

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra etologie a zájmových chovů



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Vliv společného soužití člověka a psa ve společné domácnosti na složení jejich střevního biomu

Diplomová práce

Mgr. Alisa Souček Loginova

Zájmové chovy zvířat

Vedoucí práce: Ing. Milena Santariová, Ph.D.

Konzultanti: Ing. Jakub Mrázek, Ph.D.

Ing. Chahrazed Mekadim, Ph.D.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv společného soužití člověka a psa ve společné domácnosti na složení jejich střevního biomu" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.04.2023

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Mileně Santariové, Ph.D. za podporu a odborné rady, Ing. Jakobovi Mrázkovi, Ph.D. a Ing. Chahrazed Mekadim, Ph.D. za pomoc s praktickou částí, mému manželovi za obětavost během celé doby mého studia a rodičům za vloženou energii a důvěru.

Vliv společného soužití člověka a psa ve společné domácnosti na složení jejich střevního biomu

Souhrn

Střevní biom je důležitou součástí těla svého hostitele, vykonávající mimo dílčích funkcí trávení i další úkoly, mezi které patří oboustranná komunikace s nervovým či imunitním systémem o přicházejících podnětech a reakcích na ně. Tyto interakce se jako celek podílí na udržování homeostáze hostitelského organismu. Střevní biom je ve svém složení i funkcích relativně stabilní, nenastane-li dlouhodobější výkyv či změna. Mezi tyto změny působící na střevní biom řadíme úpravy životního stylu, nemoci, látky modulující střevní biom či změnu v sociálních interakcích s okolním světem – lidmi i zvířaty. Interakce se psem (*Canis familiaris*), které mají kromě sociálních a psychologických i dopady na zdraví jedince, lze zařadit mezi ty nejčastější. Pes již neplní pouze pracovní úkoly, ale funguje v roli společníka lidí. Míra interakce majitele a jeho psa, stejně tak i místo pobytu psa, se však liší dle základě individuálních preferencí majitele a tím se mění i jak moc se člověk a pes navzájem ovlivňují.

Tato práce si klade za cíl srovnat střevní biomy lidí chovajících psy (uvnitř, venku) se skupinou lidí, která nikdy nepřišla do dlouhodobého kontaktu se psy a určit, jestli se jejich střevní biomy na základě přítomnosti psa a míry interakce s ním navzájem od sebe liší. Každá skupina se skládala z 15 účastníků – lidí, v případě skupin chovajících psy i jejich psů. Každý účastník vyplnil dotazník, na základě kterého byl přiřazen do jedné ze skupin, a posléze odevzdal vzorek své stolice (případně i vzorek stolice svého psa) k mikrobiologické analýze střevního biomu. Ta proběhla pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR), během které došlo k amplifikaci genu 16S rRNA, který je přítomen napříč všemi bakteriemi. Následovala elektroforéza v denaturačním gradientovém gelu (DGGE), na základě které bylo provedeno Sangereovo sekvenování. Díky sekvenování zvolených bakteriálních bandů bylo identifikováno 7 bakterií přítomných v analyzovaných vzorcích střevního biomu lidí a psů. Na základě výsledků bylo také možné říct, že se střevní biomy lidí chovajících psy liší od lidí, kteří nikdy nepřišli do dlouhodobého kontaktu psy. Majitelé psů chovaných venku a jejich psi měli podobnější střevní biom než majitele psů chovaných uvnitř a jejich psi. Výsledky byly srovnány s aktuálně dostupnou odbornou literaturou.

Klíčová slova: *Canis familiaris*, střevní mikrobiom, soužití psa a člověka, Sangerovo sekvenování, DGGE.

Effect of coexistence of man and dog in a common household on the composition of their gut microbiota

Summary

The gut microbiome has an outstanding role in its host's body by being involved in digestive processes, two-way communication with the nervous and immune systems about incoming stimuli, and forwarding reactions to them. As a whole, these interactions contribute to the maintenance of homeostasis of the host organism. The gut microbiome is relatively stable in its composition and functions unless there is a prolonged fluctuation or change. These changes affecting the gut microbiome include lifestyle modifications, diseases, substances that modulate the gut microbiome, or changes in social interactions with the outside world, with both humans and animals. Interactions with the dog (*Canis familiaris*), which have social, psychological, and physiological effects on human health, are among the most common. The dog no longer performs only work tasks but functions as a human companion. However, the degree of interaction between the owner and his dog, as well as the dog's location, varies based on the individual preferences of the owner, thus affecting how much the human and the dog interact with each other.

This work aims to compare the gut biomes of people who keep dogs (indoors or outdoors) with a group of people who have never come into prolonged contact with dogs and to determine if their gut microbiomes differ from each other based on the presence of the dog and the degree of interaction with the dog. Our three groups consisted of 15 human participants and their dogs in the case of dog-breeding groups. Each participant completed a questionnaire, was assigned to one of the groups, and submitted a sample of their stool (and of their dog, if applicable) for microbiological analysis of their gut microbiome. The samples were analysed using polymerase chain reaction (PCR), during which the 16S rRNA gene, present across all bacteria, was amplified. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) was followed by Sanger sequencing. Sequencing of the selected bacterial bands resulted in the identification of 7 bacteria present in the analysed human and canine gut microbiome samples. Based on the results, it was possible to say that the gut microbiomes of people owning dogs differ from people who have never come into long-term contact with dogs. Dogs kept outside and their owners had more similar gut microbiota compared to dogs kept inside and their owners. The obtained results were compared with the scientific literature.

Keywords: *Canis familiaris*, gut microbiome, coexistence of man and dog, Sanger sequencing, DGGE

Obsah

1	Úvod	1
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	2
3	Literární rešerše	3
3.1	Střevní biot a jeho vznik	3
3.1.1	Střevní mikrobiot u psa	4
3.1.2	Střevní mikrobiot u člověka	6
3.1.3	Srovnání střevního mikrobiotu psa a člověka	7
3.1.4	Funkce střevního mikrobiotu	7
3.1.5	Faktory ovlivňující střevní biot v dospělosti	9
3.1.5.1	Antibiotika	10
3.1.5.2	Prebiotika	10
3.1.5.3	Probiotika	11
3.1.5.4	Fermentované potraviny	11
3.1.5.5	Životní styl – strava, stres, cirkadiánní rytmus	12
3.1.5.6	Prostředí	13
3.1.5.7	Sociální interakce	13
3.1.5.8	Transplantace střevní mikroflóry	14
3.1.6	Molekulární metody výzkumu střevního biotu	14
3.2	Interakce mezi psem a člověkem	17
3.2.1	Pohled do historie (domestikace)	17
3.2.2	Dopady interakce mezi psem a člověkem	17
4	Metodika	21
4.1	Respondenti	21
4.2	Kolektivizace dat	21
4.2.1	Dotazník	21
4.2.2	Sběr vzorků	22
4.3	Analýza vzorku	22
4.3.1	Izolace DNA	22
4.3.2	Analýza bakteriálního profilu střevního mikrobiotu	23
4.3.2.1	Příprava PCR amplikonů z 16S rDNA	23
4.3.2.2	Kontrola amplikonů PCR	23
4.3.2.3	DGGE	24
4.3.2.4	Sekvence DGGE bandů	25
4.3.2.5	Sangerovo sekvenování	26
4.3.2.6	Analýza DGGE gelů pomocí BioNumerics	26

5	Výsledky	27
5.1	Výsledky dotazníku.....	27
5.2	Zpracování DNA	27
5.3	Sekvenování a identifikace druhů	30
6	Diskuze	36
7	Závěr	40
8	Literatura.....	41
9	Seznam použitých zkratk a symbolů	54
10	Seznam tabulek a obrázků	55
10.1	Tabulky	55
10.2	Obrázky.....	55
11	Samostatné přílohy.....	I

1 Úvod

Kolonie bakterií osídlující tělo svého hostitele, také nazývané mikrobiom, získávají v posledních desetiletích větší pozornost vědců, než tomu bylo dříve. Tato tendence je podmíněna odhalením široké škály funkcí a procesů kterých se biom v rámci fungování svého hostitele i sebe samotného účastní. Tyto nové poznatky a souvislosti udávají směr a rychlost výzkumu biomů. Jedním z nejdůležitějších biomů je biom trávicí soustavy, který jí osídluje v rozdílně míře a intenzitě po celé její délce. Nejvyšší koncentrace však tento biom dosahuje v tlustém střevě, z čeho vychází i jeho označení střevní biom. Střevní biom je relativně stálou kolonií bakterií, archeí, virů a prvoků osídlující vnitřní část střev svého hostitele a přinášející mu výhody v podobě ochrany před patogeny či substrátu pro jeho metabolické reakce, například mastné kyseliny s krátkým řetězcem (Sommer & Bäckhed 2013). Největší nárůst v počtu druhů vyskytujících se ve střevech probíhá během porodu a období po něm (lišící se délkou dle druhu), kdy se vytvoří stálý základ střevního biomu každého jedince. Relativní stálost střevního biomu spočívá v jeho schopnostech odolávat krátkodobým výkyvům a změnám. Změny dlouhodobějšího rázu vedou k změnám jeho složení, které mohou mít dalekosáhlé dopady na celý hostitelský organismus, jako jsou například metabolické poruchy či zvýšená náchylnost k psychiatrickým onemocněním (Dethlefsen & Relman 2011). Mezi faktory ovlivňující střevní biom lze zařadit antibiotika, probiotika, prebiotika, složení stravy, životní styl či pohlaví a místo převážného pobytu jedince. Důležitým faktorem je také sociální skupina, ve které jedinec dlouhodobě žije a míra interakce mezi jedinci této skupiny (Nicholson et al. 2012). V případě člověka tak nejde pouze o další členy rodiny, ale i o domácí zvířata, která s ním sdílí životní prostor.

Pes domácí (*Canis familiaris*, Linnaeus 1758) je pravděpodobně nejběžnějším zvířetem v péči člověka, jak z pohledu délky jeho obliby, taky i rozsahu jeho popularity na světě. Chov psa není v dnešní době jen záležitostí pracovní, obrany lidského obydlí či pomoci v chovu či lovu zvířat, ale i důležitým prvkem, který má velké množství dopadů na život svého majitele. Ze sociálního pohledu zjednodušuje kontakt majitele s ostatními lidmi, z pohledu psychologického mu poskytuje společnost, co je důležité zejména pro sociálně vyčleněnější skupiny obyvatel, ale také z pohledu fyziologického, kdy chov psa zlepšuje celkový zdravotní stav svého majitele (Jiang et al. 2022). Míra kontaktu jedince se psem se liší na základě individuální preference majitele. To má pak dopad na to, jak moc se navzájem ovlivňují biomy psa a jeho majitele (Sitarik et al. 2018).

V rámci studií, které se složením biomu zabývají, lze nalézt určitou nekonzistentnost. Ta je zapříčiněná nejen zlepšováním metod v čase, ale i jejich různou efektivitou, různým způsobem sekvenování, a nakonec i rozdílným způsobem samotného zpracování a interpretace výsledků na základě ostatních probíhajících experimentů a vydaných publikací. Pro sjednocení postupů, rozšíření povědomí o střevním biomu a jeho funkcích v těle jedince i praktické aplikaci teoretických poznatků jsou další experimenty zahrnující různé proměnné žádoucí.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotéza: Dlouhodobý úzký kontakt člověka se psem bude mít vliv na složení střevní mikroflóry. Složení střevního mikrobiomu se bude u lidí vlastnicích psa lišit od složení střevního biomu lidí, kteří psy nechovají.

Cílem práce bylo posoudit, zda společné soužití člověka a psa ovlivňuje složení jejich střevních biomů.

3 Literární rešerše

Základní funkcí každého živého systému je trávení. Jeho anatomická členitost i míra fyziologické dokonalosti již závisí na fylogenetické úrovni daného organismu. Zatímco jednobuněčné či jednoduché mnohobuněčné organismy plní tuto funkci sami, u obratlovců, konkrétně u savců, nacházíme kolonie bakterií, které se usadily v místech kontaktu vnitřního prostředí s vnějším, a zejména tam, kde je přítomen slizniční epitel. U savců nacházíme vícero míst výskytu biomu. Plicní mikrobiom vyváží podpůrnou vrstvu sloužící jako další ochranný mechanismus před patogenními bakteriemi (Beck et al. 2012). Dalším typem je vaginální biom, který vytváří nejenom bariéru pro patogeny z vnějšího prostředí ještě před jejich vniknutím hlouběji do rozmnožovací soustavy samic (Gajer et al. 2012), ale také hraje důležitou úlohu v prvotním vzniku biomu mláďat po jejich průchodu porodním kanálem (Ravel et al. 2011). Kožní biom se liší od ostatních v absenci slizničního epitelu, avšak nehledě na to jde o důležitou součást vnější bariéry chránící organismus před průnikem patogenů z vnějšího prostředí (Grice & Segre 2011). Většinu biomu nacházíme v gastrointestinální soustavě (GIT). Například u přežvýkavců nacházíme v batoru mikrobiom, účelem kterého je rozkládat buněčnou stěnu rostlinné potravy na bílkoviny a mastné kyseliny s krátkým řetězcem (Brulc et al. 2009). Ústní mikrobiom vytváří v dutině ústní tenkou vrstvu, která by jí měla chránit před antibiotiky a mechanickým stresem (Avila et al. 2009). Osídlili-li bakterie střevo, nazýváme je pojmem mikroflóra, mikrobiom nebo nejpřesněji střevní biom.

3.1 Střevní biom a jeho vznik

Střevní biom se skládá z bakterií, archeí, virů a hub (Sommer & Bäckhed 2013), kterých konkrétní zastoupení je unikátní pro každého hostitele. Závisí jak na složení biomu obdrženého od matky při porodu, tak i na stravě, životním stylu, zdravotním stavu, věku a frekvenci užívání látek přímo ovlivňujících mikrobiom, jako například antibiotika (Nicholson et al. 2012). Střevní biom je v určitém rozsahu dynamický systém, který pohotově reaguje na změny, jsou-li tyto změny výraznějšího rázu, dochází k dysbióze, v opačném případě se pouze pozmění jeho složení a tím se střevní biom adaptuje na aktuální podmínky (Dethlefsen & Relman 2011).

Dříve se věřilo, že jedinec přichází na svět se střevy bez biomu (Mitsou et al. 2008). Nynější poznatky však naznačují přítomnost bakterií *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* a *Escherichia coli* v trávicím traktu novorozence ihned po narození (Jiménez et al. 2008). To, jak jedinec přijde na svět, ovlivňuje i míru a složení jeho střevního biomu, přičemž přirozený vaginální porod tyto faktory ovlivňuje pozitivně a císařský řez naopak negativně (Penders et al. 2006; Dominguez-Bello et al. 2010). Při vaginálním porodu převažují u novorozence *Lactobacillus*, *Prevotella*, a *Atopobium*, přičemž u císařským řezu převažují v trávicím traktu novorozence bakterie přítomné zejména na pokožce matky, a to *Staphylococcus* (Ravel et al. 2011). Po porodu se otvírá důležité okno, kdy jsou jedinec a jeho pořád tvořící se biom obzvláště citliví na podněty z vnějšího světa, které mají velmi silné dopady na vývoj jeho střevního biomu (Dietz 1994; Cox et al. 2014).

K císařskému řezu se rovněž pojí brzká poporodní profylaktická administrace antibiotik matce. Tyto antibiotika se přes mateřské mléko dostávají i do oběhu novorozence a tím přímo

negativně ovlivňují jak jeho skladbu, tak i počet kolonií (Cox et al. 2014; Azad et al. 2016). Na druhou stranu jsou však známé i nemalé dopady užívání antibiotik novorozencem na jeho vlastní střevní biom, a to zejména ve spojitosti s výskytem obezity v dospělosti (Ajslev et al. 2011; Trasande et al. 2013). Konkrétní dopady a reakce střevního biomu na antibiotika se navíc liší dle jejich konkrétního typu – nízké dávky penicilínu ovlivňovaly složení střevního biomu novorozence a penicilínem neovlivněné kmeny se v pozdějším věku pojily s vznikem obezity (Cox et al. 2014). Mezi další vlivy patří změny v metabolismu sacharidů, mastných kyselin s krátkým řetězcem či regulaci jaterního metabolismu tuku a cholesterolu (Cho et al. 2012). Na druhou stranu je nutné poznamenat, že ve zvířecích velkochovech se antibiotika běžně užívají zcela běžně, a to za účelem ozdravení selat, snížení mortality i zvýšení váhového přírůstku (Cromwell 2002).

Mateřské mléko se ukázalo jako důležitý faktor pozitivně ovlivňující kvalitu novorozeneckého střevního biomu, přičemž se míra pozorovaného pozitivního efektu zvyšovala s absolutní délkou kojení (Penders et al. 2006; Cox et al. 2014; Azad et al. 2016), a to jednak díky přirozenému obsahu bakterií v mléce samotném, ale i díky kontaktu úst novorozence s pokožkou matky, na které se bakterie kožního biomu přirozeně vyskytují (Penders et al. 2006). Vlastní propojení mezi matkou a jedincem má stěžejný vliv na vyvíjející se střevní biom novorozence – kouření v těhotenství, antibiotika, váhový nárůst v těhotenství či sociální a hygienické zázemí – to vše prokazatelně ovlivňuje kvalitu střevního biomu novorozence (Putignani et al. 2014). Chybí-li možnost kojení, probiotika mohou alespoň částečně zredukovat negativní vliv nedostatku bakterií z mateřského mléka a přímého kontaktu s pokožkou matky (Salminen & Isolauri 2008).

K dalšímu vlivům na složení střevního biomu novorozence řadíme i brzkou hospitalizaci jedince, jeho mazlení a s tím pojící se kontakt nejen s rodiči, ale i sourozenci, domácími mazlíčky a měnícím se prostředím (nemocnice, domov, atd.) (Penders et al. 2006; Best & Miller 2010; Azad et al. 2013).

Vzájemný vztah hostitele a biomu je primárně symbiontní nebo komenzální (McFall-Ngai 2007), epitelové buňky ve střevech vylučují hlen, který živí na nich přisedlé kolonie bakterií, tyto bakterie zároveň produkují mastné kyseliny s krátkým řetězcem, které slouží jako výživa pro již zmiňované buňky vystylající střevo (Pilla & Suchodolski 2020). Ve střevech lze nalézt přibližně 1000 druhů bakterií, přičemž většina z nich patří k anaerobním druhům, které převažují nad aerobními a fakultativně anaerobními druhy (Sommer & Bäckhed 2013). Osídlení se zvyšuje k distálnímu konci trávicí soustavy. Nízké pH žaludku zapříčiňuje jeho nízkou míru osídlení; v duodenu jsou příčinou pankreatické šťávy a žluč; se zvyšujícím se pH roste i míra kolonizace, která dosahuje svého maxima ve tlustém střevě, kde nalezneme až 10^{12} organismů, přičemž jejich celkový počet činí okolo 10^{14} organismů (Suchodolski 2011; Sidhu & van der Poorten 2017).

3.1.1 Střevní mikrobiom u psa

Střevní biom je ve svém základě charakteristický jak pro druh, tak i pro konkrétního jedince. Stejnou variabilitu nacházíme i u střevního biomu psů, přičemž dalším důležitým vlivem je typ podávané stravy (Coelho et al. 2018). Mezi hlavní kmeny psiho střevního biomu patří Firmicutes, Fusobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria a Actinobacteria (Suchodolski et

al. 2008), přičemž první 3 zmiňované kmeny jsou považovány za ty dominantně zastoupené (Middelbos et al. 2010). Rozsáhlá studie doktorky J. B. Honnefferové pod vedením doktora J.S. Suchodolského (Honneffer et al. 2017) nabízí ještě detailnější vhled do čeledi, které tvoří střevní biot u psů.

V tenkém střevě lze převážně nalézt aerobní a fakultativně anaerobní kmeny jako jsou Proteobacteria a Actinobacteria (Suchodolski et al. 2008). Z kmenu Proteobacteria je nutné vypíchnout dvě čeledě: *Enterobacteriales*, která osídluje v největší míře kyčelník a *Campylobacteriales*, kterou spolu s *Enterobacteriales* nacházíme ve dvanáctníku (Honneffer et al. 2017). Vzhledem k oblastem nejvyššího výskytu těchto dvou kmenů lze tvrdit, že jejich zvýšené zastoupení v tlustém střevě či ve vzorku exkrementu mohou naznačovat patologický stav organismu (Pilla & Suchodolski 2020).

V tlustém střevě, kde je dostupnost kyslíku minimální, se převážně objevují anaerobní bakterie, konkrétně kmeny Fusobacteria a Firmicutes (Mentula et al. 2005; Pilla & Suchodolski 2020). Rozdíl je v míře zastoupení jednotlivých kmenů a čeledí. Z kmenu Firmicutes jsou hojně zastoupené dvě čeledě – *Clostridiales* a *Turicibacteriales*; zatímco v tračníku převládá čeleď *Clostridiales*, v konečniku má majoritní zastoupení čeleď *Turicibacteriales* (Honneffer et al. 2017). Neméně důležité jsou však 2 zbývající kmeny – kmen Fusobacteriales je nejhojněji zastoupen v tračníku a kmen Bacteroidales zas v konečniku (Honneffer et al. 2017).

Složení střevního biotu u psů není významně ovlivněno jejich pohlavím (Pereira et al. 2020; Jha et al. 2020), nicméně existují důkazy pro rozdílné klastrování kastrováných jedinců (Scarsella et al. 2020).

