. 2013, **85**(2), 376-388 [cit. 2020-03-23]. DOI: 10.1111/1574-6941.12127. ISSN 01686496. Dostupné z: <https://academic.oup.com/femsec/article-lookup/doi/10.1111/1574-6941.12127>
79. VENTURA, Marco, Francesca TURRONI, Gabriele Andrea LUGLIA a Douwe VAN SINDEREN. Bifidobacteria and humans: our special friends, from ecological to genomics perspectives. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online].

- 2014, **94**(2), 163-168 [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1002/jsfa.6356. ISSN 00225142. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.6356>
80. VESTH, Tammi, Asli OZEN, Sandra C. ANDERSEN, et al. Veillonella, Firmicutes: Microbes disguised as Gram negatives. *Standards in Genomic Sciences* [online]. 2013, **9**(3), 431-448 [cit. 2020-03-22]. DOI: 10.4056/sigs.2981345. ISSN 1944-3277. Dostupné z: <http://www.standardsingenomics.org/index.php/sigen/article/view/sigs.2981345>
81. VOTAVA, Miroslav et al. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902-8966-5.
82. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, 2010. ISBN 978-80-86850-04-8.
83. WANG, Hai-Fang, Lin-Fang LI, Song-He GUO, Qiu-Yao ZENG, Fen NING, Wan-Li LIU a Ge ZHANG. Evaluation of antibody level against *Fusobacterium nucleatum* in the serological diagnosis of colorectal cancer. *Scientific Reports* [online]. 2016, **6**(1), 1-10 [cit. 2020-06-21]. DOI: 10.1038/srep33440. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/srep33440>
84. WEXLER, H. M. Bacteroides: the Good, the Bad, and the Nitty-Gritty. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2007, **20**(4), 593-621 [cit. 2020-03-16]. DOI: 10.1128/CMR.00008-07. ISSN 0893-8512. Dostupné z: <http://cmr.asm.org/cgi/doi/10.1128/CMR.00008-07>
85. WEXLER, Hannah M. Anaerobic Infections. *Molecular Medical Microbiology* [online]. Second edition. Elsevier, 2015, 23 s. [cit. 2020-04-28]. DOI: 10.1016/B978-0-12-397169-2.00048-2. ISBN 9780123971692. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123971692000482>
86. WLODARSKA, Marta, Chengwei LUO, Raivo KOLDE, et al. Indoleacrylic Acid Produced by Commensal Peptostreptococcus Species Suppresses Inflammation. *Cell Host and Microbe* [online]. 2017, **22**(1), 25-37 [cit. 2020-04-24]. DOI: 10.1016/j.chom.2017.06.007. ISSN 19313128. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1931312817302470>
87. WOODMANSEY, E. J. Intestinal bacteria and aging. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 2007, **102**(5), 1178-1186 [cit. 2020-02-21]. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03400.x>. ISSN 1364-5072. Dostupné z:

<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2672.2007.03400.x>

88. WRZOSEK, Laura, Sylvie MIQUEL, Marie-Louise NOORDINE, et al. Bacteroides thetaiotaomicron and Faecalibacterium prausnitzii influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. *BMC Biology* [online]. 2013, **11**(1), 1-13 [cit. 2020-03-12]. DOI: 10.1186/1741-7007-11-61. ISSN 1741-7007. Dostupné z: <http://bmcbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1741-7007-11-61>
89. ZAMANI, Samin, Reza TASLIMI, Akram SARABI, Seyedesomaye JASEMI, Leonardo A. SECHI a Mohammad Mehdi FEIZABADI. Enterotoxigenic Bacteroides fragilis: A Possible Etiological Candidate for Bacterially-Induced Colorectal Precancerous and Cancerous Lesions. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [online]. 2020, **9**, 1-7 [cit. 2020-04-29]. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00449. ISSN 2235-2988. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2019.00449/full>
90. ZAMORA-CINTAS, Maribel, Mercedes MARÍN, Lidia QUIROGA, Andrea MARTÍNEZ, María Antonia FERNÁNDEZ-CHICO, Emilio BOUZA, Belén RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ a Luis ALCALÁ. Identification of Porphyromonas isolates from clinical origin using MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Anaerobe* [online]. 2018, **54**, 197-200 [cit. 2020-04-24]. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2018.06.017. ISSN 10759964. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1075996418301203>
91. ZHANG, Chengcheng, Zhiming YU, Jianxin ZHAO, Hao ZHANG, Qixiao ZHAI a Wei CHEN. Colonization and probiotic function of Bifidobacterium longum. *Journal of Functional Foods* [online]. 2019, **53**, 157-165 [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1016/j.jff.2018.12.022. ISSN 17564646. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464618306510>
92. ZHUANG, Lu, Haihua CHEN, Sheng ZHANG, Jiahui ZHUANG, Qiuping LI a Zhichun FENG. Intestinal Microbiota in Early Life and Its Implications on Childhood Health. *Genomics Proteomics & Bioinformatics* [online]. 2019, **17**(1), 13-25 [cit. 2020-02-26]. DOI: 10.1016/j.gpb.2018.10.002. ISSN 16720229. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1672022919300579>