Dalším faktorem ovlivňujícím složení střevního biotu psů je i velikost jejich těla. Při rozdílné velikosti a váze se mění velikost trávicí soustavy, přičemž u malých psů okolo 5 kg to tvoří až 7 % jejich tělesné hmotnosti, ale u 60kg psů se toto číslo snižuje k 2,7 % (Deschamps et al. 2022). Délka tlustého střeva se pohybuje v rozmezí 32-99 cm v závislosti na celkové hmotnosti těla, a zároveň platí, že s delšími střevy se také zvyšuje absorpční plocha díky množství zvyšujícímu se množství mikrokloků s narůstající délkou tlustého střeva (Weber et al. 2017). Při rozdělení plemen na malá, střední a velká, se ukázalo, že velké psy dokáží lépe trávit vlákninu, sušinu i organickou složku potravy co naznačuje vyšší důležitost střevní fermentace u větších psů, ve srovnání s menšími a středními jedinci (Weber et al. 2003; Deschamps et al. 2022). Funkce střevního biotu však zůstávají napříč plemeny stejná (Guard & Suchodolski 2016). Co se složení střevních biotů týče, velcí psi se od malých a středních liší vyšším zastoupením kmenů Firmicutes, Bacteroidetes, Fusobacteria a minimálním množstvím Proteobacteria a Actinobacteria (u malých a středních se poslední dva zmíněné kmeny vyskytují ve větší míře) (Deschamps et al. 2022). Další experimenty dělící psy na 2 skupiny – malé a velké, poukazují na převahu *Faecalibacterium* u malých a *Collinsella* a *Lactobacillus* u velkých psů (Middleton et al. 2017; Jha et al. 2020).

U psů jsou rovněž pozorovány změny ve složení střevního biotu v průběhu jejich stárnutí. Ty spočívají zejména v postupném snižování rodu *Lactobacillus*, které začíná po odstavu štěněte a změnách v poměrech čeledí *Bacteroidaceae*, *Eubacteria* s *Enterobacteriaceae* (Benno et al. 1992; Masuoka et al. 2017). S věkem pak přibývají zástupci rodu *Clostridia* (Benno et al. 1992) a naopak klesají až zcela mizí zástupci rodu *Bifidobacteria*, kteří hrají důležitou roli ve střevním biotu člověka, na rozdíl od toho psiho (Masuoka et al. 2017).

3.1.2 Střevní mikrobiom u člověka

Kvůli neomezeným možnostem v rámci složení stravy člověka daných osobní preferencí i místními zvyky i různé míře interakce s vnějším prostředím vykazuje střevní biom lidí velmi velkou variabilitu mezi jedinci, a to zejména při pohledu na variabilitu identifikovatelných bakteriálních druhů. Převážnou část biomu tvoří striktně anaerobní druhy, které několikanásobně převažují nad fakultativně anaerobními a aerobními druhy (Sekirov et al. 2010). Mezi nejzastoupenější kmeny tvořící až 90 % lidského střevního biomu patří Bacteroidetes a Firmicutes, zatímco mezi ty méně zastoupené lze zařadit Proteobacteria, Verrucomicrobia, Actinobacteria, Fusobacteria, a Cyanobacteria (Eckburg et al. 2005). Jak již bylo zmiňováno v kapitole o vzniku biomu, jde o velmi flexibilní a prostředím ovlivnitelný proces. První 3 roky života jedince se jeví z pohledu formace stabilního střevního biomu jako nejdůležitější, čím pestřejší bude škála prostředí, lidí a zvířat, se kterými se jedinec v tomto období potká, tím pestřejší bude jeho střevní biom (Koenig et al. 2011; Lozupone et al. 2012; Yatsunenko et al. 2012).

Rozdíly ve střevním biomu jsou rovněž způsobené i biologickým pohlavím jedince. Klíčovým se jeví období puberty, kde pohlavní hormony výrazně ovlivňují další vývoj jedince, jeho chování i jednotlivé složky jemu vlastní homeostázi (Yurkovetskiy et al. 2013), avšak mezipohlavní rozdíly jsou znatelné již od narození jedince (Cong et al. 2016). Kastrace u myši narušila proces druhové divergence biomů (Yurkovetskiy et al. 2013). Tato studie dále uvádí, že pokud kastrace nenastala, u samců byla zaznamenána nižší incidence diabetu 1. typu než u samic či jedinců laboratorně vytvořené germ-free kmene myši (bez bakteriálního osídlení). Studie na velkém vzorku lidí (n=1135) poukazuje na rozdílné složení střevního biomu. U žen se objevuje vyšší pestrost biomu, také však vykazují vyšší počet rezistentních kmenů bakterií na rozdíl od mužů, což může být způsobené vyšší frekvencí užívání antibiotik u žen, než u mužů (Sinha et al. 2019). Při zkoumání efektu pohlavních steroidních hormonů na jedince (testosteronu na muže a estradiolu na ženy) se ukázala spojitost s jejich hladinami – čím vyšší byla hladina steroidních pohlavních hormonů, tím byl střevní biom jedince bohatší na druhy, které se však mezi pohlavími lišily – u mužů šlo o vyšší četnost *Megamonas* či *Acinetobacter* a u žen byl pozorován vyšší poměr *Bacteroidetes* vůči *Firmicutes* (Shin et al. 2019). U žen se velká změna ve střevním biomu odehrává v průběhu těhotenství. Kromě hormonálních změn jde i o snížení druhové pestrosti biomu s postupujícím těhotenstvím, a také biom vykazujícím známky zánětu a ztráty energie na jeho konci, s čím se pojí i nárůst váhy či náchylnost k inzulinové rezistenci (Koren et al. 2012).

Střevní biom člověka se mění v průběhu samotného života člověka – v průběhu jeho stárnutí. Ve srovnání s mladšími jedinci se u starších snižuje pestrost střevního biomu a zastoupení jednotlivých rodů, například *Bacteroides* a *Bifidobacteria* klesá (Woodmansey et al. 2004). S tímto jevem se také pojí snížená amylolytická aktivita a snížená koncentrace mastných kyselin s krátkým řetězcem (Woodmansey et al. 2004). Jiná studie pocházející z Japonska poukazuje na změny dějící se napříč věkovými kategoriemi od 0 do 98 let, s nejvýraznějšími změnami v kmenu Actinobacteria, kterého poměr se od odstavu pouze snižoval a fluktuacemi v zastoupení kmenů Firmicutes, Bacteroidetes a Proteobacteria (Odamaki et al. 2016). S postupujícím věkem se také pojí snížená odolnost střevního biomu na

dysbiózy, které mohou vést k zvýšené permeabilitě střev, prostupování endotoxinů i látek, které podněcují zánět vedoucí k změnám stavu kosterního svalstva (Grosicki et al. 2018).

3.1.3 Srovnání střevního mikrobiomu psa a člověka

Srovnáním se střevním biotem psa lze u člověka najít některé společné prvky mikrobiálního osídlení. Jak u psů, tak i u člověka nacházíme dominantní kmeny Bacteroidetes a Firmicutes s tím rozdílem, že v rámci psiho genomu je více zastoupený kmen Firmicutes (Coelho et al. 2018). Na druhou stranu u lidí nacházíme vysoké zastoupení rodu *Bifidobacterium*, který se ve vzorcích psiho biomu objevuje nepravidelně (Suchodolski et al. 2008), není však jasné, jestli je důvodem rozdílnost analytických metod či přímo rozdílnost ve vnějších podmínkách testovaných jedinců.

Při mapování genů nacházejících se ve střevních biotech psa a člověka se ukázalo, že až 26 % genů psiho biomu lze najít i v rámci biomu člověka. Na druhou stranu pouze 3,2 % genů lidského střevního biomu nacházíme v rámci katalogů genů psiho biomu. Rozdílnost těchto čísel je dána zejména tím, že u člověka je vyšší počet genů kódujících střevní biot, než je tomu u psa či ostatních srovnávaných savců – myši a prasete (Coelho et al. 2018). Zmiňovaná, poměrně vysoká shoda střevních biotů psa a člověka je, jak poukazují autoři článku, dána podobným životním stylem a fyziologií samotného trávení i společnou historickou cestou těchto dvou druhů. Ta samá studie poukázala i na totožné reakce biomu při implementaci diet s nízkým či vysokým obsahem bílkovin a sacharidů (Coelho et al. 2018).

3.1.4 Funkce střevního mikrobiomu

Střevní biot byl doba považován za pouhou součást trávicí soustavy, plnicí jisté role v ochraně střev před průnikem patogenních organismů a metabolismu živin. Konkrétně jde o trávení pro člověka jinak nestravitelných látek, jako jsou škroby, vláknina, či některé typy sacharidů (Gibson 2004). Děje se tak díky fermentaci těchto látek bakteriemi, z čeho získávají pro nás využitelnou energii hned v několika formách mastných kyselin s krátkým řetězcem: acetát, propionát a butyrát, přičemž jejich vzájemný poměr závisí na kvalitativních a kvantitativních vlastnostech biomu, době trávení i primárním zdroji substrátu (Gibson 2004; Wong et al. 2006; Qin et al. 2010). Prozatím se však jako nejpřesnější jeví poměr 60:20:20 (acetát:propionát:butyrát) (Wong et al. 2006). Acetát je z krevního oběhu je vychytáván játry a v menší míře i svaly a jako substrát pro tvorbu triglyceridů a cholesterolu (Wong et al. 2006; Qin et al. 2010). Propionát slouží jako regulující faktor tvorby cholesterolu v játrech (Venter et al. 1990), jeho primární rolí je však vstup do glukoneogeneze jako její substrát (Wong et al. 2006). Butyrát je dále využíván přímo enterocyty tlustého střeva, kde pomáhá v udržování homeostázy, potlačuje záněty a oxidativní stres (Hamer et al. 2008). Dále se střevní biot podílí i na tvorbě vitamínu K₂ a vitamínů skupiny B (Hooper et al. 2002) a zasahuje i farmakodynamiky některých léčiv, kvůli čemu by v budoucnu mohlo být nutné využívat více personalizovaný přístup k jednotlivci i na základě složení jeho střevního biomu (ElRakaiby et al. 2014). Přítomnost střevního biomu také moduluje cévní systém v okolí střev, upravující jejich motilitu a permeabilitu a stimulující jejich regeneraci (Sommer & Bäckhed 2013).

Střevní biot vyžaduje od svého hostitele toleranci k jeho různorodému složení, ale zároveň je nutné, aby byl imunitní systém držen ve střehu v případě proniknutí cizorodých látek

do jeho nitra, co se děje díky komunikaci mezi střevy a imunitním systémem (Wu & Wu 2012). Důsledkem toho je v okolí střev nejvyšší koncentrace lymfatické tkáně v těle vůbec (Vighi et al. 2008). Dojde-li k narušení této tenké hranice, vznikají autoimunitní onemocnění kdy pacienti reagují pozitivně na podání antibiotik, jako jsou například idiopatické střevní záněty, či autoimunitní onemocnění mimo trávicí soustavu jako je revmatoidní artritida či diabetes 1. typu (Wu & Wu 2012).

Postupem času se objevovaly důkazy dalších orgánových soustav, které se střevním biotem úzce spolupracují a pomáhají tak jedinci udržovat homeostázi. Mezi takové patří i centrální nervový systém. Specifickou dráhou je tzv. gut-brain axis, která oboustranně propojuje mozek a střevní biot. Toto spojení je utvářeno prostřednictvím bloudivého nervu, autonomní nervové soustavy, imunitního systému ale i látek jako již zmiňovaných mastných kyselin s krátkým řetězcem, hormonů, neurotransmiterů a jejich prekurzorů (Foster et al. 2017). Jedním z nich je i tryptofan, který slouží jako prekurzor serotoninu, který má v mozku roli neurotransmiteru a ovlivňuje náladu, chuť do jídla (Dinan & Cryan 2017). Tryptofan je rovněž prekurzorem melatoninu, který je jedním z nejdůležitějších regulátorů interního cirkadiálního rytmu, zahrnujícího dobu spánku i bdění (Pilla & Suchodolski 2020). Jeho funkce v trávicí soustavě zahrnuje regulaci sekrece a její motility (Foster et al. 2017). Zvýšit množství serotoninu lze prostřednictvím zvýšení množství jeho prekurzoru tryptofanu v plasmě – to se připisuje kmenu *Bifidobacterium infantis* (Desbonnet et al. 2010).

Dopamin je další látkou, která má důležité funkce jako neurotransmiter a neuromodulátor, který je syntetizován nejen v mozku, ale i ve střevech (Eisenhofer et al. 1997). Produkce dopaminu ve střevech je regulována střevním biotem (okolo 50 % z celkového množství tělem produkovaného dopaminu) a hraje důležitou roli v ochraně jater před autoimunitním onemocněním – při jeho dostatku jsou inaktivované iNKT bunky (z anglického invariant natural killer T-cells) (Xue et al. 2018), které podněcují vznik zánětu v játrech a tím aktivují další kaskádu imunitní odpovědi, zahrnující B-lymfocyty, dendritické buňky i určité typy T-lymfocytů, které se podílí na dalším poškození jater (Bandyopadhyay et al. 2016). Dopamin jako takový se podílí na zprostředkování pocitů odměny, slasti, motivace či učení (Wise 2004). Periferní produkce dopaminu jednak proniká do centrálního nervového systému, kde se podílí na regulaci stresové odpovědi, míry úzkosti, zároveň však ovlivňuje bazální hladinu dopaminu v oběhu která je zodpovědná za stabilizaci nálady a eliminaci její výkyvů (Crume rolle-Arias et al. 2014; Breit et al. 2018).

Další podobnou komunikační molekulou je gama-aminomáselná kyselina (GABA), která je produkována rodem *Lactobacili*, konkrétně druhy *Lactobacillus spp.* a *Bifidobacterium spp.* (Bravo et al. 2011). GABA je hlavním inhibičním neurotransmiterem v centrálním nervovém systému a podílí se na vyrovnávání reakcí způsobených hlavním excitačním neurotransmiterem glutamátem (Lydiard 2003). Je-li tato vzájemná homeostáza narušena a glutamát není tlumen, organismus se dostává do patologicky stresových a úzkostných stavů. Podáním *Lactobacillus rhamnosus* byla pozorována modulace GABA receptorů v závislosti na konkrétní oblasti a bloudivém nervu, snížená hladina stresem vyvolaného kortikosteronu v oběhu a zároveň byl pozitivní efekt pozorován i u pacientů s idiopatickými střevními záněty (Bravo et al. 2011).

Osa hypotalamus-hypofýza-nadledviny (HPA, z anglického hypothalamic-pituitary-adrenal axis) patří mezi hlavní endokrinní regulační osy, která zabezpečuje systémovou reakci organismu na fyzické i psychické faktory způsobující stres (Habib et al. 2001). Této osy se

účastní kortizol jako hlavní kortikosteron produkovaný v kůře nadledvin z cholesterolu. Produkci ovlivňují adrenokortikotropin vytvářený hypofýzou, který je regulovaný hypotalamickým hormonem uvolňujícím kortikotropin a synergickým vazopresinem (nebo-li antidiuretickým hormonem) (Bateman et al. 1989; Habib et al. 2001). Tato osa reguluje permeabilitu střev (Bravo et al. 2011), a zároveň je sama regulovaná složením střevního biomu jedince, co má za následek změnu ve stresové reakci na přítomný stresor (Sudo et al. 2004). Ta samá studie (Sudo et al. 2004) také prokázala, že nadměrná reakce HPA osy na stresor je reverzibilní pomocí administrace kmenu *Bifidobacterium infantis*, který byl již zmiňovaný ve spojitosti s regulací hladiny serotoninu (Desbonnet et al. 2010) na začátku této podkapitoly.

Bloudivý nerv je základním spojením mezi centrálním nervovým systémem a periférií těla jedince. Skládá se z aferentní části, která přináší informace mimo jiné o zánětu, hladu a nasycenosti z periferie do mozku, a eferentní části, která kromě jiného i reguluje kapacitu trávicí soustavy pomocí sekrece trávicích šťáv a enzymů. Aferentní větev je tvořena přibližně 80-90 % a eferentní zbylými 10-20 % vláken bloudivého nervu (Breit et al. 2018). Při bližším pohledu má bloudivý nerv hned dvě významné role – funguje jako mechanoreceptor detekující naplnění či natažení střev, zároveň i chemoreceptor detekující složení a sytivost pozřené potravy (Williams et al. 2016). Zároveň získává informace o aktuálním stavu střev a případné infekci prostřednictvím TNF- α (z anglického tumor-necrosis factor-alpha) produkovaného sliznicí střev, díky čemu může aktivovat imunitní systém i centrální nervový systém jako reakci na možné patogenní ohrožení organismu (Breit et al. 2018). Stimulací bloudivého nervu dochází k zlepšení symptomů úzkosti, deprese i zánětlivých střevních onemocnění (Bonaz et al. 2017; Breit et al. 2018). Jelikož je bloudivý nerv aktivovatelný i střevním biotmem, úprava jeho složení může mít významné pozitivní dopady na psychický stav jedince (Breit et al. 2018). Komunikace mezi nervovým a trávicím systémem se také děje prostřednictvím neuropod – enteroendokrinním buňkám, které mají schopnost vytvářet synapse s bloudivým nervem, díky čemu vytváří přímou komunikační dráhu přes 1 synapsi mezi mozkovým kmenem a střevy (Kaelberer et al. 2018). Neuropody mají celou škálu rolí, fungují jako mechanoreceptory reagující na množství potravy chemoreceptory reagující na její složení, sytivost či obsah odorantů či glukózy. Zejména díky reakci na glukózu se neuropody jeví jako zajímavý cíl farmak při léčbě diabetu 2. typu (Kaelberer et al. 2018).

V posledních letech se také množí důkazy spojení střevního biomu s muskuloskeletálním systémem, konkrétně jeho vliv na osteoporózu či již zmiňovanou revmatoidní artritidu a možnosti využití úpravy skladby střevního biomu v rámci prevence těchto onemocnění (Li et al. 2021; Tonelli Enrico et al. 2022). Tato oblast však vyžaduje další studie, které porozumění propojení střevního biomu a muskuloskeletálního systému ještě prohloubí.

3.1.5 Faktory ovlivňující střevní biotm v dospělosti

Nehledě na to, že zdravý biotm nelze nijak definovat co se konkrétního složení a druhů týče, lze říci, že musí být bohatý na druhy, stabilní, odolný vůči stresorům, s vysokou schopností regenerace po narušení homeostázy a zároveň musí svému hostiteli poskytovat dále využitelné produkty vlastního metabolismu (Bäckhed et al. 2012). Pravdou také je, že tento vztah není jednostranný a sám hostitel dokáže kvalitu i kvantitu svého střevního biomu přímo

ovlivňovat. Děje se tak několika způsoby, například podáním antibiotik, prebiotik, probiotik či změnou životního stylu a stravy.

3.1.5.1 Antibiotika

Antibiotika jsou považována za významný faktor negativně ovlivňující střevní biot, zejména jeho složení. K této významné změně ve složení bioty dochází již 3-4 dny po iniciaci antibiotické léčby a přibližně týden po ukončení léčby započne návrat do předantibiotického stavu (Dethlefsen & Relman 2011). Jak však výzkum ze Stanfordské univerzity (Dethlefsen & Relman 2011) poukazuje, že návrat není dokonalý a po každém kurzu antibiotické léčby dochází k alternaci složení střevního bioty, přičemž jsou změny a jejich rozsah individuální a nepředvídatelné. Největší citlivost na antibiotickou léčbu vykazuje kmen Clostridiales, a zejména *Lachnospiraceae spp.* (Dethlefsen & Relman 2011; Bokulich et al. 2016). Celosvětový problém pojící se s užíváním antibiotik je antibiotická rezistence. Ta je způsobena zejména nadužíváním antibiotik ve zdravotnictví i hospodářství, genetickými mutacemi bakterií a nedostatečnou informovaností lidí o úskalích užívání antibiotik (Chiş et al. 2022). Dalším neméně závažným důsledkem užívání širokospektrálních antibiotik je větší náchylnost k infekci způsobenou *Clostridioides difficile* (Maier et al. 2021), která kapacitně i finančně oslabuje systémy zdravotnictví po celém světě.

Disrupce střevního bioty užíváním antibiotik je však v některých případech žádoucí. Úkolem antibiotik v dávce nižší než terapeutické je u domácích zvířat podpora jejich hmotnostního přírůstku, čeho je dosaženo prostřednictvím změn ve složení bioty, důsledkem čeho dochází k změně efektivity zpracování přijímané potravy (Cho et al. 2012). S ohledem na již zmiňovanou antibiotickou rezistenci by však bylo vhodné přehodnotit použití antibiotik, a to i při zohlednění množství dosud neprozkoumaných krátkodobých i dlouhodobých vedlejších účinků na organismus i společnost jako celek.

3.1.5.2 Prebiotika

Jako prebiotika jsou označovány nestravitelné komponenty stravy, které při průchodu trávicí soustavou jedince upravují i životní podmínky a prostředí již přítomného střevního bioty, čímž je i zlepšen stav samotného jedince (Gibson & Roberfroid 1995). Mezi prebiotika řadíme oligosacharidy, fruktooligosacharidy a lactulózu (Park & Floch 2007). Efektivita prebiotik je nejvyšší u dvou druhů bakterií - *Lactobacillus a Bifidobacterium* (Hord 2008). S prebiotiky se často zaměňuje vláknina. Ta je definována jako neškrobová součást rostlinné stravy, která nese s prebiotiky podobnost v její nestravitelnosti pro organismus a zároveň v benefitech plynoucích z její fermentace a metabolismu střevním biotem jedince, výsledkem čeho je zvýšená koncentrace produktů činnosti bioty – mastných kyselin s krátkým řetězcem (Park & Floch 2007). Prebiotika, na rozdíl od probiotik, nezvyšují druhovou pestrost bioty (Wastyk et al. 2021). Je důležité zmínit, že vláknina se dělí na rozpustnou, bakteriemi fermentovatelnou, a nerozpustnou, bakteriemi spíše nefermentovatelnou, a tím pádem vyloučenou stolicí z těla (Asp 1995).

3.1.5.3 Probiotika

Dalším velkým vlivem na kondici střevního biomu jsou probiotika. Jejich základní charakteristikou je, že jde o živé organismy, které při podání v dostatečném množství přináší výhodu svému hostiteli (Neish 2009). Princip jejich fungování je v doplnění bakteriálního druhu či posílení nedostatečně velké populace střevních bakterií, následkem čeho dojde k optimalizaci funkce střevního biomu (Montrose & Floch 2005). Problémem však bývá správný výběr bakteriálního druhu, díky kterému by k úpravě dysbiózy došlo (Neish 2009). U psů se jako prospěšná ukázala administrace *Saccharomyces boulardii*, díky čemu došlo k zlepšení funkce střev i redukci stresu v chovu (Meineri et al. 2022). Další výzkum na potvrzuje, že při podání probiotik obsahujících *Lactobacillus rhamnosus* samcům psa dochází ke zlepšení pohyblivosti, morfologie i integrity akrozomu, díky čemu je posílená i jejich celková plodnost (Mahiddine et al. 2023). Další výzkum je ovšem potřebný pro specifikaci ideálních druhů bakterií pro administraci ve formě probiotik.

Jak bylo v předchozí kapitole zmiňováno, modulací střevního biomu lze dosáhnout změn na hormonální úrovni organismu. Podkategorií probiotik jsou psychobiotika - živé organismy, které mají pozitivní efekt na pacienty s psychickým onemocněním, jsou-li požitý v dostatečném množství (Dinan et al. 2013). Regulací střevního biomu lze dosáhnout pozitivních změn hned v několika oblastech chování jedince, a to konkrétně v léčbě deprese a úzkosti (Bravo et al. 2011) a mírnění přehnané stresové reakce na vnější stresor (Sudo et al. 2004). Mezi další studované oblasti patří hledání spojení mezi střevním biemem a schizofrenií (Khodaie-Ardakani et al. 2014), autismem (Tomova et al. 2015) či Parkinsonovou nemocí (Scheperjans et al. 2015).

3.1.5.4 Fermentované potraviny

Fermentace je již mnoho tisíciletí známým způsobem konzervace a uchování potravin jako jsou ovoce, zelenina, mléko a výrobky z něj či sója. Díky této dlouhé tradici je zjevné, že benefity konzumace těchto potravin byly vnímány i před jejich vědeckým vysvětlením. Dnes je známo, že mezi účinky konzumace fermentovaných potravin patří pozitivní dopad bioaktivních produktů fermentace, podpora růstu střevních bakterií a v neposlední řadě obohacení, nebo alespoň kompetice, bakteriálních druhů z potraviny s vlastními bakteriálními druhy jedince (Leeuwendaal et al. 2022). Při postupně navyšující se a dlouhodobé konzumaci vysoce fermentovaných potravin dochází k zvýšení počtu druhů bakterií ve střevech, což má za následek snížení zánětové signalizace v těle, díky čemu jsou ovlivněny jak centrální nervový a imunitní systémy, tak i celková homeostáze organismu (Wastyk et al. 2021). Fermentace také zvyšuje biologickou dostupnost živin fermentovaných potravin, odstraňuje antinutriční látky, alergenů a toxiny (Obafemi et al. 2022). Díky konzumaci fermentovaných potravin byly pozorovány pozitivní změny v hodnotách metabolismu spojených s diabetem 2. typu (Chen et al. 2014), snížení rizika vysokého krevního tlaku (Nozue et al. 2017) a snížení rizika rozvoje atopické dermatitidy (Park & Bae 2016). Tyto pozitivní dopady byly pozorovány jak při krátkodobé, tak i dlouhodobé konzumaci fermentovaných potravin (Leeuwendaal et al. 2022).

3.1.5.5 Životní styl – strava, stres, cirkadiánní rytmus

Životní styl ve spojitosti se střevním biotem zahrnuje mnoho důležitých aspektů života – pohybové aktivity, strava, užívání drog či stres (Conlon & Bird 2014). Při nedodržování zásad zdravého životního stylu se lze jednoduše dostat do stavu, kdy některé ze zmíněných oblastí vedou k závažnějším krátkodobým potížím až chronickým onemocněním. Obezita a diabetes 2. typu se řadí mezi civilizační onemocnění, která jsou rozsáhle řešená napříč světem biologického výzkumu (Saltiel 2001). Jejich příčinou není jen značně snížená fyzická aktivita oproti dřívějším dobám, ale i nevyvážený jídelníček, a to zejména z pohledu přebytku tuků a cukrů (Foster et al. 2017). Obezita je častým důsledkem nevhodného životního stylu. Dopady však nejsou limitované pouze na samotný organismus, ale i na jeho střevní biot. Jedním z nich je například navýšení energie získané z potravy střevním biotem obézního jedince ve srovnání se štíhlým jedincem, a to i při jeho přenosu do organismu bez biotu, což má za následek výraznější navýšení hmotnosti těla a ukládání větších tukových zásob (Turnbaugh et al. 2006). Děje se tomu tak i při snížení množství podávané stravy (Bäckhed et al. 2004). Ve spojitosti s vyváženou stravou je často zmiňovaná středomořská strava jako přínosná co se dopadu na kvalitu střevního biotu týče (Clark et al. 2021; Latorre-Pérez et al. 2021). Z výsledků plyne, že středomořská strava s sebou přináší skladbu střevního biotu spojovanou se zdravými jedinci, bez problémů spojených s dysbiózou střevního biotu. Tento stav je často vyjadřován poměrem kmenů Firmicutes/Bacteroidota, což ale nemusí být absolutně vypovídajícím faktorem (Magne et al. 2020). Co se ale jeví jako zcela nevhodná strava pro prosperitu střevního biotu i jeho hostitele je vysokotučná dieta, kvůli které se mění složení střevního biotu a to má za následek další fyziologické i behaviorální změny v hostiteli (Hildebrandt et al. 2009). Mezi tyto fyziologické lze zařadit vyšší míru zánětů (Duan et al. 2018), či patologické projevy jako inzulinová rezistence (Lee & Lee 2014), progresi rakoviny prsu (Seo et al. 2015), jater (Bhattacharjee et al. 2017) nebo chronické onemocnění ledvin (Lin et al. 2010). Pozitivní informací však je, že první změny ve složení střevního biotu při změně stravy jsou pozorovatelné již po 24 hodinách, a zůstávají stabilní po dobu dalších 10 dní; pro delší efekt a zlepšení celkového zdravotního stavu jedince je pak nutné udělat dlouhodobé změny ve stravovacích návycích (Wu et al. 2011).

Možnosti stravování psa a složení zvoleného typu stravy se v některých parametrech od lidské stravy liší. Vliv stravy na kvalitu střevního biotu je však u obou druhů stejně významný. Pokud byli psi krmeni syrovou stravou (BARF, z anglického Bones And Raw Food), v jejich biotu byly čtenější kmeny Lactobacillales, Enterobacteriaceae, Fusobacterium a Clostridium, zatímco u psů krmených konvenční stravou byla vyšší četnost pozorována u čeledi *Clostridiaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Ruminococcaceae* a *Lachnospiraceae* (Schmidt et al. 2018). Při dlouhodobějším krmením BARF bylo pro tyto psy charakteristické pestřejší složení biotu a jeho rovnoměrnější osídlení napříč tlustým střevem ve srovnání se psy krmenými granulami (Kim et al. 2017). S ohledem na nízký počet sledovaných psů je žádoucí experiment zopakovat na větším vzorku psů. Vyšší podíl zeleninové vlákniny v granulovaném krmivu se pojí s vyšší početností Firmicutes a nižší početností Fusobacteria a Proteobacteria (Middelbos et al. 2010; Alexander et al. 2018). Pokud se však změnil zdroj proteinu v granulích ze živočišného na rostlinný, efekt na střevní biot prokázán nebyl (Bresciani et al. 2018), ovšem z pohledu výživy psa není strava bez živočišné bílkoviny ideální (Kanakubo et al. 2015).

Reakce psího střevního biomu na změnu stravy z vysokobílkovinové na vysokosacharidovou jsou totožné s reakcemi střevního biomu člověka, co koresponduje s názorem na vzájemnou podobnost těchto dvou biomů (Coelho et al. 2018).

Vliv stresu na střevní biom je dlouhodobě sledovaným parametrem, přičemž jeho dopady mají mnohé společného s dopady vysokotučné diety na funkci a kvalitu střevního biomu (Foster et al. 2017). Jedním z dopadů stresu na funkci biomu je syndrom zvýšené propustnosti střev. S tímto stresem se organismus setkává při delším působení organického či psychologického stresu na střevní bariéru, co zapříčiní její zvýšenou propustnost a vznik lokálního zánětu, díky čemu se do krevního oběhu hostitele dostanou bakterie, které aktivují imunitní reakci (Gareau et al. 2008). Tím se nejen naruší integrita střevního biomu, následkem čeho dochází k změně sekrece iontů, narušení imunitní i metabolické funkce střevního biomu a zvýšené citlivosti k viscerální bolesti (Gareau et al. 2008; Vicario et al. 2012). Vzhledem k tomu, že jde o reverzibilní změny, organismus se dokáže dostat do původního stavu homeostázy při učinění změn ve výživě a životním stylu (Vicario et al. 2012).

Cirkadiánní rytmus a střevní biom jsou vzájemně propojené metabolity střevního biomu, které fungují jako prekuzory účastníku – serotoninu či melatoninu (Pilla & Suchodolski 2020). Toto propojení však funguje i z opačného směru – kvalita spánku a stabilita cirkadiánního rytmu ovlivňuje stabilitu střevního biomu (Voigt et al. 2014). Dopady chování jedince na střevní biom tak nejsou limitovány pouze na dobu jeho bdění, ale zahrnují i čas odpočinku.

3.1.5.6 Prostředí

Dalším důležitým faktorem ovlivňujícím pestrost střevního biomu jedince je i prostředí, ve kterém žije, jelikož se k prostředí váže i životní styl člověka. Lidé žijící v městském prostředí mají omezený kontakt s přírodou (hlínou, rostlinami, živočichy) a zakládají menší rodiny, co se pojí s vyšší náchylností k alergiím a zároveň nižší pestrosti jejich biomů (Hanski et al. 2012; Lehtimäki et al. 2018; Ayeni et al. 2018). Naopak vesnické prostředí přispívá k vyšší diverzitě střevního biomu, a to díky vyššímu počtu interakcí s vnějším prostředím a tam nacházejícími se bakteriemi, kterých výskyt podporuje správné fungování imunitního systému (Das et al. 2018; Lehtimäki et al. 2018). Rhizosféra a střevní biom člověka sdílí jistou podobnost ve velkém množství bakterií, která má obzvláště pozitivní dopady na lidi chovající zvířata či pěstující plodiny na zahradách, ve srovnání s lidmi žijícími v městském prostředí s omezeným stykem s půdou (Blum et al. 2019).

3.1.5.7 Sociální interakce

Sociální interakce se řadí k dalším zajímavým faktorům formujícím střevní biom. Jedinci v partnerském vztahu spolu sdílí větší podíl biomu než zcela neznámí jedinci (Kort et al. 2014), a to samé platí pro dvojice rodič-dítě či sourozenci vyrůstající ve stejné domácnosti (Münger et al. 2018). Zároveň platí, že v přítomnosti domácího zvířete, například psa, se druhová pestrost biomů a vzájemná podobnost mezi jednotlivými členy domácnosti zvyšuje (Song et al. 2013). Zajímavý trend byl ve spojitosti se střevním biemem a sociálními interakcemi pozorován u seniorů, kdy množství jejich sociálních kontaktů přímo ovlivňovalo pestrost jejich střevního biomu. Jedinci bydlící v komunitách vykazovaly pestřejší biom i nižší zánětlivé faktory,

zatímco jedinci bydlící ve svých domovech bez dalších osob vykazovaly opačné výsledky, jelikož se jejich biot neobohacoval sociálními interakcemi s tak velkým počtem osob, jak je tomu v komunitách (Kinross & Nicholson 2012). Z interakcí střevního biot a mozku také vyplývá, že jde o vzájemně ovlivňující se stavy, kdy se střevní biot a psychický stav jedince navzájem regulují (Münger et al. 2018).

3.1.5.8 Transplantace střevní mikroflóry

Dalším a v poslední době široce zkoumaným způsobem navrácení střevního biot do plně funkčního stavu je fekální transplantace střevní mikroflóry. Tato metoda, která byla poprvé popsána v roce 1958 (GS & AJ 1958), spočívá v přenosu vzorku stolice od zdravého donora k recipientovi, výsledkem čeho je změna ve složení biot u recipienta. Doposud již bylo dosaženo ozdravení při u jedinců s patologickým střevním biotem, například u pacientů s opakovanými infekcemi bakterie *Clostridium difficile* (Mattila et al. 2012), Crohnovou chorobou (Suskind et al. 2015), metabolickým syndromem a insulinovou resistencí (Vrieze et al. 2012). Naopak při transplantaci biot od jedinců s Parkinsonovou nemocí zdravým jedincům došlo u zdravých jedinců k zhoršení motorických funkcí (Scheperjans et al. 2015). Experimenty s transplantací střevní mikroflóry probíhají i u psů, ale výsledky nejsou prozatím tak pozitivní, jako u lidí, jelikož psí střevní biot má větší tendenci vracet se do svého původního nastavení (Collier et al. 2022; Marclay et al. 2022).

3.1.6 Molekulární metody výzkumu střevního biot

Izolace DNA

Vzorek obsahující střevní biot je pro jeho další analýzu nutné zpracovat. Prvním krokem analýzy vzorku střevního biot je zpracování vzorku stolice do formy, z které je poté možné na sebe navazujícími kroky izolovat DNA. Tento proces se děje 3 způsoby – mechanicky, chemicky a tepelně. Dle potřebné formy výsledného produktu izolace se zvolí sada, obsahující všechny potřebné chemikálie, nádoby i postup, kterým je izolace provedena. Jednou z těchto nabízených sad je i QIAamp® PowerFecal® Pro DNA Kit. V průběhu jednotlivých kroků dochází k narušení buněčných membrán, vylišení obsahu buněk a následně izolaci DNA od ostatních buněčných struktur a nečistot. Výsledná DNA by měla být v dostatečné kvalitě a koncentraci pro další kroky její analýzy. Pokud se pro tento krok analýzy využije QIAamp® PowerFecal® Pro DNA Kit, výsledky jsou obvykle lepší, než při použití jiných nabízených sad – vyšší množství izolované DNA a širší spektrum druhů obsáhlých v tomto izolátu (Lim et al. 2020).

Stanovení kvality získané DNA

Stanovení kvality získané DNA se měří pomocí spektrofotometru. Principem tohoto kroku je změření absorbance aromatických bází nukleových kyselin. Jejich absorbanční maximum je při 260 nm. Srovnáním absorbancí při 260 nm a 280 nm lze určit čistotu izolované DNA. Naměřené hodnoty jsou vyjádřeny koncentrací DNA v každém analyzovaném vzorku. Tento krok

nepatří mezi časově ani technologicky náročné, je však důležitý pro ověření kvality prvního kroku a potvrzení jeho správného provedení.

Amplifikace genů

K amplifikaci genů se používá metoda polymerázové řetězové reakce, označovaná jako PCR (z anglického polymerase chain reaction). Principem této metody je amplifikace genů ze vzorku izolované DNA za pomoci polymerázy určené pro sekvenci genu 16S ribosomální RNA (16S rRNA), který je sdílen napříč celou doménou Bacteria. Polymeráza je enzym, který je pro replikaci genetické informace zcela klíčový – jeho funkcí je vkládání bází a prodlužování řetězce nukleové kyseliny. Pro svou funkci také potřebuje primer který nastavuje začátek nového řetězce. Za účelem dalšího zpracování a vizualizace výsledků je také potřebné přidávat do směsi barvivo nukleové kyseliny. Tato řetězová reakce probíhá v termocykleru, který zabezpečuje teplotní podmínky opakující se v cyklech nutné pro úspěšnou amplifikaci zvoleného genu.

Agarózová elektroforéza

Dalším krokem je agarózová elektroforéza, principem které je využití jednosměrného elektrického pole k pohybu různě nabitých iontů. V dané případě se využívá záporného náboje fosfátové skupiny nukleové kyseliny, kvůli čemu putují ke kladně nabitě elektrodě – anodě. Dále také platí, že pohyb těžších fragmentů v konstantním elektrickém poli je pomalejší, než pohyb lehčích fragmentů. Díky tomu a zpomalovacím vlastnostem agarózy je výsledkem PCR agarózový gel s oddělenými fragmenty nukleových kyselin, které jsou na gelu zobrazené jako tmavé proužky. Pro jednodušší vizualizaci se používá barvivo ethidiumbromid.

Rozdělení sekvencí DNA

K rozdělení nukleových kyselin na základě jejich sekvence se používá metoda nazývaná elektroforéza v gradientovém denaturačním gelu, neboli DGGE (z anglického Denaturing gradient gel electrophoresis). Její principem je elektroforéza již amplifikovaných fragmentů zvoleného genu (v případě této práce jde o 16S rRNA) v přítomnosti elektrického náboje za teploty 60°C. Gel, který se používá pro DGGE je složen ze dvou denaturačních činidel o různé procentuální koncentraci, díky kterým se ve výsledném gelu vytváří gradient, který umožňuje uvolnění vodíkového můstku mezi jednotlivými páry purinových a pyrimidinových bází. Jednotlivé páry se však mezi sebou liší obsahem vodíkových můstků – adenin se pojí dva můstky na uracil v RNA (v případě DNA se pojí s thyminem), cytosin až tři můstky na guanin. Rozvolnění vyššího počtu vodíkových můstků trvá delší dobu. Z toho vyplývá, že nukleová kyselina obsahující menší počet vodíkových vazeb se denaturuje rychleji než ty, obsahující vyšší počet CG párů. Výsledný DGGE gel obsahuje pásy, které jsou individuálním profilem mikrobiotického složení každého analyzovaného vzorku.

Real-time PCR

Tato kvantitativní metoda se používá ke kvantifikaci bakteriálních skupin zvolených z jednotlivých pasů DGGE gelu. Jak sám název napovídá, princip je stejný jako u klasické verze PCR – cyklické opakování denaturace, amplifikace a syntézy DNA za kontrolovaných podmínek v cyklu. Díky fluorescenčním vlastnostem přidaného interkalačního barviva SYBRE lze výsledek této reakce jednoduše pozorovat a správný průběh jednoduše vyhodnotit.

Sekvenace nukleových kyselin

Sekvenace nukleotidů je metodou, díky které lze zjistit pořadí nukleotidů vázaných v nukleové kyselině pro jejich další analýzu. První a základní formou sekvenování je Sangerovo sekvenování, které je založené na PCR reakci, do které vstupuje PCR amplikon genu ve formě DNA, primer, DNA polymeráza a nukleotidy dvojího typu – deoxyribonukleotidtrifosfáty (dNTP) a dideoxyribonukleotidfosfáty (ddNTP) značené fluorescenční značkou, které zabráňují dalšímu pokračování replikace kvůli chybějící hydroxylové skupině. Díky ddNTP, které se ve finále nachází vždy na konci jednotlivých syntetizovaných fragmentů lze tyto fragmenty dále zpracovat a identifikovat. Ze Sangerova sekvenování vychází metoda nazývaná sekvenování nové generace. Její principem je sekvenace přímo úseku RNA. Díky kterému lze bakterie přítomné ve vzorku identifikovat. Výhodou tohoto typu sekvenování je možnost zpracovat velký počet vzorků v krátkém časovém úseku. Náklady spojené s reagensy, technologií a metodologií však způsobují to, že se tato metoda provádí externí firmou, která zaručí přesnost a rychlost zpracování vzorků. Pro interpretaci výsledků je nutné obdržet informace individuálně zpracovat.

3.2 Interakce mezi psem a člověkem

Druhá část literární rešerše se zabývá vztahem psa a člověka, včetně historie a dopadů tohoto vztahu na oba druhy.

3.2.1 Pohled do historie (domestikace)

V průběhu výzkumu domestikace se teorie vysvětlující časový a místní rámec značně lišily. Zájem o domestikaci psa není zapříčiněn pouze jeho dnešním postavením ve společnosti, ale také dán historickým kontextem, ve kterém byl pes souputníkem člověka již několik tisíc let. Výzkumů se dlouhou dobu nescházely na žádném přesném výsledku. Díky posunu technologií i ve znalostech se však situace v průběhu let změnila. V této době je za předchůdce domestikovaných jedinců považují vlci z jihovýchodní Asie, čemu nasvědčují data z analýzy mitochondriální DNA (Savolainen et al. 2002; Pang et al. 2009). Byť se zdroje shodují na lokalitě domestikace, názory na čas se však liší. Široce akceptovaný názor datuje domestikaci do období mezi spřed 32 000 až 10 000 lety (Freedman et al. 2014; Skoglund et al. 2015), dle další studie to bylo období před 16 300, dle které bylo ve stejném období ochočeno vícero vlků, kteří dali základ vzniku nového druhu – psa domácího (*Canis familiaris*) v oblasti jižně od řeky Jang-c'-ťiang, s pozdější hybridizací mezi jedinci vlka a psa, která přispěla k rozmanitosti psího genomu (Pang et al. 2009; Ding et al. 2012). K tomuto výsledku pomohla analýza genomu, díky které se zjistilo že dnešní plemena psů spolu sdílí 3 velké haploskupiny genů, obsahující až 10 subhaploskupin, přičemž přítomnost všech 10 byla pozorována pouze u psů ze zmiňované oblasti jihovýchodní Asie, a směrem na západ k Evropě se tento počet snížil pouze na 5 (Pang et al. 2009). Analýza sekvence DNA chromozomu Y v rámci jiné studie tyto výsledky podpořila (Ding et al. 2012). Mezi okolnosti, které domestikaci dopomohli lze zařadit, postupný přechod z putovního stylu života lovců a sběračů k usazenějšímu způsobu života, spojeného s pěstováním rýže, která byla domestikovaná v podobné oblasti (Underhill 1997; Pang et al. 2009). Je však nutné zmínit, že na rozdíl od ostatního světa, psi patřili mezi zdroje masa pro obyvatele jihovýchodní Asie, takže proces jejich domestikace nemusel být započat pouze za účelem jejich využívání jako hlídačů, lovců a společníku, ale i jejich konzumace (Higham et al. 1980; Pang et al. 2009). Na druhou stranu se však zdá, že i tehdejší vlci vyhledávali obydlí člověka za účelem požívání jeho vyprodukovaných zbytků, díky čemu ještě před samotným zahájením procesu domestikace mohla proběhnout i jakási autodomestikace (Pang et al. 2009). I díky té je mezi psem a člověkem vyšší míra podobnosti jejich biomu, než například mezi biomem myši a člověka (Wang et al. 2013). Toto výše popsané období se považuje za první fázi domestikace. Ta druhá započala před několika sta lety, kdy započala selekce na základě jejich vzhledu a povahových vlastností (Parker et al. 2004), které výsledkem je přibližně 30 % genetická variabilita mezi plemeny.

3.2.2 Dopady interakce mezi psem a člověkem

Spolužití s domácími zvířaty, zejména se psy, s sebou přináší mnoho výhod, mezi které patří radost z jejich společnosti či usnadnění sociálního kontaktu s ostatními lidmi (Veevers 1985), jelikož mu poskytují neutrální téma k hovoru. Také lze psa a péči o něj vnímat jako koníček a příjemné zaplnění volného času. Zejména tento aspekt byl důležitý v průběhu

pandemie nemoci COVID-19, během které vykazovaly majitelé domácích zvířat nižší míru psychologických potíží a subjektivně hodnotili dopad izolace jako méně závažný, než bylo hodnocení lidí bez domácích zvířat (Damberg & Frömbling 2022). Přítomnost domácích zvířat poskytovala svým majitelům psychologickou podporu. Efekt soužití se psem se liší v závislosti na věku člověka. Děti těží z přítomnosti psa hned na několika úrovních, ve stresových situacích má přítomnost psa nejvíce uklidňující účinky, a to ve srovnání s přátelským dospělým člověkem či plyšovým psem, přičemž čím větší byl fyzický kontakt v podobě hlazení mezi dítětem a psem, tím byl více uklidňující byla přítomnost psa (Beetz et al. 2011). Navíc se ukázalo, že v souvislosti s rozvojem a diagnostikou astmatu má přítomnost psa nebo kočky v domácnosti protektivní efekt na mladistvé, zvláště pokud se v jejich rodině dříve toto onemocnění nevyskytovalo (Perzanowski et al. 2002). U adolescentů se přítomnost psa pojí s přijetím a poskytováním sociální podpory v sociálních interakcích (Charmaraman et al. 2020). Svobodné ženy se psem trpí nejnižším počtem symptomů deprese, na rozdíl od svobodných mužů se psem (Tower & Nokota 2006). Efekt u seniorů byl podobný – kromě sociální podpory a snížení pocitů osamocení však nimi byl vnímán i pocit dodatečného smyslu a naplnění jejich životů (Hui Gan et al. 2020).

Spolužití se psem tak pozitivně ovlivňuje společnost hned ve 3 úrovních: osobní, kdy má toto spolužití pozitivní účinky na majitele psa; ekonomické, jelikož jsou majitelé psů ochotni utrácet za ně nemalé částky a tím pohánět motor ekonomiky a třetím je sociální dopad, kdy se díky zlepšení zdravotního, a zejména psychického stavů majitelů i sníží náklady společnosti na léčbu psychických onemocnění (Headey 1999; Damberg & Frömbling 2022).

Lidé přichází do kontaktu se psy také v průběhu canisterapie. Ta se jeví jako účinný prostředek jak pro fyzickou stránku, snížení tepové frekvence a krevního tlaku, uvolnění celého těla, ale i psychologickou, uvolnění napětí a sociální, kdy přítomnost canisterapeutického psa může pomoci překonat komunikační bariéry (Kalinová 2006). Těchto efektů je dosahováno jak skupinovými sezeními, tak i polohováním u jednotlivých pacientů. Děti s autismem těžily z terapeutické přítomnosti psa hlavně v oblastech komunikace a zapojení se v sociálních situacích, které jsou pro ně jinak velmi obtížné (Solomon 2010). Díky přítomnosti asistenčního psa v domácnosti se u těchto dětí snížila ranní hladina kortizolu ve slinách, přičemž se hladina vrátila zpátky po odebrání přiděleného psa (Viau et al. 2010). Dalším využitím asistenčních psů je i jejich pomoc osobám na vozíčku, kteří mají díky svému čtyřnohému pomocníkovi nejen zjednodušené každodenní úkoly, ale se psem dostávají i bonus vyššího počtu interakcí s ostatními lidmi, kteří pozitivně reagují na přítomnost psa (Eddy et al. 1988).

K fyziologickým dopadům na zdraví člověka lze zařadit nižší početnost problémů se spánkem (Headey 1999), kardioprotektivní účinek v rámci prevence i rekonvalescence po srdeční či mozkové příhodě (Friedmann & Thomas 1995; Surma et al. 2022). K dalším zdravotním benefitům lze zařadit i lepší zdravotní a psychický stav i vyšší míru fyzické aktivity, což se jeví být důsledkem nutnosti venčení svého psa a specifického životního stylu, který se váže s tímto vztahem (Headey et al. 2008).

Mezi další dopady soužití těchto dvou druhů řadíme i vzájemný vliv vztahu mezi psem a člověkem na složení jejich biomů. Jedním z prvních vlivů na složení střevního biomů vlků, později psů, byla domestikace, kdy postupnou změnou stravy byl i postupně měněn biom, který se přizpůsoboval k odlišnému obsahu makroživin, než dříve (Alessandri et al. 2019). K těmto změnám patří i postupná adaptace na vyšší obsah škrobů v jeho potravě, která se dělá nejen na

fyziologické úrovni, ale také na úrovni bakteriálního složení jeho střevního biomu (Axelsson et al. 2013). Domestikace je díky svým vlivům na domestikovaný organismus (chování, strava, střevní biom) přirovnávána k dopadům industrializace na ekologii člověka i jeho střevní biom (Reese et al. 2021). Kromě střevního biomu se blízkým kontaktem dvou a více druhů mění i jejich kožní biomy – čím bližší je soužití a míra interakce jednotlivých druhů, tím více stoupá podíl sdíleného kožního biomu mezi těmito druhy, ať už jde o vztah člověk-vlk nebo člověk-pes (Wetzels et al. 2021).

Introdukcí psa do domácnosti se také rozšiřuje portfolio bakterií nacházejících se v prachu konkrétní domácnosti, prostřednictvím kterého je ovlivňován i biom jednotlivých členů, co může vést k změnám jejich biomu a tím pádem i celkového zdravotního stavu k lepšímu (Fujimura et al. 2014; Sitarik et al. 2018). Tyto bakterie nepocházejí pouze z jednotlivých biomů psa (kožní či ústní), ale jde také bakterie pocházejícího z vnějšího prostředí, například hlíny či rostlin, které pes jednoduše zanáší svým pohybem do vnitřních prostor lidského obydlí (Kates et al. 2020). I díky tomu sdílí člověk se svým psem bydlícím uvnitř jeho obydlí část svých kožních biomů (Song et al. 2013). U některých majitelů a jejich psů byla rovněž pozorována sdílená náchylnost k alergiím, která byla zapříčiněna sdíleným městským prostředím, ve srovnání se psy a jejich majiteli žijícími ve vesnickém prostředí a majících k tomu uzpůsobený životní styl (Lehtimäki et al. 2020). Pokud se srovnají střevní a kožní biomy psů a jejich majitelů, sdílení druhů je mnohem intenzivnější u kožního biomu, než je tomu u toho střevního (Song et al. 2013; Lehtimäki et al. 2020).

Ve studiích zabývajících se pouze sdílením střevního biomu se míra sdílení liší v závislosti na věku lidí a době, kdy k spolužití se psem docházelo. Některé výzkumy zabývající vlivem soužití člověka se psem na lidský střevní biom poukazují na méně výrazné výsledky u dospělých, než je tomu u dětí (Azad et al. 2013; Kates et al. 2020). Dopady soužití se psem se liší v závislosti od pohlaví majitele psa – u žen vyššího věku došlo k významnějšímu nárůstu zastoupení kmene *Firmicutes* a naopak poklesu zastoupení kmene *Bacteroidetes* ve srovnání s muži vyššího věku (Jiang et al. 2022). Další studie srovnávající dopady soužití se psem kardiologických pacientů a zdravých osob stejného věku poukazuje na rozdíly mezi těmito skupinami, a to v přítomnosti *Ruminococcus*, *Anaerotruncus* a neznámým rodem *Enterobacteriaceae* u lidí nechovajících psa, které se pojí s výskytem obezity a metabolickým syndromem (Arenas-Montes et al. 2021). Naopak se u majitelů psu vyskytovaly rody *Coprococcus* a *Serratia* (Arenas-Montes et al. 2021), přičemž *Coprococcus* má protektivní účinky proti metabolickému syndromu a diabetu 2. typu (Fiorucci & Distrutti 2015) a výskyt *Serratia*, byť jde o potenciálně patogenní druh, je spojován jako ochranný faktor proti obezitě (Chiu et al. 2014). Existují i důkazy, že dochází k sdílení bakterie *Escherichia coli* v rámci celé rodiny, nevyjímaje psa (Caugant et al. 1984).

Kromě pozitivních dopadů interakcí člověka se psem je nutné zmínit i možnosti přenosu zoonóz způsobených bakteriálními druhy přenášenými psem, jako například *Campylobacter jejuni* či *Capnocytophaga canimorsus*, které mohou mít závažnější dopady na jedince s oslabenou imunitou (Oh et al. 2015; Stull et al. 2015). K sdílení bakteriálních druhů rezistentních na antibiotickou léčbu dochází pouze v omezeném množství (Røken et al. 2022).

K změnám a specifickým behaviorálním dopadům tohoto vztahu dochází i z pohledu samotného psa. Při srovnávací studii pracovních psů a psů-společníků se ukázalo, že pracovní psi jsou v plnění zadaných úkolů samostatnější a nespolehají na pomoc člověka, na rozdíl od

psů-společníků, kteří navazovali v průběhu řešení složitějších úkolů oční kontakt se svým majitelem. Samostatnost v řešení úkolů není známkou nedomestikovanosti, ale volnějšiho vztahu se svým majitelem, díky čemu mohli pracovní psy více spoléhat na svůj vlastní úsudek, než na pomoc člověka (Topál et al. 1997). Další studie poukazuje na to, že vztah mezi psem a člověkem je podobný vztahu mezi rodičem potomkem, a to nejen z pohledu člověka, ale i psa. Díky kombinaci magnetické rezonance, sledování pohybu očí a určení behaviorální preference je nyní známo, že se u psů aktivují mozgová centra analogická s centry zpracování emocí, vztahu a odměny u lidí při shlédnutí obličeje svého majitele, přičemž zobrazení cizího obličeje vedlo k aktivaci motorického a vizuálního centra mozku (Karl et al. 2020). Pro zlepšení porozumění svým majitelům, psi také vnímají směr pohledu, míru pozornosti a na základě zkušenosti čííí naše chování (Gácsi et al. 2004). Rovněž dokáží rozeznat hlas majitele od hlasu cizí osoby v nepřítomnosti dalších vizuálních či olfaktorických nápořed (Gábor et al. 2022). Díky těmto poznatkům lze říct, že vztah mezi psem a člověkem není jednostranným učením, ale spíše procesem, kdy se oba druhy snaží navzájem porozumět behaviorálním nápoředám toho druhého, správně je vyhodnotit a zvolit správné chování jako reakci probíhající interakci.

4 Metodika

4.1 Respondenti

Participantů byli rozděleni do 3 skupin – skupina lidí chovajících psa, a pes s nimi žije uvnitř bytu/domu – PU, skupina lidí kteří vlastní psa, ale drží ho mimo dům/byt – PV, a skupina lidí, kteří nemají psa – PB.

Skupina chovající psa venku se skládala z 15 párů participantů člověk a pes. Skupina chovající psa uvnitř se skládala ze 17 párů participantů člověk a pes. V případě skupiny nechovající psa byla skupina složena pouze z 15 lidských participantů. Podmínkou účasti pro všechny účastníky bylo neužívání antibiotik v průběhu posledních 30 dnů. Do skupiny PU byli zařazeni účastníci se psem žijícím převážně uvnitř bytu/domu. Do skupiny PV byli zařazeni účastníci se psem žijícím převážně venku, s žádným nebo velmi omezeným přístupem dovnitř. Do skupiny BP byli zařazeni pouze ti, kteří nevlastnili ve svém životě psa, a zároveň ani jejich rodiče nikdy psa neměli.

4.2 Kolektivizace dat

Kolektivizace dat se skládala ze 2 hlavních částí – vyplnění rozřazovacího dotazníku a sběr a odevzdání vzorků dle příslušné skupiny.

4.2.1 Dotazník

Každý účastník vyplnil online dotazník, který byl rozdělen na několik částí. V závorce jsou uvedené skupiny, kterých se jednotlivé části týkaly.

- demografické údaje – věk, pohlaví, bydliště (všechny skupiny)
- chronická onemocnění, poslední užívání antibiotik a užívání probiotik (všechny skupiny)
- přítomnost psa u participanta a rodičů (všechny skupiny)
- váha psa, počet psů ve smečce, místo převážného pobytu psa, krmení psa, užívání antibiotik a prebiotik (skupiny chovající psa)
- intenzita kontaktu se psem (skupiny chovající psa)
- souhlas s odevzdáním a zpracováním vzorku a kontaktní informace (všechny skupiny)

Seznam účastníků a vyplněné údaje jsou uvedeny v Příloze I.

Intenzita kontaktu se určovala na základě přítomnosti chování jako je olizování majitele psem, polibek člověka určený psovi a kontakt psa s nádobím a jídlem člověka.

4.2.2 Sběr vzorků

Každý vzorek byl odebrán maximálně 24 hodin před předáním do čisté odběrové nádoby, která byla označena přiděleným kódem. Každá nádoba obsahovala pouze jeden vzorek. V čase mezi odběrem a předáním byl vzorek skladován v chladu. Po předání byl vzorek zamražen a uchován až do doby jeho analýzy.

4.3 Analýza vzorku

Analýza vzorku probíhala v několika krocích – izolace DNA, analýza bakteriálního profilu mikrobiomu, součástí čeho byly také metody PCR, DGGE, Sangerovo sekvenování a programy Bioedit Sequence, Geneious prime a BioNumerics.

4.3.1 Izolace DNA

Prvním krokem byla izolace DNA ze vzorku exkrementu. Izolace byla provedena pomocí testovací sady QIAamp® PowerFecal® Pro DNA Kit, dle kroků uvedených v příloženém návodu, který je také dostupný na webových stránkách výrobce (www.qiagen.com). Prvním krokem bylo zvážení 0,15-0,20 g zmraženého vzorku a jeho umístění do zkumavek obsahující jemné kamínky, účelem kterých je mechanická homogenizace. K vzorku bylo přidání 800 µl roztoku CD1. Vzorky byly společně temperovány po dobu 10 minut při teplotě 65 °C. Posléze byly umístěny na vortex (Vortex adapter tube holder, 13 000-V1-24), kde byly vzorky vortexovány při maximální rychlosti po dobu 10 minut. Po dokončení vortexování byly vzorky umístěny na centrifugu, kde byly centrifugovány při 14 000 x g po dobu 1 minuty. Díky odstředivé síle se vzorek rozdělil do pevné a kapalné vrstvy (supernatant). Supernatant o objemu 600 µl byl přenesen do nové mikrocentrifugační zkumavky a po přidání 200 µl roztoku CD2 promíchán (CD2 byl skladován v lednici). Vzorek byl poté centrifugován rychlostí 14 000 x g po dobu 1 minuty. 600 µl vzniklého supernatantu bylo přeneseno do nové mikrocentrifugační zkumavky, do které bylo poté přidání 600 µl roztoku CD3 a vzniklý lyzát byl promíchán. 650 µl lyzátu bylo přeneseno do MB Spin kolony s membránou a poté centrifugováno při rychlosti 14 000 x g po dobu 1 minuty. Filtrát byl odstraněn a tento krok zopakován ještě jednou se zbytkem lyzátu. Druhý filtrát byl rovněž odstraněn. Do kolony bylo přidáno 500 µl roztoku EA (ethanolu) a roztok byl centrifugován při 14 000 x g po dobu 1 minuty. Filtrát byl odstraněn a do kolony bylo přidáno 500 µl roztoku C5 a roztok byl centrifugován při 14 000 x g po dobu 1 minuty. Kolona s membránou byla poté umístěna do nové sběrné zkumavky. Ta byla centrifugována při 16 000 x g po dobu 2 minut. Vysušená kolona byla umístěna do nové eluční zkumavky. Do centra membrány kolony bylo nejdříve přidáno 100 µl roztoku C6, poté došlo k její centrifugaci při rychlosti 14 000 x g po dobu 1 minuty. Kolona byla odstraněna a eluční zkumavka s izolovanou DNA přesunuta k dalšímu kroku – kontrole koncentrace a čistotě vzorků.

Kontrola koncentrace a čistoty každého vzorku probíhala na přístroji NanoDrop ONE. Kontrola probíhala při vlnových délkách 260 nm a 280 nm, kdy hodnota absorbance při 260 nm označuje koncentraci DNA a při 280 nm čistotu vzorku nukleové kyseliny a absenci kontaminace.

Po izolaci a kontrole koncentrace byly zkumavky uloženy do mrazáku nastaveného na teplotu -20°C až do doby jejich další analýzy. Celkový počet zpracovaných vzorků činil 74.

4.3.2 Analýza bakteriálního profilu střevního mikrobiomu

Výsledkem předchozího kroku je izolovaná DNA ze vzorku stolice. K další analýze je potřebná pouze bakteriální DNA, a proto je na tuto část genetické informace, konkrétně oblast V3 genu 16S rRNA, byla zaměřena i amplifikace, která následovala v dalších krocích. Tato analýza mikrobiálního profilu pomocí PCR-DGGE probíhala s použitím DCode™ Universal Mutation Detection System (Bio-Rad) dle Muyzer et al. (1993).

4.3.2.1 Příprava PCR ampliconů z 16S rDNA

Prvním krokem bylo namíchání reaktantů PCR reakce pro každý vzorek dle tabulky 1 (Tab.1).

Tab.1 Reaktanty PCR a jejich množství pro každý analyzovaný vzorek

Látka	Množství
Vzorek DNA	1 µl
Forward primer 10x338GC	1 µl
Reverse primer 10x534R	1 µl
PCR mix	15 µl
dH2O	12 µl
Celkem	30 µl

Reaktanty byly smíchané v 200 µl mikrozkuhavce a umístěny do bloku termocyklu Biometra TAdvanced. Na přístroji byl zvolen program s názvem PCR-DGGE, který trval celkem 1 hodinu 40 minut a v průběhu kterého docházelo k cyklickému opakování jednotlivých časově omezených kroků za určitých změn teploty, které urychlovaly probíhající denaturaci DNA. Konkrétní kroky programu PCR-DGGE jsou uvedeny v tabulce 2 (Tab.2)

Tab.2 Kroky programu PCR-DGGE na přístroji Biometra TAdvanced

Krok	Teplota (°C)	Trvání
1.	95	5 minut
2.	95	30 sekund
3.	61	20 sekund
4.	72	40 sekund
5.	72	5 minut
6.	8	Do vychladnutí nebo ukončení programu

4.3.2.2 Kontrola ampliconů PCR

Kontrola proběhlé PCR reakce se provedla s pomocí agarózové elektroforézy. Agarózový gel byl čerstvě namíchán v koncentraci 1,5 % v pufru TBE. Po jeho zahřátí, odstavení z plotýnky a částečném vychladnutí bylo přidáno barvivo - 3 µl PCR ethidium bromide. Posléze byl gel

přelit na elektroforézovou misku, do misky vložen hřebínek o potřebném počtu jamek a gel ponechán ke kompletnímu ztuhnutí. Posléze byl hřebínek opatrně vytažen. Do první jamky byl aplikován DNA marker 200-1500 v množství 5 µl, do ostatních po 3 µl amplikonu. Samotná elektroforéza běžela p dobu 30 minut při 100 V. Výsledkem reakce měli být výrazné DNA fragmenty o velikosti 200 bp.

4.3.2.3 DGGE

Nejdříve bylo nutné sestavit DGGE aparaturu – malé sklo, velké sklo, svorky, spacers pro vytvoření prostoru pro gel, gumový proložka předcházející vytečení gelu a to vše vloženo ve stojanu dle instrukcí k užívání této aparatury. Bylo nutné dbát na vytvoření těsného spoje mezi jednotlivými komponenty, aby nedošlo k vylití nadměrného množství gelu mimo aparát. Separace molekul DNA proběhla v gelu s denaturační silou v gradientu 35-60 %. Tento gradient gelu byl vytvořen smícháním 2 roztoků o rozdílném složení (tab.3.) o objemech 25 ml pro každý běh DGGE.

Tab.3 Složení roztoků pro DGGE

	35% roztok	60 % roztok
40% akrylamid	5,560 ml	5,560 ml
50x TAE	0,500 ml	0,500 ml
Formamid	3,500 ml	6,000 ml
Močovina	3,675 ml	6,300 ml
Deionizovaná voda	12,250 ml	9,500 ml

K vytvoření gradientu a naplnění DGGE aparátu se používá systém 2 spojených nádob. Před použitím je nutné jej propláchnout deionizovanou vodou, aby se zamezila možnost ucpání přívodu gelu pozůstatkem předchozího běhu či vzniklou vzduchovou bublinou. Po pročištění byl uzavřen spojovací kanál. Do levé nádoby byl nalit roztok o koncentraci 35 %, do pravé o koncentraci 60 %. Posléze byly do každé nádoby přidány roztoky potřebné pro ztuhnutí gelu – 200 µl 10% peroxidisíranu amonného a 20 µl roztoku TEMED. Přívodová jehla byla vložena do DGGE aparátu, kanál mezi nádobami otevřen a hnací motor pro přívod gelu byl spuštěn. Jakmile dosáhla hladina gelu v aparátu přibližně vzdálenosti 0,5 cm od vrchního okraje, aparát byl vypnut a přívodová jehla vytažena z aparátu. Proběhla kontrola vyteklého gelu – v případě minimálního množství byl do gelu vložen hřebínek a gel byl ponechán k ztuhnutí. Pokud bylo množství unikajícího gelu větší, gel byl okamžitě doplněn aby jeho hladina odpovídala požadavkům metody. Posléze byl hnací aparát propláchnut deionizovanou vodou a nakonec odpojen. Tuhnutí gelu trvalo přibližně 45 minut.

Do DGGE nádoby bylo nalito 7 l TAE pufrem až po hranici vyznačenou na nádobě. Toto množství lze použít pro 4 DGGE analýzy. Bylo spuštěno topení a cirkulace roztoku. Před dalším krokem bylo topení a cirkulace vypnuté.

Po ztuhnutí DGGE gelu byl hřebínek vyjmut, aparát vloženo do DGGE rámu a rám přenesen do DGGE nádoby. Jamky byly naplněné TAE pufrem. Kvůli zkreslení byly vynechány okrajové jamky a standard a vzorek byl aplikován do jednotlivých jamek. Posléze byla nádoba uzavřena

víkem, zapnuté topení, a cirkulace pro napětí 30 V. Jakmile byla dosažena teplota 60 °C, napětí bylo zvýšeno na 55 V.

Po uplynutí 17-18 hodin byl přístroj, včetně topení a cirkulace, vypnut. Gel byl odstraněn z rámu a aparátu a vložen do nádoby k obarvení pomocí 7 µl SYBR Green barviva. Nádoba s víkem byla promíchávána po dobu 30 minut, aby byla zajištěna dobrá disperze barvy napříč gelem.

4.3.2.4 Sekvence DGGE bandů

Pro sekvenaci DGGE bandů bylo nutné vybrané bandy vyříznout skalpem za osvětlení UV transiluminátorem. Poté byly vloženy do mikrozkušavky, do kterých bylo přidáno 100 µl vody. Zkušavky byly centrifugovány po dobu 10 minut při 10 000 otáček za minutu. Tím vznikl kapalný vzorek pro další PCR reakci. Pro tuto reakci bylo potřeba namíchat nový roztok (tab.4).

Tab.4 Složení roztoku pro PCR pro vybrané DGGE bandy

Látka	Množství
Band	5 µl
Forward primer 10x341	1 µl
Reverse primer 10x534	1 µl
PCR mix	15 µl
dH2O	8 µl
Celkem	30 µl

Vzorky byly vloženy do termocyklieru a spuštěn program PCR-DGGE, který byl již popsán v kapitole 4.3.2.1. Příprava PCR amplikonů z 16S rDNA. Produkty byly zkontrolovány na agarózovém gelu.

Posléze byly kroky pročištěny sadou QIAquick PCR purification Kit, dle přiloženého návodu, který je také dostupný na webových stránkách výrobce www.qiagen.com

Posledním krokem bylo změření koncentrace nukleové kyseliny na přístroji Nanodrop. Pro tento krok byl vytvořený roztok ve zkumavce o objemu 200 µl, který se skládal z 10 vzorků, 10x naředěného primeru 341FP nebo 534R a do objemu 10 µl byl roztok doplněn vodou. Jelikož hodnoty splňovaly požadavky společnosti SEQme, která sekvenaci prováděla, vzorky byly označeny kódy a odeslány k identifikaci.

Použité primery:

338GC

CGCCCGCCGCGCCCCGCGCCCGGCCCGCCGCCGCCGCGCACTCCTACGGGAGGC
AGCAG

341FP

CCTACGGGAGGCAGCAG

534RP

ATTACCGCGGCTGCTGG

4.3.2.5 Sangerovo sekvenování

Sekvenovaná data dodány společnosti SEQme byly zadány do softwaru Geneious prime, který je volně dostupný na webové stránce www.geneious.com. S použitím tohoto programu bylo možné proměnit získaná data do sekvence nukleotidů, která posloužila k přesné identifikaci bakteriálního druhu.

Sekvence nukleotidů byla dál zpracována programem BLAST, dostupný na <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, který srovnává sekvence nukleotidů (nebo proteinů) s databází Národního Centra pro biotechnologické informace (NCBI, z anglického National Center for Biotechnology Information) a na základě vypočítané statistické podobnosti určuje jejich možnou příslušnost ke konkrétnímu druhu.

4.3.2.6 Analýza DGGE gelů pomocí BioNumerics

Pro analýzu DGGE gelů bylo nutné provést normalizaci dat a vypočítat korelační matice vzorků, k čemu byl využit software Bionumerics. Normalizace spočívala v kompenzaci rozdílů v intenzitě jednotlivých bandů, díky čemu je bylo možné plnohodnotně srovnat mezi sebou. Výstupem této analýzy je dendrogram srovnávající zóny vzorků mezi sebou a vizuální vyjádření shlukování jednotlivých vzorků na základě jejich podobnosti pomocí PCoA analýzy (z anglického Principal Coordinates Analysis), jinak nazývaného i vícerozměrové škálování.

5 Výsledky

5.1 Výsledky dotazníku

Dotazník vyplnilo celkem 45 osob, které zároveň poskytli vzorek stolice k analýze, z toho 32 žen a 13 mužů (Příloha 1). Žádný z respondentů neužíval antibiotika 3 měsíce před odběrem vzorku exkrementu. 25 lidí užívalo probiotika či fermentované potraviny do 30 dní před odběrem. 10 lidí trpělo jedním nebo vícero chronickými onemocněními – astma, diabetes 2. typu, záněty prostaty, hypotyreóza, autoimunitní onemocnění štítné žlázy, únavový syndrom či alergie. Věk participantů se pohyboval mezi 18 až 60+, nejpočetnější skupinou byly skupiny 22-30 a 30-40 let. Většina účastníků bydlela v Praze a Středočeském kraji. Ze skupiny BP nevlastnil nikdo psa, a zároveň ani žádný z jeho rodičů nevlastnil ve svém životě psa. Ve skupinách PU a PV nevlastnilo 8 rodičů respondentů nikdy psa. Míru kontaktu se psem lze rozdělit dle přítomnosti 4 prvků – možný kontakt psa s pokrmem majitele, sdílení jídla se psem, olíznutí majitele psem a polibky psa majitelem, přičemž byly první dva parametry a druhé dva parametry mezi sebou spárované a hodnocené ve stejném kritériu.

Dotazník se také týkal 29 psů, žijících v jedné domácnosti s jejich majitelem. 15 ve skupině PU a 14 ve skupině PV. Celkem 7 psů byly v měsíci před odběrem vzorku podány probiotika či fermentované potraviny. Žádný ze psů neužíval 3 měsíce před odběrem žádná antibiotika. Na základě majiteli vyplněného dotazníku byla skladba psí stravy následující: nejčastějšími krmivy ve skupině PU i PV byly granule spolu s konzervovaným krmivem, na druhém místě BARF. Všichni psi ze skupiny PU bydlí převážně uvnitř a mají přístup do většiny obydlí, 10 psů ze skupiny PV bydlí převážně venku a nemá přístup do obydlí majitele, zbývající 4 psi mají pouze omezený přístup do neobývaných místností. Pouze 2 psi ze skupiny PU nespali v posteli, ve skupině PV převládalo nocování v kenele a pelechu psa. Ve skupině PU byly váhové kategorie psů vyrovnané: 7 psů mezi 5 a 19 kg a 8 psů mezi 20 a 40 kg. Ve skupině PV převládali psi ve vyšší váhové kategorii (13) nad jediným jedincem s váhou nižší než 20 kg. Všichni psi se rovněž lišili ve svém plemeni, nejvyšší zastoupení měli kříženci a němečtí ovčáci. Věk psů se pohyboval mezi rokem a 13 lety.

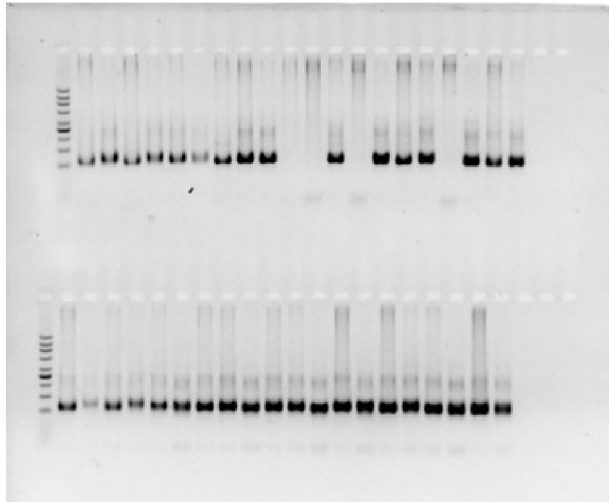
5.2 Zpracování DNA

Izolace DNA

Pomocí testovací sady bylo ze 74 vzorku izolována DNA pomocí QIAamp® PowerFecal® Pro DNA Kit. Posléze byla naměřena koncentrace DNA v každém izolátu při vlnové délce 260 nm a jeho čistota, určena jako poměr absorbancí A260/A280. Koncentrace se pohybovala v rozmezí 8,965 - 1567,281 ng/μl a čistota v rozmezí 1,772 - 1,890. Při nižších hodnotách je vyšší míra kontaminace vzorku, vyšší hodnoty naopak poukazují na nekontaminovaný vzorek.

Agarózova elektroforéza

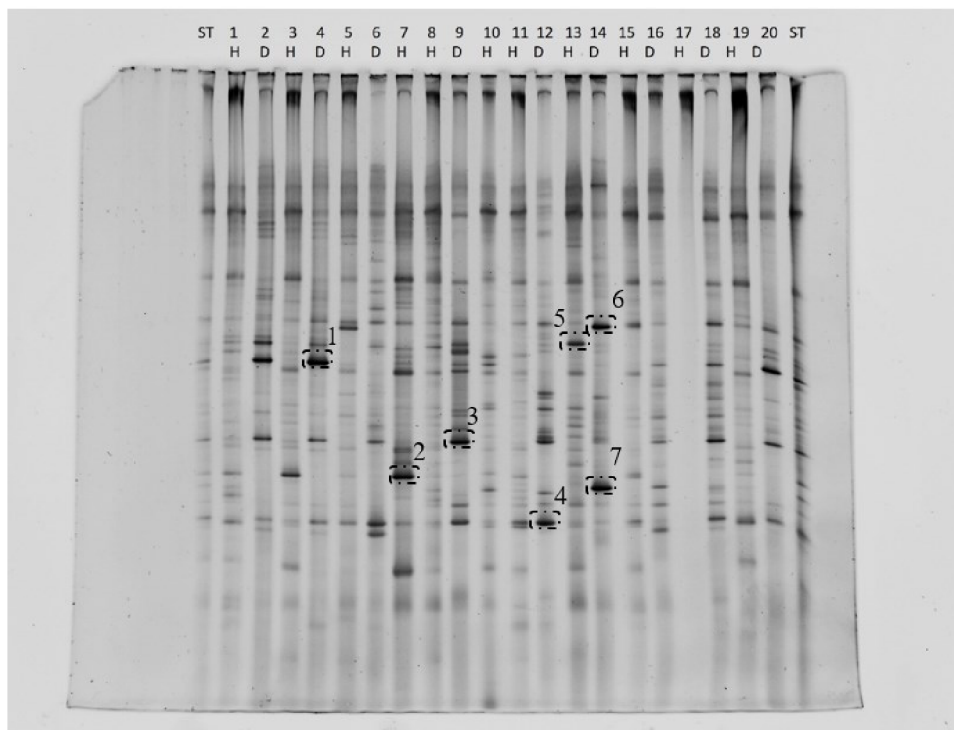
Úspěšnost proběhlé PCR reakce byla ověřena pomocí agarózové elektroforézy (obr.1). Na levé straně se nachází velikostní marker od společnosti Top Bio s.r.o, na pravo od něj následovaly jednotlivé vzorky. Pro lepší vizualizaci výsledků byl gel obarven ethidium bromidem a po doběhnutí reakce byly výsledky vyfotografovány na UV světle. Tmavé úseky označují dostatečnou koncentraci fragmentů velikosti 200 bp ve vzorcích.



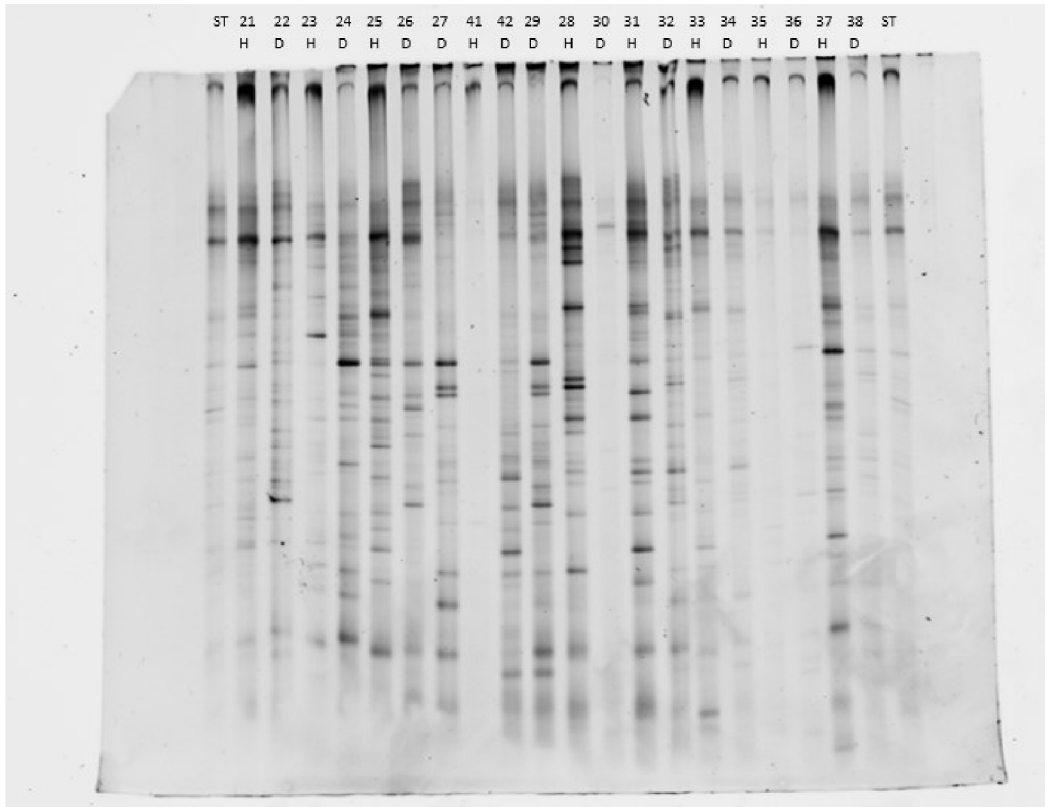
Obr.1 Agarózová elektroforéza jako pověření úspěšnosti proběhlé PCR reakce

DGGE

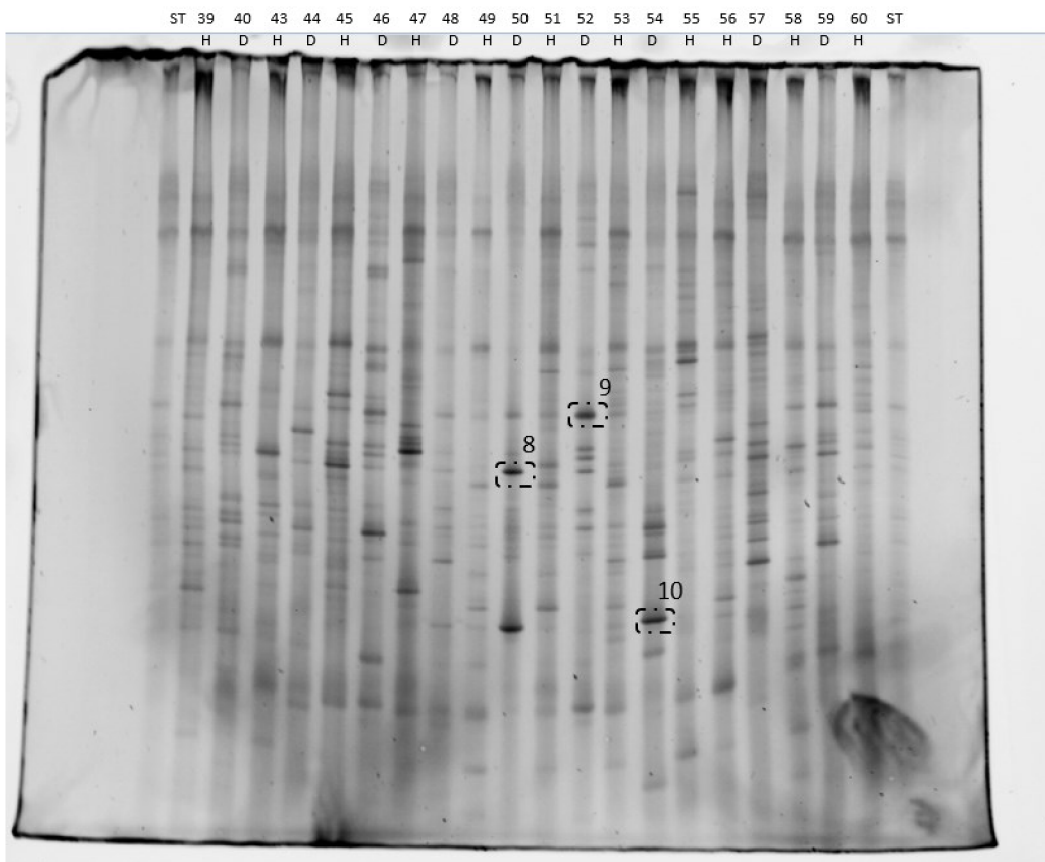
Průběh DGGE analýzy biom vizualizován pod UV světlem (Obr.2 - Obr.5). Z důvodů omezené kapacity aparatury musely proběhnout celkem 4 běhy DGGE. Každý svislý pás byl individuální vzorek. Z těchto pásů bylo vybráno 10 úseků odeslaných k analýze a identifikaci do externí laboratoře. Tyto úseky byly zvoleny z bandů ve stejné úrovni, případně ojedinělé a jinde neopakované, které měly intenzivnější zbarvení než ostatní bandy. Toto výraznější zbarvení označovalo vyšší koncentraci genetické informace.



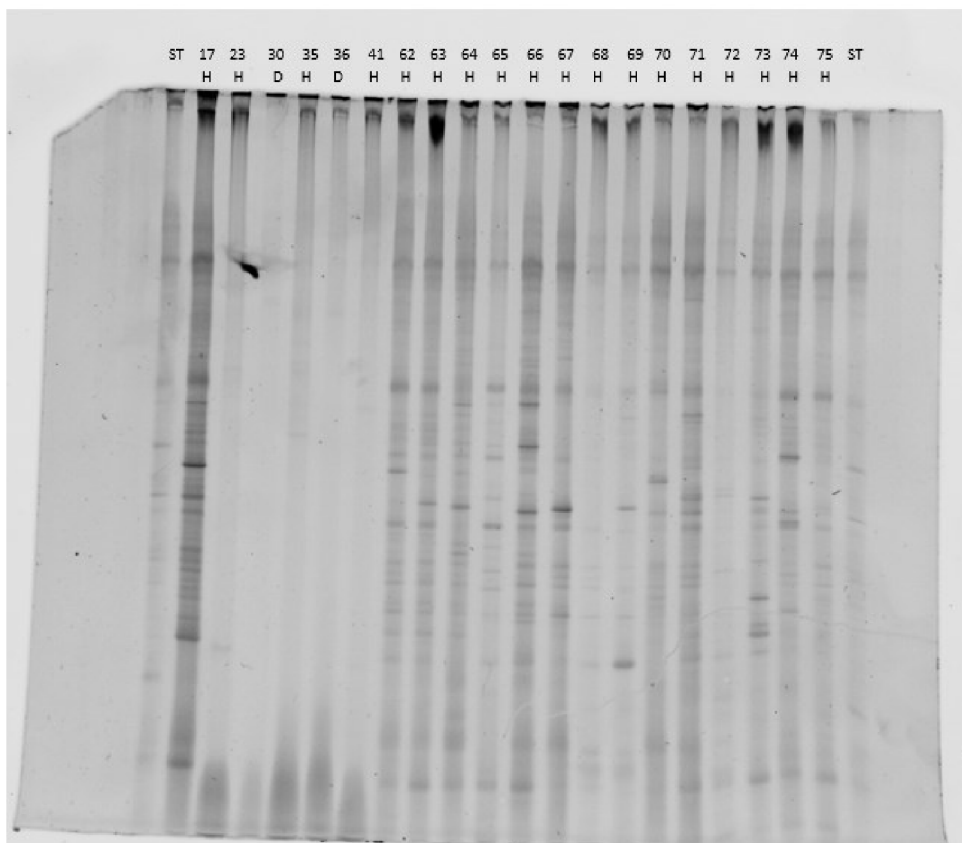
Obr.2 Vizualizace proběhlé DGGE reakce gelu 1 a označené bandy 1-7, které byly odeslány k sekvenaci, H – člověk, D – pes



Obr.3 Vizualizace proběhlé DGGE reakce gelu 2, H – člověk, D – pes



Obr.4 Vizualizace proběhlé DGGE reakce gelu 3 a označené bandy 8-10, které byly odeslány k sekvenaci, H – člověk, D – pes



Obr.5 Vizualizace proběhlé DGGE reakce gelu 4, H – člověk, D – pes

5.3 Sekvenování a identifikace druhů

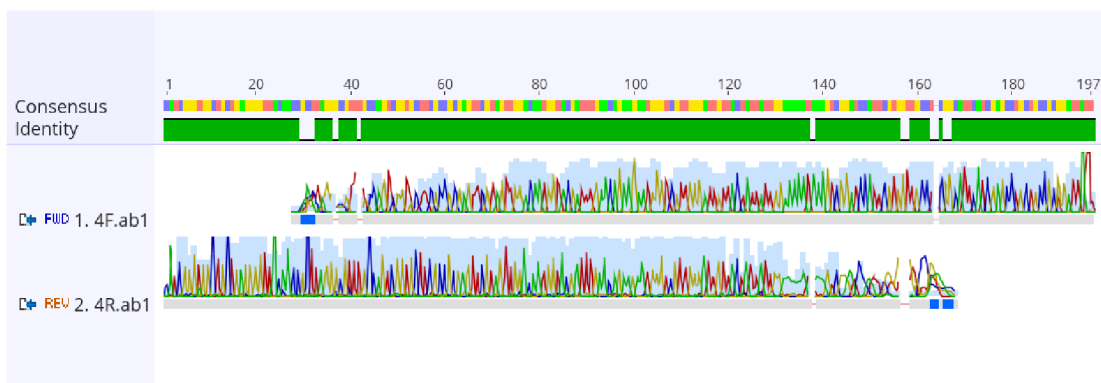
Zvolené úseky byly zpracovány dle pokynů společnosti SEQme s.r.o, která následně provedla Sangerovo sekvenování.

Vyhodnocení Sangerova sekvenování

Z celkového počtu 10 vzorků odeslaných k sekvenování bylo úspěšně osekvenováno pouze 8. 2 vzorky (band číslo 5 a 10) nebylo možné osekvenovat z důvodu jejich vysoké kontaminace.

Identifikace bakteriálních sekvencí

Na základě získaných sekvencí byly určeny druhy přítomné v analyzovaných vzorcích střevního biomu. K identifikaci byl použit software Geneious, který nukleotidové sekvence připravil (Obr.6), a dále genetická databáze NCBI (z anglického The National Center for Biotechnology Information) při využití algoritmu BLAST (z anglického Basic Local Alignment Search Tool). Po vložení zvolené sekvence do vyhledávání v rámci bakteriální databáze 16S rRNA byla určena procentuální shoda s dříve identifikovanými druhy bakterií.



Obr.6 Osekvovaný úsek bakteriální DNA, č.1

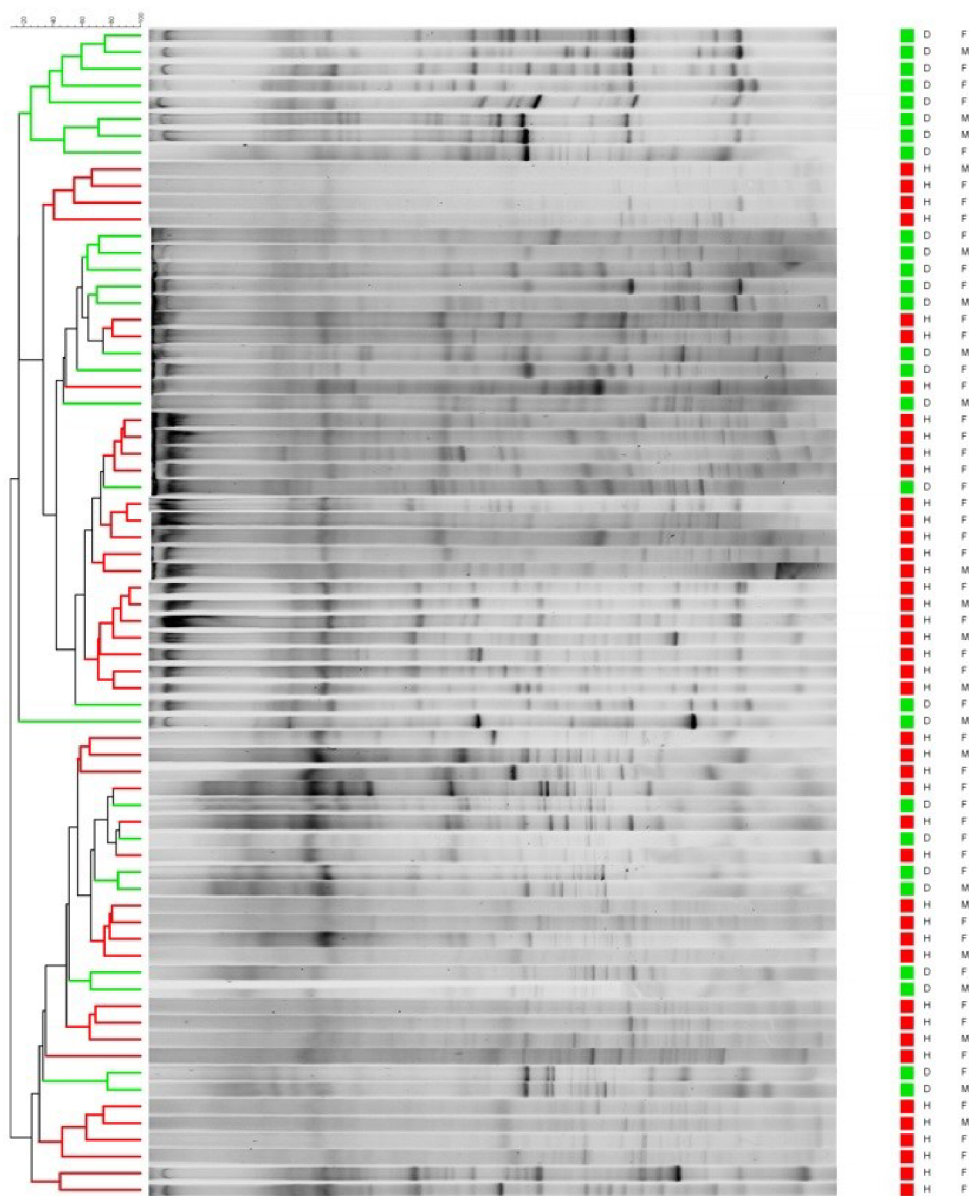
Přehled identifikovaných druhů

Algoritmus BLAST hledá shodu s již identifikovanými druhy mikroorganismů v rámci použité databáze. Shoda, označena jako identita, může dosahovat hodnot od 0 do 100 %, přičemž hodnoty identity pod 96 % naznačují buď nepřítomnost nukleotidové sekvence v databázi, nebo její nedostatečnou kvalitu, kvůli které nemohlo dojít k její reprezentativní identifikaci. Pokud jsou hodnoty identity vyšší než 97 %, identifikace je považována za reprezentativní. Bakteriální druh jednoho z osekvenovaných bandů (č.9) nebylo možné určit.

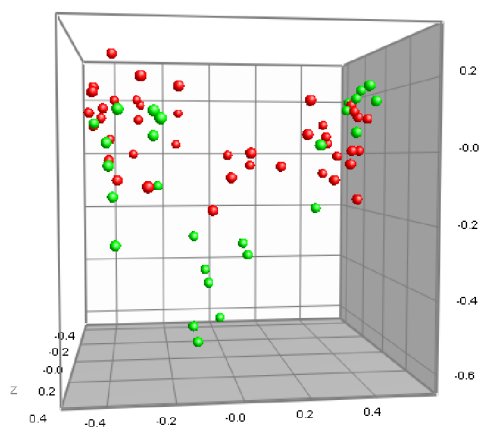
Tab.5 Přehled identifikovaných bakteriálních druhů

Číslo bandu	Číslo vzorku	Identifikovaný druh	Identita	Označení
1	4	Megamonas rupellensis	99 %	NR_044473.1
2	7	Pseudobutyrvibrio ruminis	99 %	NR_026315.1
3	9	Fusobacterium gastrois	100 %	NR_146837.2
4	12	Blautia hominis	100 %	NR_163638.1
6	14	Turicibacter sanguinis	99 %	NR_028816.1
7	14	Streptococcus	100 %	
8	50	Megamonas rupellensis	82 %	NR_044473.1

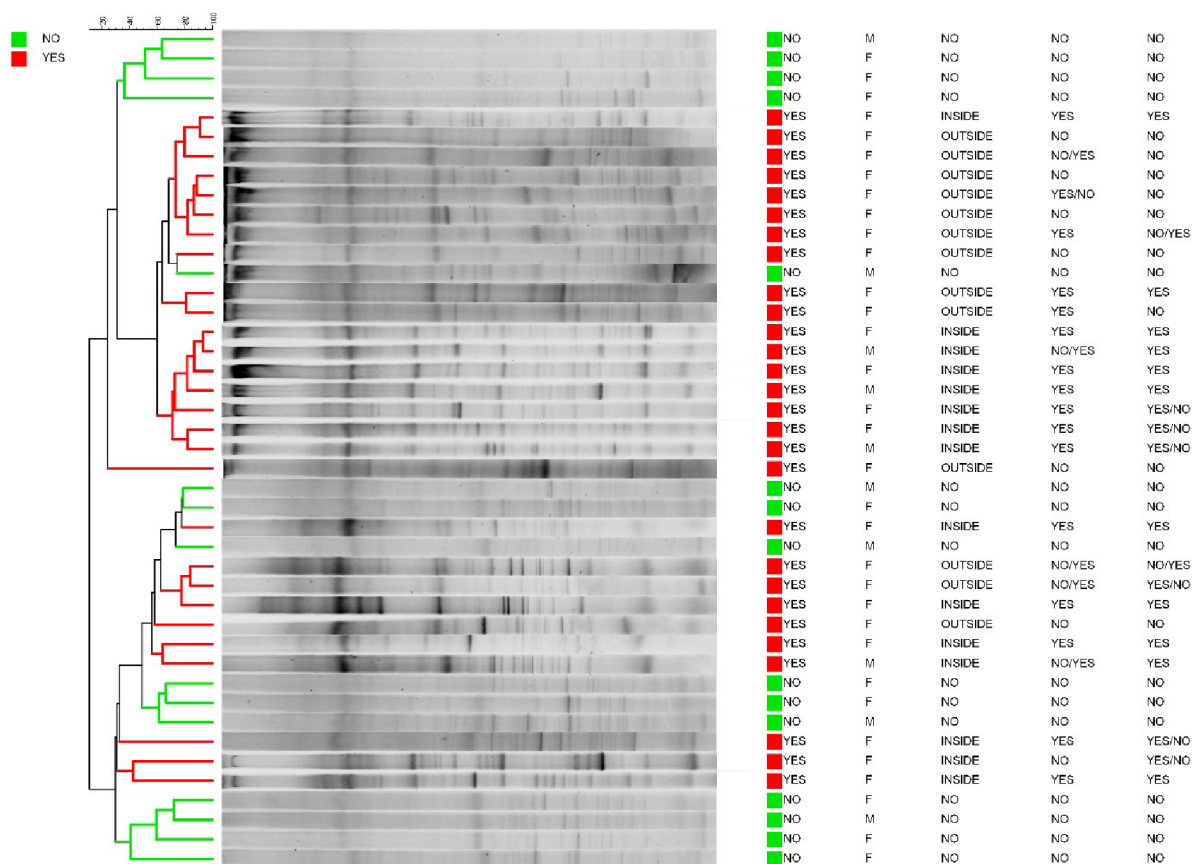
Výsledky sekvenování byly analyzovány pomocí volně přístupného softwaru BioNumerics. Daný program umožňoval sloučení výsledků na základě vložených parametrů a tím je mezi sebou srovnat a pozorovat vzniklé skupiny. Jednou z technik je i metrické vícerozměrové škálování, také označované jako PCoA (z anglického Principal coordinates analysis, která umožňuje vizualizaci rozdílů mezi zvolenými skupinami dat (Obr.8, Obr.10, Obr.12, Obr.14). Vzdálenost mezi jednotlivými body zobrazuje jejich vzájemnou podobnost – bližší body jsou si více podobné, než ty vzdálenější. Ke každému PCoA zobrazení se pojí i dendrogram (Obr. 7, Obr.9, Obr.11, Obr.13) který vyjadřuje příbuznost přítomných bakteriálních druhů.



Obr.7 Dendrogram srovnávající složení střevního biomů psů (zelená) a člověka (červená); D – pes, H – člověk, F – žena, M – muž

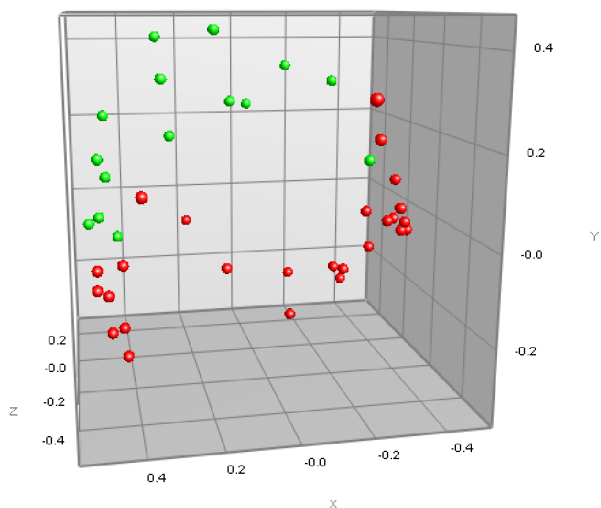


Obr.8 Vizualizace výsledků srovnání složení biomů psa a člověka v softwaru BioNumerics metrickou technikou vícerozměrného škálování (zelená – pes, červená – člověk)

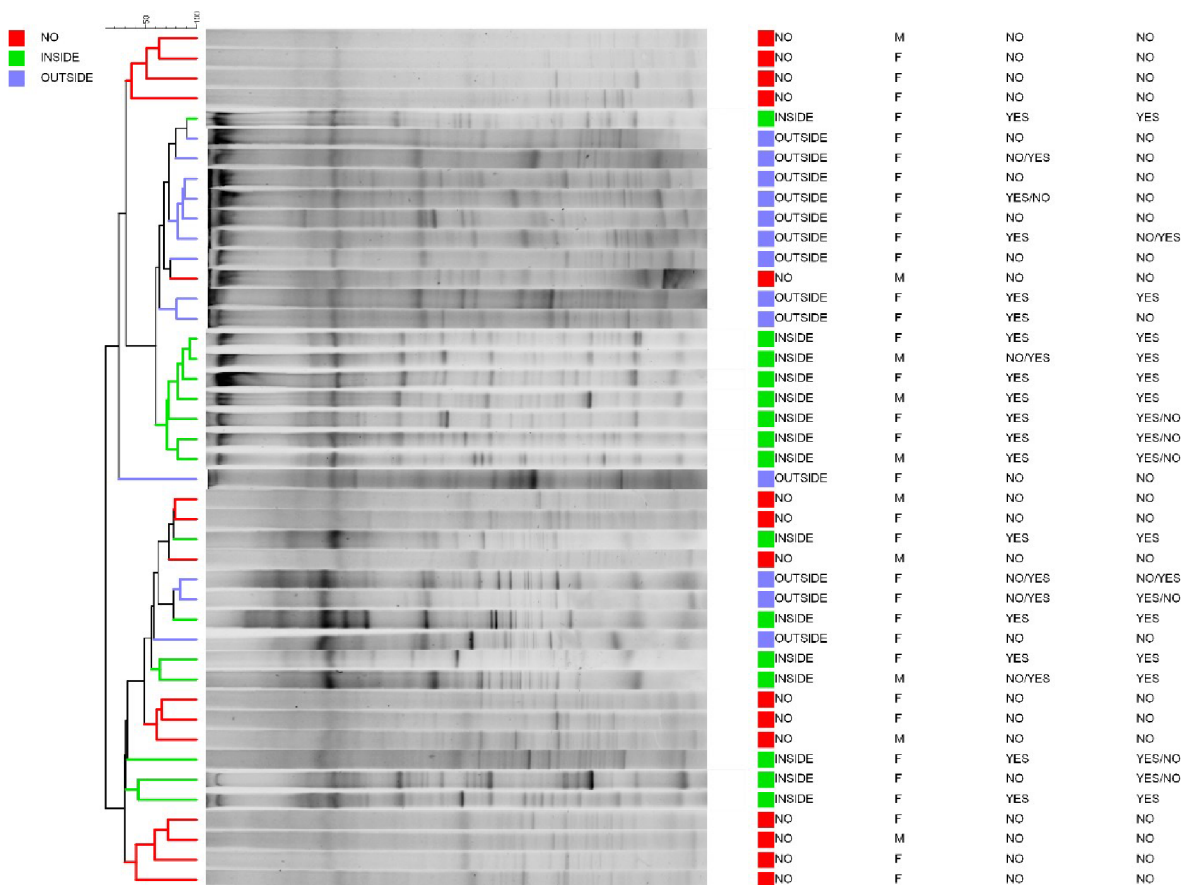


Obr.9 Dendrogram srovnávající složení střevního biomů lidí vlastníků (červená) a nevlastníků (zelená) psa.

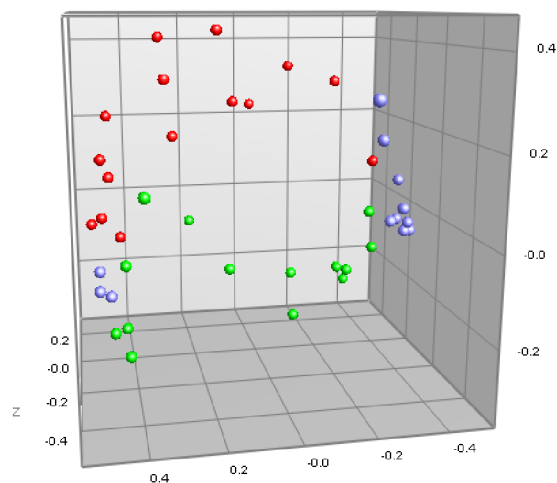
Sloupec 1: Yes – vlastní psa, No – nevlastní psa; sl. 2: F – žena, M – muž; sl. 3: Inside – pes chovaný uvnitř, Outside – pes chovaný venku, No – bez psa; sl.4: Přítomnost oblizování/polibků Ano/Ne, sl.5: kontakt s nádobím/jidlem Ano/Ne.



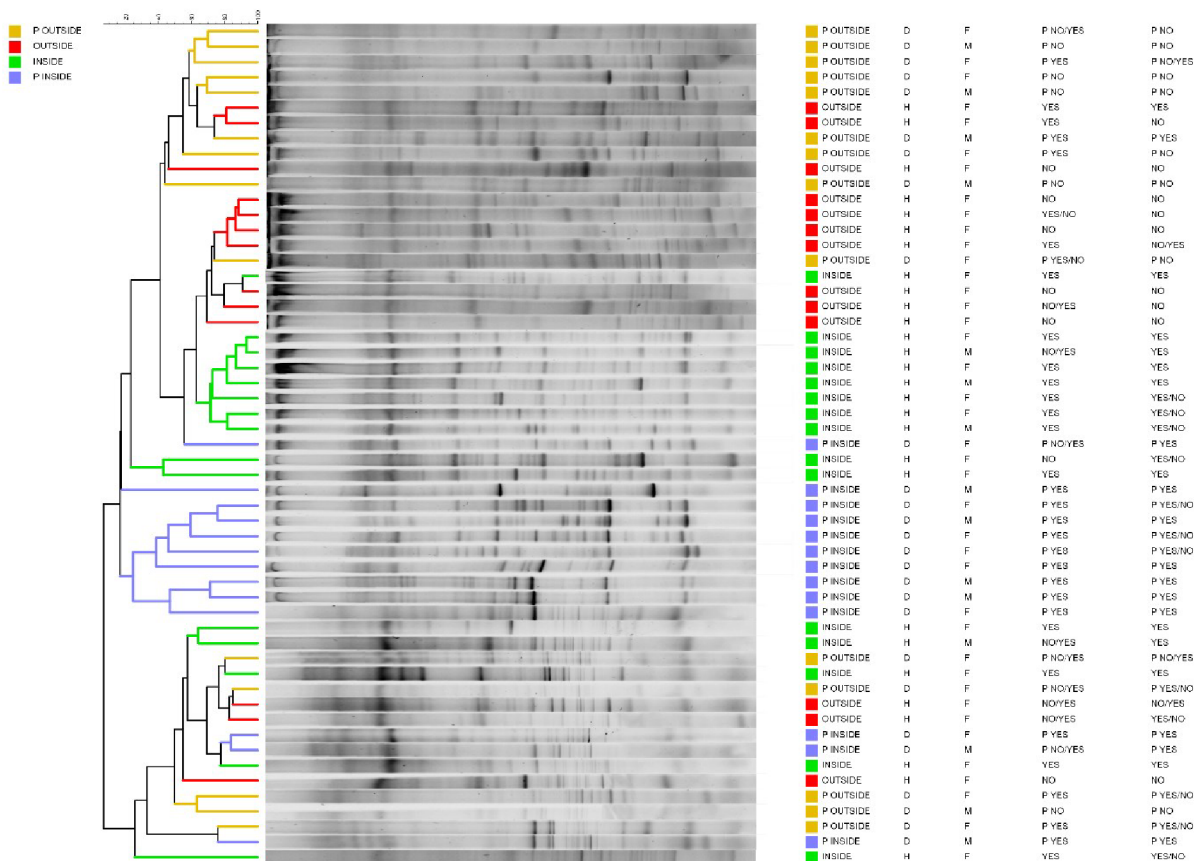
Obr.10 Vizualizace srovnání lidí vlastníků a nevlastníků psa v softwaru BioNumerics metrickou technikou vícerozměrného škálování, červená – vlastní psa, zelená – nevlastní psa



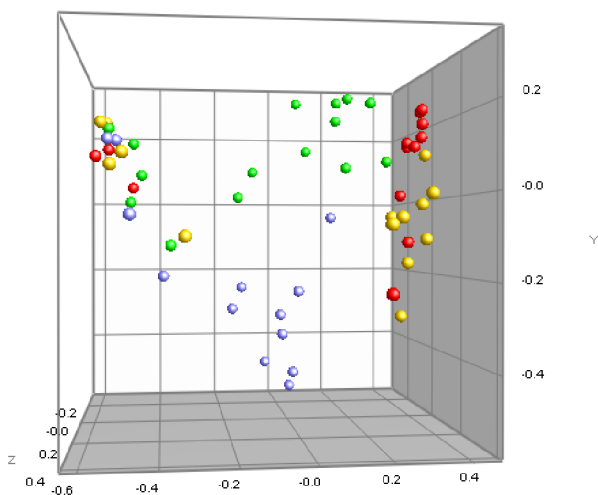
Obr.11 Dendrogram srovnávající složení střevního biomů lidí vlastníků psa uvnitř (zelená), venku (modrá) a nevlastnicích (červená) psa – 1.sloupec. 2.sl.: F – žena, M – muž; sl. 3: Přítomnost oblizování/polibků Ano/Ne, sl.4: kontakt s nádobím/jídlem Ano/Ne.



Obr.12 Vizualizace srovnání střevních biomů lidí vlastníků psa uvnitř, venku a nevlastnicích psa v softwaru BioNumerics metrickou technikou vícerozměrného škálování (zelená – pes uvnitř, modrá – pes venku, červená – bez psa)



Obr.13 Dendrogram srovnávající složení střevního biomů lidí vlastníků psa uvnitř (zelená), venku (červená) a psů uvnitř (modrá) a venku (žlutá) – 1.sloupec.; 2.sl: H – člověk, D – pes; 3.sl: F – žena, M – muž; sl. 4: Přítomnost oblizování/polibků (člověk) Ano/Ne, (pes) P Ano/Ne; sl.5: kontakt s nádobím/jídlem (člověk) Ano/Ne, (pes) P Ano/Ne.



Obr.14 Vizualizace srovnání střevních biomů lidí vlastníků psa uvnitř (zelená), venku (červená) a psů uvnitř (modrá) a venku (žlutá) v softwaru BioNumerics metrickou technikou vícerozměrného škálování.

6 Diskuze

Cílem této diplomové práce bylo posoudit, zda společné soužití člověka a psa ovlivňuje složení jejich střevních biotů.

Složení střevního biotu není konstantní po celou dobu života jedince. Základní rozdíly lze pozorovat mezi pohlavími či velikostními kategoriemi psů. Na úrovni jedince se střevní biot mění s věkem, ovulačním cyklem, stravou, užíváním probiotik či antibiotik, životním stylem, množstvím spánku i množstvím stresu v každodenním životě. Kromě těchto vlivů jsou však pozorované i dopady spolužití s dalšími jedinci, a tak jak mezi lidmi, tak i při soužití s domácím mazlíčkem.

Vzorky k analýze byly sbírány od 3 skupin respondentů – lidí, kteří nikdy nevlastnili psa, lidí vlastních psa chovaného uvnitř a jejich psů a nakonec lidí vlastníciho psa, který je chovaný venku. Na základě výsledků DGGE analýzy byly vyloučeny vzorky číslo 30, 35, 36 a 41, a to z důvodu absentující reakce. Důvodem pro to může být chybné provedení amplifikace DNA kvůli vyšší poruchovosti termocyklieru. Z toho samého důvodu i jsou jednotlivé bandy na fotografiích pořízených pod UV světlem v některých případech méně výrazné, nežli u podobného typu reakcí žádoucí. V případě vzorku č. 30 byla koncentrace DNA ve vzorku pouze 8,965 ng/μl, šlo tudíž o nejméně koncentrovaný vzorek ze všech analyzovaných. Důvodem nižší koncentrace mohl být delší čas mezi odběrem vzorku a jeho analýzou nebo jeho nevhodná část, která byla dále analyzována. U vzorků 35, 36, 41 se koncentrace pohybovala v rozmezí 150–299 ng/μl. Chyba musela nastat v průběhu amplifikace. U některých analyzovaných vzorků je v DGEE výsledcích pozorován značný smile-efekt, tedy zakřivení způsobené jejich okrajovou pozicí na DGGE gelu, nehledě na vynechání 2 krajních jamek z každé strany při aplikaci vzorků do gelu.

Při srovnání střevních biotů lidí vlastnícih psů s těmi, kteří psa nevlastní a nikdy s ním nepřišli do dlouhodobého kontaktu je zřetelné, že se srovnávané vzorky vytvořily dva klastry. Na základě zobrazení (obr.9 a obr.10) lze říct, že se vzorky mezi sebou liší. Spolužití se psem tak ovlivňuje nejen sociální a celkový zdravotní stav svého majitele, ale má dopady i na jeho střevní biot. Tyto výsledky korelují s poznatky Dr. Fujimara, který zmiňuje dopady přítomnosti psa v domácnosti na biot majitele či jeho rodiny, a to rozšířením přirozeného bakteriálního osídlení na površích domácnosti (Fujimura et al. 2014). K tomuto rozšíření dochází dvojakým způsobem – v době jeho pořízení dochází k osídlení prostorů novými druhy bakterií, které se v domácnostech bez psa vyskytují pouze zřídka; druhým je významnější posun v taxonech po uplynutí delšího časového úseku (Sitarik et al. 2018). V případě této práce byli všichni respondenti majiteli psa po delší dobu, než je 1 rok, díky čemuž je efekt psí přítomnosti v domácnosti znatelnější.

Srovnání střevních biotů všech lidí – vlastnícih psů uvnitř, venku u psů nevlastniči, se vytvořily 4 rozdílné klastry – lidé bez psa, lidé se psem uvnitř a dva klastry lidí se psem chovaným venku (obr.11 a obr.12). Složení střevního biotu se u lidí vlastnícih psů liší na základě umístění psa, jak je již zmíněno v předchozím odstavci. Jak je z výsledků patrné (obr.12), lidé chovající psa doma a venku se od sebe navzájem liší. Primárním rozdílem je místo pobytu. Většina účastníků chovajícího psa uvnitř žijí ve velkoměstě (Praze), na druhém místě je Středočeský kraj. Na druhou stranu je však místo pobytu lidí chovajícíh psů venku mnohem různorodější a pouze 2 účastníci žijí ve velkoměstě. Prostředí je známým faktorem, který

ovlivňuje skladbu biomu, jelikož lidé žijící ve městech zakládají spíše menší rodiny a nevěnují se chovu zvířat a pěstování rostlin do takové míry, jako lidé žijící mimo velká města v obcích či na vsích (Ying et al. 2015; Lehtimäki et al. 2020). Další rozdíly mezi těmito 2 skupinami lidí mohou být způsobené rozdílným životním stylem – v městech převažuje bydlení v bytech s omezeným kontaktem s přírodou, na rozdíl od těch, kteří bydlí v rodinných domech, což je častější mimo území velkoměst (Ying et al. 2015; Kates et al. 2020).

Při srovnání střevních biomů majitelů psů chovaných uvnitř a venku s jejich psy vyplynulo, že klastr majitelů psů chovaných uvnitř je oddělený od klastru jejich psů (Obr.13, Obr.14). Majitelé psů chovaných venku a jejich psy se rozdělily na dva klastry. Je možné, že menší klastr tvoří lidé dříve vlastníci i psa uvnitř, případně vlastníci psy uvnitř i venku zároveň. Zároveň lze připustit, že tento jev má i jiné, více opodstatněné vysvětlení. To nám pro tuto chvíli není zcela známé. Z PCoA zobrazení (obr. 14) je také zřetelné, že lidé chovající psa uvnitř a jejich psi spolu nesdílejí střevní biot do takové míry, jako majitelé psů a psi žijící venku. Jedním z možných vysvětlení je životní styl a místo bydliště, jak je zmíněno v předchozím odstavci. Lze předpokládat, že psi a jejich majitelé žijící mimo velkoměsta tráví více času na zahradě či v přírodě, díky čemuž přichází od intenzivnějšího kontaktu s velmi různorodým spektrem bakterií, než je tomu ve městech (Lehtimäki et al. 2018; Li et al. 2022). Díky této stimulaci z vnějšího prostředí dochází rovněž k remodelaci střevního biomu, aby byl schopen adekvátně reagovat na různorodost externích stimulů imunitního systému. Dle dotazníku jednu ze složek potravy psů chovaných venku tvořily kuchyňské zbytky, což u psů chovaných uvnitř nebylo zaznamenáno. Je rovněž možné, že psi trvale žijící venku mají pestřejší výživu, než psi chovaní uvnitř, kteří jsou krmeni zejména granulovaným a konzervovaným krmivem, případně BARF. Touto různorodostí se psi žijící venku mohou svým biotem více přiblížit lidem a jejich pestrému jídelníčku. V neposlední řadě se poznatky o rozdílném biotu lidí chovajících psa uvnitř a jejich psů ztotožňuje s výsledky jiné studie, kdy pes a jeho majitel spolu přímo nesdílejí stejné bakteriální druhy střevního biomu (Song et al. 2013). Jak poukazuje i tato studie – je možné, že při využití rozdílných parametrů skupiny majitel-pes chovaný uvnitř by bylo možné odkrýt méně zjevné sdílené vlastnosti mezi střevními bioty těchto dvou druhů. Vzhledem k tomu, že samotné skupiny účastníků nejsou zcela homogenní z pohledu stravy psa, probiotik, místa bydliště, chronických onemocnění ani počtů psů ve smečce, nelze zcela vyloučit vlivy těchto parametrů na získané výsledky i výslednou podobnost jednotlivých biotů. Metoda používající PCR-DGGE analýzy navíc není k malým rozdílům natolik citlivá, jak by mohly být jiné metody analýzy střevního biomu.

Z analyzovaných vzorků byly posléze zvoleny nejvýraznější bandy k určení příslušných bakteriálních druhů, které byly součástí střevních biotů lidí i psů. Sekvence bandů a jejich identifikace byla úspěšná v případech 1, 2, 3, 4, 6, 7 a 8. Bandy ze vzorků 5 a 10 byly v průběhu analýzy kontaminovány, a z toho důvodu je nebylo možné určit. V případě vzorku obsahujícího band číslo 9 nebylo možné ze stanovené sekvence určit bakterii, kterou tento band reprezentoval. V případě bandu 1 a 8 šlo o totožnou bakterii *Megamonas rupellensis*, která byla prvně izolována ze slepého střeva drůbeže (Chevrot et al. 2008). Její zvýšení výskytu se pojí s nealkoholovým ztučněním jater, což bylo zkoumáno na dětských pacientech s touto nemocí, přičemž se pouhé zvýšení BMI nepojilo se zvýšeným výskytem této bakterie (Zhou et al. 2022). Rovněž se ukazuje, že má tato bakterie, stejně jako celý druh *Megamonas spp.*, roli v toleranci metforminu jako léčebné látky podávané pacientům s diabetem 2. typu – její zvýšený výskyt

naznačuje jeho toleranci, snížené množství naopak jeho intoleranci a tedy neúčinnost jeho podávání (Díaz-Perdigones et al. 2022). *Megamonas ruppellensis* se tako jeví jako jeden z možných spolučinitelů pozmeněného metabolismu mastných kyselin s krátkým řetězcem či dopaminového metabolismu, které jsou spojené s vznikem těhotenské cukrovky (Ye et al. 2023). V případě těhotenské cukrovky se tato bakterie pojí i s její vznikem, a to pozmeněným metabolismem dopaminu, následky čeho Na druhou stranu se však snížené množství této bakterie pojí s laktózovou intolerancí (Li et al. 2018).

Identifikovanou bakterií v bandu číslo 2 je *Pseudobutyrvibrio ruminis*. Tato bakterie se účastní metabolismu mastných kyselin s krátkým řetězcem, konkrétně butyrát (Van Gylswyk et al. 1996; Kopečný et al. 2003).

Bakterie z bandu číslo 3 byla identifikována jako *Fusobacterium gastrois*. Prvně byla objevena u prasat (*Sus domesticus*) (De Witte et al. 2017). Díky výzkumu na miniprasátkách MeLiM (z anglického Melanoma-bearing Libechov Minipigs) (Horak et al. 2019) se ukázala spojitost mezi přítomností této bakterie a této bakterie a dysbiózou kožního a střevního biomu u pacientů s rozvíjejícím se melanomem (Mekadim et al. 2022). Tato bakterie je také spojována s vznikem žaludečních vředů a zánětů žaludků, a to prostřednictvím změny prostředí žaludku (Cortez Nunes et al. 2022).

Blautia hominis, identifikována ze vzorku 4, patří do kmene *Firmicutes* a byla prvně objevena u člověka (Shin et al. 2018). Tato bakterie hraje roli v propojení střeva mozku, jelikož se zdá, že se její výskyt pojí s absencí post-operačního deliria – následku anestézie, který se projevuje kolísavým narušením psychického stavu jedince trvajícím minuty až dny po operaci (Liu et al. 2022). Tato bakterie také hraje roli v promoci genů podmiňujících antibiotickou rezistenci bakterií po administraci probiotik (Montassier et al. 2021).

Bakterii identifikovanou z bandu 6 je *Turicibacter sanguinis*, patřící rovněž do kmene *Firmicutes* a byla prvně objevena z krve člověka s akutním zánětem slepého střeva (Bosshard 2002), a později také ze stolice (Cuív et al. 2011). Tato bakterie se přímo účastní vychytávání serotoninu ze svého okolí, čím ovlivňuje metabolické dráhy zapojené v metabolismu a množství triglyceridů v krevním oběhu, co může mít další dopady na zdravotní stav jedince (Fung et al. 2019).

Poslední identifikovanou bakterií z bandu číslo 7 jde o rod *Streptococcus*. Tento rod zahrnuje řadu patogenních bakterií způsobujících střevní záněty či mající spojitost s aterosklerózou a metabolickými onemocněními (Sayols-Baixeras et al. 2022), zároveň se však některé druhy přímo účastní metabolismů sacharidů, a to konkrétně fermentace laktózy a rozkladu sacharózy (Jones et al. 2019). Zvýšená konzumace fruktózy má na tento rod negativní vliv (Jones et al. 2019). Pro konkrétnější popis funkce by bylo vhodné znát konkrétní druh, co výsledek sekvenace bakteriální DNA v tomto případě neposkytl.

Výsledky analýzy potvrdily stanovenou hypotézu, že dlouhodobý úzký kontakt člověka se psem bude mít vliv na složení střevního mikrobiomu. Chov psa uvnitř a venku má rozdílné dopady na střevní biom majitele. Pro přesnější a detailnější výsledky by k určení přesného bakteriálního složení a konkrétních druhů, které jsou mezi jedinci sdílené, bylo vhodné použít analytickou metodu sekvenování nové generace. S ohledem na časovou a finanční náročnost této metody v této práci použita nebyla. Rovněž by bylo vhodné odebrat i vzorky kožního a ústního biomu, díky čemu by mohla být vzájemná podobnost či rozdílnost střevních biomů psa a člověka objasněna na taxonomické úrovni. Za účelem zpřesnění výsledků analýzy střevního

biomu člověka a míry jeho sdílení se psem by se mohly další studie věnovat hlouběji tomuto tématu, s rozdílnými kategoriemi pro rozdílné typy stravy psa či jejich velikost. Vzorek respondentů – lidí i psů – je v této práci velmi různorodý. Jeho sjednocením v některých parametrech, například místě bydliště či stravě, by bylo možné získat více informativní výsledky a hlubší vhled do možných dopadů chovu psa na střevní biom svého majitele a zároveň poodhalit, zdali dochází díky soužití se psem k sdílení střevních bakteriálních druhů mezi psem a jeho majitelem. K dalším, neméně podstatným vlivům, lze zařadit i velikost rodiny či počet psů chovaných v jedné smečce, co může ovlivňovat jak skladbu psiho tak i lidského střevního biomu. Další studie mohou brát v potaz tyto parciální vlivy na střevní biom jedince a vytvořit experimenty, kde bude různorodost respondentů v těchto parametrech co nejnižší, díky čemu by mohlo být možné získat výsledky s jednoznačnější a více vypovídající hodnotou.

7 Závěr

Střevní biom je dynamickou populací, skládající se z bakterií, archeí, virů a prvoků fungujících za ideálních podmínek ve vzájemném souladu se svým hostitelským organismem. Jeho pozice v rámci těla je být jak původcem signálů, tak i jejich příjemcem. Tato komunikace probíhá nejen v rámci trávicí soustavy, ale také s nervovým či imunitním systémem a tělu tím rozšiřuje pole působnosti v rámci obrany vůči patogenům či regulace trávení na základě informací z ostatních soustav. Kromě těchto tělu vlastních okruhů je střevní biom také ovlivňován vnějšími podněty – stravou, biom ovlivňujícími látkami jako jsou antibiotika, probiotika či prebiotika, sociálními interakcemi, prostředím, ve kterém jedinec dlouhodobě žije či životním stylem a mírou dlouhotrvajícího stresu. Díky všem těmto aspektům je biom každého jedince neopakovatelnou kombinací druhů mikroorganismů, které mu pomáhají udržovat vnitřní homeostázu i při změně vnějších či vnitřních podmínek.

Soužití se psem se s ohledem na střevní biom řadí mezi sociální faktory ovlivňující jeho skladbu. Kromě nepopíratelných dopadů na celkový zdravotní stav, včetně lepšího stavu kardiovaskulární soustavy či sníženého rizika výskytu alergií a zlepšení imunity u dětí, soužití se psem ovlivňuje i složení lidského střevního biomu.

Tato práce potvrdila stanovenou hypotézu, že dlouhodobý úzký kontakt člověka se psem bude mít vliv na složení střevního mikrobiomu. Dopady na střevní biom lidí se také liší v závislosti na tom kde je pes chován, sdílí-li vnitřní prostory se svým majitelem, nebo naopak bydlí převážnou většinu času venku s omezeným nebo žádným přístupem do vnitřních prostor. V rámci této práce se rovněž povedlo posbírat velký a velmi různorodý vzorek respondentů a jejich psů, který poukazuje na několik parametrů majících vliv na složení střevního biomu jedince, co bylo prvním cílem této diplomové práce.

Dalším splněným cílem této práce byla analýza vzorků střevního biomu molekulárně genetickými metodami, konkrétně PCR-DGGE a Sangerovým sekvenováním. Vzorky byly zpracovány a vizualizovány prostřednictvím obarvených výsledku DGGE analýzy, díky kterým bylo možné vytvořit PCoA zobrazení i dendrogramy podobnosti analyzovaných střevních biomů. Sekvenovací metodou, která byla v této práci použita je Sangerovo sekvenování genu kódujícího 16S rRNA, která i přes své limity poskytla výsledky umožňující určení 8 bakteriálních druhů vyskytujících se ve analyzovaných vzorcích lidí a psů, mezi kterými byli jak běžně vyskytující se bakterie střevního biomu, tak i bakterie spojované s dysbiózou biomu či antibiotickou rezistencí bakterií. Provedením souboru molekulárně genetických analýz bylo možné posoudit dopady společného soužití člověka a psa na jejich střevní biomy.

K limitacím této práce patří nerovnoměrný vzorek co se pohlaví, místa bydliště a věkových kategorií účastníků týče, úpravou kterého by bylo možné získat data vypovídající o rozdílech mezi jednotlivými kategoriemi respondentů. Další limitací je nemožnost odizolovat vlivy prostředí, stravy, či užívaných probiotik na výsledky této práce. V případě navazující studie by bylo vhodné zvážit možnost jiné molekulárně genetické metody analýzy, například sekvenování nové generace, které by mohlo poskytnout detailnější informace o sdílených kmenech bakterií mezi psem a člověkem, s důrazem na rozdíly na základě místa chovu psa, velikosti rodiny či počtu psů v rodině. Nové poznatky v této oblasti by mohli dopomoci odhalit další možné pozitivní i negativní dopady soužití se psem, a to jak na člověka, tak i na psa, napříč věkovými kategoriemi obou druhů.

8 Literatura

- Ajslev TA, Andersen CS, Gamborg M, Sørensen TIA, Jess T. 2011. Childhood overweight after establishment of the gut microbiota: the role of delivery mode, pre-pregnancy weight and early administration of antibiotics. *International Journal of Obesity (2005)* **35**:522–529.
- Alessandri G, Milani C, Mancabelli L, Mangifesta M, Lugli GA, Viappiani A, Duranti S, Turrone F, Ossiprandi MC, van Sinderen D. 2019. Metagenomic dissection of the canine gut microbiota: insights into taxonomic, metabolic and nutritional features. *Environmental Microbiology* **21**:1331–1343. Wiley Online Library.
- Alexander C, Cross T-WL, Devendran S, Neumer F, Theis S, Ridlon JM, Suchodolski JS, De Godoy MR, Swanson KS. 2018. Effects of prebiotic inulin-type fructans on blood metabolite and hormone concentrations and faecal microbiota and metabolites in overweight dogs. *British Journal of Nutrition* **120**:711–720. Cambridge University Press.
- Arenas-Montes J, Perez-Martinez P, Vals-Delgado C, Romero-Cabrera JL, Cardelo MP, Leon-Acuña A, Quintana-Navarro GM, Alcalá-Díaz JF, Lopez-Miranda J, Camargo A. 2021. Owing a Pet Is Associated with Changes in the Composition of Gut Microbiota and Could Influence the Risk of Metabolic Disorders in Humans. *Animals* **11**:2347. MDPI.
- Asp N-G. 1995. Classification and methodology of food carbohydrates as related to nutritional effects. *The American journal of clinical nutrition* **61**:930S-937S. Oxford University Press.
- Avila M, Ojcius DM, Yilmaz Ö. 2009. The Oral Microbiota: Living with a Permanent Guest. *DNA and Cell Biology* **28**:405–411.
- Axelsson E, Ratnakumar A, Arendt M-L, Maqbool K, Webster MT, Perloski M, Liberg O, Arnemo JM, Hedhammar Å, Lindblad-Toh K. 2013. The genomic signature of dog domestication reveals adaptation to a starch-rich diet. *Nature* **495**:360–364. Nature Publishing Group UK London.
- Ayeni FA et al. 2018. Infant and Adult Gut Microbiome and Metabolome in Rural Bassa and Urban Settlers from Nigeria. *Cell Reports* **23**:3056–3067.
- Azad M et al. 2016. Impact of maternal intrapartum antibiotics, method of birth and breastfeeding on gut microbiota during the first year of life: a prospective cohort study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* **123**:983–993.
- Azad MB, Konya T, Maughan H, Guttman DS, Field CJ, Sears MR, Becker AB, Scott JA, Kozyrskyj AL, CHILD Study Investigators. 2013. Infant gut microbiota and the hygiene hypothesis of allergic disease: impact of household pets and siblings on microbiota composition and diversity. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology* **9**:15.
- Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI. 2004. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the national academy of sciences* **101**:15718–15723. National Acad Sciences.
- Bäckhed F, Fraser CM, Ringel Y, Sanders ME, Sartor RB, Sherman PM, Versalovic J, Young V, Finlay BB. 2012. Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications. *Cell host & microbe* **12**:611–622. Elsevier.
- Bandyopadhyay K, Marrero I, Kumar V. 2016. NKT cell subsets as key participants in liver physiology and pathology. *Cellular & Molecular Immunology* **13**:337–346. Nature Publishing Group.
- Bateman A, Singh A, Kral T, Solomon S. 1989. The immune-hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine reviews* **10**:92–112. Oxford University Press.

- Beck JM, Young VB, Huffnagle GB. 2012. The Microbiome of the Lung. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine* **160**:258–266.
- Beetz A, Kotrschal K, Turner DC, Hediger K, Uvnäs-Moberg K, Julius H. 2011. The Effect of a Real Dog, Toy Dog and Friendly Person on Insecurely Attached Children During a Stressful Task: An Exploratory Study. *Anthrozoös* **24**:349–368. Routledge.
- Benno Y, Nakao H, Uchida K, Mitsuoka T. 1992. Impact of the advances in age on the gastrointestinal microflora of beagle dogs. *Journal of Veterinary Medical Science* **54**:703–706. JAPANESE SOCIETY OF VETERINARY SCIENCE.
- Best JR, Miller PH. 2010. A developmental perspective on executive function. *Child development* **81**:1641–1660. Wiley Online Library.
- Bhattacharjee J, Kirby M, Softic S, Miles L, Salazar-Gonzalez R, Shivakumar P, Kohli R. 2017. Hepatic natural killer T-cell and CD8+ T-cell signatures in mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology communications* **1**:299–310. Wiley Online Library.
- Blum WE, Zechmeister-Boltenstern S, Keiblinger KM. 2019. Does soil contribute to the human gut microbiome? *Microorganisms* **7**:287. MDPI.
- Bokulich NA et al. 2016. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Science translational medicine* **8**:343ra82.
- Bonaz B, Sinniger V, Pellissier S. 2017. Vagus nerve stimulation: a new promising therapeutic tool in inflammatory bowel disease. *Journal of internal medicine* **282**:46–63. Wiley Online Library.
- Bosshard PP. 2002. *Turicibacter sanguinis* gen. nov., sp. nov., a novel anaerobic, Gram-positive bacterium. *INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY* **52**:1263–1266.
- Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, Bienenstock J, Cryan JF. 2011. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**:16050–16055. National Acad Sciences.
- Breit S, Kupferberg A, Rogler G, Hasler G. 2018. Vagus Nerve as Modulator of the Brain–Gut Axis in Psychiatric and Inflammatory Disorders. *Frontiers in Psychiatry* **9**.
- Bresciani F, Minamoto Y, Suchodolski JS, Galiazzo G, Vecchiato CG, Pinna C, Biagi G, Pietra M. 2018. Effect of an extruded animal protein-free diet on fecal microbiota of dogs with food-responsive enteropathy. *Journal of veterinary internal medicine* **32**:1903–1910. Wiley Online Library.
- Caugant DA, Levin BR, Selander RK. 1984. Distribution of multilocus genotypes of *Escherichia coli* within and between host families. *Epidemiology & Infection* **92**:377–384. Cambridge University Press.
- Charmaraman L, Mueller MK, Richer AM. 2020. The Role of Pet Companionship in Online and Offline Social Interactions in Adolescence. *Child and Adolescent Social Work Journal* **37**:589–599.
- Chen M, Sun Q, Giovannucci E, Mozaffarian D, Manson JE, Willett WC, Hu FB. 2014. Dairy consumption and risk of type 2 diabetes: 3 cohorts of US adults and an updated meta-analysis. *BMC Medicine* **12**:215.
- Chevrot R, Carlotti A, Sopena V, Marchand P, Rosenfeld E. 2008. *Megamonas rupellensis* sp. nov., an anaerobe isolated from the caecum of a duck. *INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY* **58**:2921–2924.
- Chiş AA, Rus LL, Morgovan C, Arseniu AM, Frum A, Vonica-Țincu AL, Gligor FG, Mureşan ML, Dobreă CM. 2022. Microbial resistance to antibiotics and effective antibiotherapy. *Biomedicines* **10**:1121. MDPI.

- Chiu C-M et al. 2014. Systematic Analysis of the Association between Gut Flora and Obesity through High-Throughput Sequencing and Bioinformatics Approaches. *BioMed Research International* **2014**:e906168. Hindawi.
- Cho I et al. 2012. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature* **488**:621–626.
- Clark JS, Simpson BS, Murphy KJ. 2021. The role of a Mediterranean diet and physical activity in decreasing age-related inflammation through modulation of the gut microbiota composition. *British Journal of Nutrition*:1–16. Cambridge University Press.
- Coelho LP et al. 2018. Similarity of the dog and human gut microbiomes in gene content and response to diet. *Microbiome* **6**:72.
- Collier AJ, Gomez DE, Monteith G, Plattner BL, Verbrugghe A, Webb J, Weese JS, Blois SL. 2022. Investigating fecal microbial transplant as a novel therapy in dogs with inflammatory bowel disease: A preliminary study. *PloS One* **17**:e0276295.
- Cong X, Xu W, Janton S, Henderson WA, Matson A, McGrath JM, Maas K, Graf J. 2016. Gut microbiome developmental patterns in early life of preterm infants: impacts of feeding and gender. *PloS one* **11**:e0152751. Public Library of Science San Francisco, CA USA.
- Conlon MA, Bird AR. 2014. The Impact of Diet and Lifestyle on Gut Microbiota and Human Health. *Nutrients* **7**:17–44.
- Cortez Nunes F, Letra Mateus T, Taillieu E, Teixeira S, Carolino N, Rema A, De Bruyckere S, Gärtner F, Haesebrouck F, Amorim I. 2022. Molecular detection of *Helicobacter* spp. and *Fusobacterium gastrois* in pigs and wild boars and its association with gastric histopathological alterations. *Veterinary Research* **53**:78.
- Cox LM et al. 2014. Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. *Cell* **158**:705–721.
- Cromwell GL. 2002. Why and how antibiotics are used in swine production. *Animal Biotechnology* **13**:7–27.
- Crumevolle-Arias M, Jaglin M, Bruneau A, Vancassel S, Cardona A, Daugé V, Naudon L, Rabot S. 2014. Absence of the gut microbiota enhances anxiety-like behavior and neuroendocrine response to acute stress in rats. *Psychoneuroendocrinology* **42**:207–217.
- Cuív PÓ, Klaassens ES, Durkin AS, Harkins DM, Foster L, McCarrison J, Torralba M, Nelson KE, Morrison M. 2011. Draft Genome Sequence of *Turicibacter sanguinis* PC909, Isolated from Human Feces. *Journal of Bacteriology* **193**:1288–1289. American Society for Microbiology.
- Damberg S, Frömling L. 2022. “Furry tales”: pet ownership’s influence on subjective well-being during Covid-19 times. *Quality & Quantity* **56**:3645–3664.
- Das B, Ghosh TS, Kedia S, Rampal R, Saxena S, Bag S, Mitra R, Dayal M, Mehta O, Surendranath A. 2018. Analysis of the gut microbiome of rural and urban healthy Indians living in sea level and high altitude areas. *Scientific reports* **8**:1–15. Springer.
- De Witte C, Flahou B, Ducatelle R, Smet A, De Bruyne E, Cnockaert M, Taminiou B, Daube G, Vandamme P, Haesebrouck F. 2017. Detection, isolation and characterization of *Fusobacterium gastrois* sp. nov. colonizing the stomach of pigs. *Systematic and Applied Microbiology* **40**:42–50.
- Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Kiely B, Cryan JF, Dinan TG. 2010. Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression. *Neuroscience* **170**:1179–1188.
- Deschamps C, Humbert D, Zentek J, Denis S, Priymenko N, Apper E, Blanquet-Diot S. 2022. From Chihuahua to Saint-Bernard: how did digestion and microbiota evolve with dog sizes. *International Journal of Biological Sciences* **18**:5086–5102.

- Dethlefsen L, Relman DA. 2011. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**:4554–4561. National Acad Sciences.
- Díaz-Perdigones CM, Muñoz-Garach A, Álvarez-Bermúdez MD, Moreno-Indias I, Tinahones FJ. 2022. Gut microbiota of patients with type 2 diabetes and gastrointestinal intolerance to metformin differs in composition and functionality from tolerant patients. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **145**:112448.
- Dietz WH. 1994. Critical periods in childhood for the development of obesity. *The American Journal of Clinical Nutrition* **59**:955–959.
- Dinan TG, Cryan JF. 2017. The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease. *Gastroenterology Clinics of North America* **46**:77–89.
- Dinan TG, Stanton C, Cryan JF. 2013. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biological psychiatry* **74**:720–726. Elsevier.
- Ding Z-L, Oskarsson M, Ardalan A, Angleby H, Dahlgren L-G, Tepeli C, Kirkness E, Savolainen P, Zhang Y-P. 2012. Origins of domestic dog in Southern East Asia is supported by analysis of Y-chromosome DNA. *Heredity* **108**:507–514. Nature Publishing Group.
- Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, Knight R. 2010. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**:11971–11975. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Duan Y, Zeng L, Zheng C, Song B, Li F, Kong X, Xu K. 2018. Inflammatory links between high fat diets and diseases. *Frontiers in immunology* **9**:2649. Frontiers Media SA.
- Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. 2005. Diversity of the human intestinal microbial flora. *science* **308**:1635–1638. American Association for the Advancement of Science.
- Eddy J, Hart L, Boltz R. 1988. The Effects of Service Dogs on Social Acknowledgments of People in Wheelchairs. *The Journal of psychology* **122**:39–45.
- Eisenhofer G, Åneman A, Friberg P, Hooper D, Fändriks L, Lonroth H, Hunyady B, Mezey E. 1997. Substantial Production of Dopamine in the Human Gastrointestinal Tract. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **82**:3864–3871.
- ElRakaiby M, Dutilh BE, Rizkallah MR, Boleij A, Cole JN, Aziz RK. 2014. Pharmacomicrobiomics: The Impact of Human Microbiome Variations on Systems Pharmacology and Personalized Therapeutics. *OMICS: a Journal of Integrative Biology* **18**:402–414.
- Fiorucci S, Distrutti E. 2015. Bile Acid-Activated Receptors, Intestinal Microbiota, and the Treatment of Metabolic Disorders. *Trends in Molecular Medicine* **21**:702–714.
- Foster JA, Rinaman L, Cryan JF. 2017. Stress & the gut-brain axis: Regulation by the microbiome. *Neurobiology of Stress* **7**:124–136.
- Freedman AH, Gronau I, Schweizer RM, Ortega-Del Vecchyo D, Han E, Silva PM, Galaverni M, Fan Z, Marx P, Lorente-Galdos B. 2014. Genome sequencing highlights the dynamic early history of dogs. *PLoS genetics* **10**:e1004016. Public Library of Science.
- Friedmann E, Thomas SA. 1995. Pet ownership, social support, and one-year survival after acute myocardial infarction in the Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST). *The American journal of cardiology* **76**:1213–1217. Elsevier.
- Fujimura KE, Demoor T, Rauch M, Faruqi AA, Jang S, Johnson CC, Boushey HA, Zoratti E, Ownby D, Lukacs NW. 2014. House dust exposure mediates gut microbiome *Lactobacillus* enrichment and airway immune defense against allergens and virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **111**:805–810. National Acad Sciences.

- Fung TC et al. 2019. Intestinal serotonin and fluoxetine exposure modulate bacterial colonization in the gut. *Nature Microbiology* **4**:2064–2073. Nature Publishing Group.
- Gábor A, Kaszás N, Faragó T, Pérez Fraga P, Lovas M, Andics A. 2022. The acoustic bases of human voice identity processing in dogs. *Animal Cognition* **25**:905–916.
- Gácsi M, Miklósi Á, Varga O, Topál J, Csányi V. 2004. Are readers of our face readers of our minds? Dogs (*Canis familiaris*) show situation-dependent recognition of human's attention. *Animal Cognition* **7**:144–153.
- Gajer P et al. 2012. Temporal Dynamics of the Human Vaginal Microbiota. *Science translational medicine* **4**:132ra52.
- Gareau MG, Silva MA, Perdue MH. 2008. Pathophysiological mechanisms of stress-induced intestinal damage. *Current Molecular Medicine* **8**:274–281.
- Gibson GR. 2004. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). *Clinical Nutrition Supplements* **1**:25–31.
- Gibson GR, Roberfroid MB. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition* **125**:1401–1412.
- Grice EA, Segre JA. 2011. The skin microbiome. *Nature reviews microbiology* **9**:244–253. Nature Publishing Group UK London.
- Grosicki GJ, Fielding RA, Lustgarten MS. 2018. Gut Microbiota Contribute to Age-Related Changes in Skeletal Muscle Size, Composition, and Function: Biological Basis for a Gut-Muscle Axis. *Calcified tissue international* **102**:433–442.
- GS B, AJ K. 1958. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery* **44**:854–859.
- Guard B, Suchodolski J. 2016. HORSE SPECIES SYMPOSIUM: Canine intestinal microbiology and metagenomics: From phylogeny to function. *Journal of Animal Science* **94**:2247–2261. Oxford University Press.
- Habib KE, Gold PW, Chrousos GP. 2001. Neuroendocrinology of stress. *Endocrinology and Metabolism Clinics* **30**:695–728. Elsevier.
- Hamer HM, Jonkers D, Venema K, Vanhoutvin S, Troost F, Brummer R. 2008. The role of butyrate on colonic function. *Alimentary pharmacology & therapeutics* **27**:104–119. Wiley Online Library.
- Hanski I et al. 2012. Environmental biodiversity, human microbiota, and allergy are interrelated. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**:8334–8339. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Headey B. 1999. Health benefits and health cost savings due to pets: Preliminary estimates from an Australian national survey. *Social indicators research* **47**:233–243. Springer.
- Headey B, Na F, Zheng R. 2008. Pet Dogs Benefit Owners' Health: A 'Natural Experiment' in China. *Social Indicators Research* **87**:481–493.
- Higham C, Kijngam A, Manly B. 1980. An analysis of prehistoric canid remains from Thailand. *Journal of Archaeological Science* **7**:149–165. Elsevier.
- Hildebrandt MA, Hoffman C, Sherrill-Mix SA, Keilbaugh SA, Hamady M, Chen Y-Y, Knight R, Ahima RS, Bushman F, Wu GD. 2009. High Fat Diet Determines the Composition of the Murine Gut Microbiome Independently of Obesity. *Gastroenterology* **137**:1716–24.e1–2.
- Honneffer JB, Steiner JM, Lidbury JA, Suchodolski JS. 2017. Variation of the microbiota and metabolome along the canine gastrointestinal tract. *Metabolomics* **13**:26.
- Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. 2002. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annual review of nutrition* **22**:283–307. *Annual Reviews* 4139 El Camino Way, PO Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA.

- Horak V, Palanova A, Cizkova J, Miltrova V, Vodicka P, Kupcova Skalnikova H. 2019. Melanoma-Bearing Libechov Minipig (MeLiM): The Unique Swine Model of Hereditary Metastatic Melanoma. *Genes* **10**:915. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Hord NG. 2008. Eukaryotic-microbiota crosstalk: potential mechanisms for health benefits of prebiotics and probiotics. *Annu. Rev. Nutr.* **28**:215–231. Annual Reviews.
- Hui Gan GZ, Hill A-M, Yeung P, Keesing S, Netto JA. 2020. Pet ownership and its influence on mental health in older adults. *Aging & Mental Health* **24**:1605–1612. Routledge.
- Jha AR, Shmalberg J, Tanprasertsuk J, Perry L, Massey D, Honaker RW. 2020. Characterization of gut microbiomes of household pets in the United States using a direct-to-consumer approach. *PLOS ONE* **15**:e0227289. Public Library of Science.
- Jiang C, Cui Z, Fan P, Du G. 2022. Effects of dog ownership on the gut microbiota of elderly owners. *PLOS ONE* **17**:e0278105. Public Library of Science.
- Jiménez E, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Olivares M, Xaus J, Fernández L, Rodríguez JM. 2008. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Research in microbiology* **159**:187–193. Elsevier.
- Jones RB, Alderete TL, Kim JS, Millstein J, Gilliland FD, Goran MI. 2019. High intake of dietary fructose in overweight/obese teenagers associated with depletion of Eubacterium and Streptococcus in gut microbiome. *Gut microbes* **10**:712–719. Taylor & Francis.
- Kaelberer MM, Buchanan KL, Klein ME, Barth BB, Montoya MM, Shen X, Bohórquez DV. 2018. A gut-brain neural circuit for nutrient sensory transduction. *Science* **361**:eaat5236. American Association for the Advancement of Science.
- Kalinová V. 2006. Canistherapy as supporting rehabilitation method in Czech Republic. *Journal of Health Sciences Management and Public Health* **7**:261–271.
- Kanakubo K, Fascetti AJ, Larsen JA. 2015. Assessment of protein and amino acid concentrations and labeling adequacy of commercial vegetarian diets formulated for dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **247**:385–392. Am Vet Med Assoc.
- Karl S, Boch M, Zamansky A, van der Linden D, Wagner IC, Völter CJ, Lamm C, Huber L. 2020. Exploring the dog–human relationship by combining fMRI, eye-tracking and behavioural measures. *Scientific Reports* **10**:22273. Nature Publishing Group.
- Kates AE, Jarrett O, Skarlupka JH, Sethi A, Duster M, Watson L, Suen G, Poulsen K, Safdar N. 2020. Household Pet Ownership and the Microbial Diversity of the Human Gut Microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* **10**.
- Khodaie-Ardakani M-R et al. 2014. Minocycline add-on to risperidone for treatment of negative symptoms in patients with stable schizophrenia: randomized double-blind placebo-controlled study. *Psychiatry Research* **215**:540–546.
- Kim J, An J-U, Kim W, Lee S, Cho S. 2017. Differences in the gut microbiota of dogs (*Canis lupus familiaris*) fed a natural diet or a commercial feed revealed by the Illumina MiSeq platform. *Gut Pathogens* **9**:1–11. Springer.
- Kinross J, Nicholson J. 2012. GUT MICROBIOTA Dietary and social modulation of gut microbiota in the elderly. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology* **9**:563–4.
- Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, Angenent LT, Ley RE. 2011. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**:4578–4585. Proceedings of the National Academy of Sciences.
- Kopečný J, Zorec M, Mrazek J, Kobayashi Y, Marinšek-Logar R. 2003. *Butyrivibrio hungatei* sp. nov. and *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* sp. nov., butyrate-producing bacteria from

- the rumen. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **53**:201–209. Microbiology Society.
- Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, Spor A, Laitinen K, Bäckhed HK, Gonzalez A, Werner JJ, Angenent LT, Knight R. 2012. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell* **150**:470–480. Elsevier.
- Kort R, Caspers M, van de Graaf A, van Egmond W, Keijser B, Roeselers G. 2014. Shaping the oral microbiota through intimate kissing. *Microbiome* **2**:1–8. BioMed Central.
- Latorre-Pérez A, Hernández M, Iglesias JR, Morán J, Pascual J, Porcar M, Vilanova C, Collado L. 2021. The Spanish gut microbiome reveals links between microorganisms and Mediterranean diet. *Scientific Reports* **11**:21602. Nature Publishing Group.
- Lee B-C, Lee J. 2014. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* **1842**:446–462. Elsevier.
- Leeuwendaal NK, Stanton C, O'Toole PW, Beresford TP. 2022. Fermented foods, health and the gut microbiome. *Nutrients* **14**:1527. MDPI.
- Lehtimäki J et al. 2018. Skin microbiota and allergic symptoms associate with exposure to environmental microbes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **115**:4897–4902. Proceedings of the National Academy of Sciences.
- Lehtimäki J, Sinkko H, Hielm-Björkman A, Laatikainen T, Ruokolainen L, Lohi H. 2020. Simultaneous allergic traits in dogs and their owners are associated with living environment, lifestyle and microbial exposures. *Scientific Reports* **10**:21954.
- Li P et al. 2022. A microbiome abundant environment remodels the intestinal microbiota and improves resistance to obesity induced by chlorpyrifos in mice. *Environmental Pollution* **315**:120415.
- Li R, Boer CG, Oei L, Medina-Gomez C. 2021. The Gut Microbiome: a New Frontier in Musculoskeletal Research. *Current Osteoporosis Reports* **19**:347–357.
- Li X, Yin J, Zhu Y, Wang X, Hu X, Bao W, Huang Y, Chen L, Chen S, Yang W. 2018. Effects of whole milk supplementation on gut microbiota and cardiometabolic biomarkers in subjects with and without lactose malabsorption. *Nutrients* **10**:1403. MDPI.
- Lim MY, Park Y-S, Kim J-H, Nam Y-D. 2020. Evaluation of fecal DNA extraction protocols for human gut microbiome studies. *BMC Microbiology* **20**:212.
- Lin J, Judd S, Le A, Ard J, Newsome BB, Howard G, Warnock DG, McClellan W. 2010. Associations of dietary fat with albuminuria and kidney dysfunction. *The American journal of clinical nutrition* **92**:897–904. Oxford University Press.
- Liu H, Cheng G, Xu Y, Fang Q, Ye L, Wang C, Liu X. 2022. Preoperative Status of Gut Microbiota Predicts Postoperative Delirium in Patients With Gastric Cancer. *Frontiers in Psychiatry* **13**:852269.
- Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. 2012. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* **489**:220–230. Nature Publishing Group UK London.
- Lydiard RB. 2003. The Role of GABA in Anxiety Disorders.
- Magne F, Gotteland M, Gauthier L, Zazueta A, Pesoa S, Navarrete P, Balamurugan R. 2020. The Firmicutes/Bacteroidetes Ratio: A Relevant Marker of Gut Dysbiosis in Obese Patients? *Nutrients* **12**:1474.
- Mahiddine FY, You I, Park H, Kim MJ. 2023. Management of dog sperm parameters and gut microbiota composition with *Lactobacillus rhamnosus* supplementation. *Veterinary Research Communications*.
- Maier L et al. 2021. Unravelling the collateral damage of antibiotics on gut bacteria. *Nature* **599**:120–124.

- Marclay M, Dwyer E, Suchodolski JS, Lidbury JA, Steiner JM, Gaschen FP. 2022. Recovery of Fecal Microbiome and Bile Acids in Healthy Dogs after Tylosin Administration with and without Fecal Microbiota Transplantation. *Veterinary Sciences* **9**:324.
- Masuoka H, Shimada K, Kiyosue-Yasuda T, Kiyosue M, Oishi Y, Kimura S, Yamada A, Hirayama K. 2017. Transition of the intestinal microbiota of dogs with age. *Bioscience of Microbiota, Food and Health* **36**:27–31.
- Mattila E et al. 2012. Fecal Transplantation, Through Colonoscopy, Is Effective Therapy for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Gastroenterology* **142**:490–496.
- McFall-Ngai M. 2007. Care for the community. *Nature* **445**:153–153.
- Meineri G, Martello E, Atuahene D, Miretti S, Stefanon B, Sandri M, Biasato I, Corvaglia MR, Ferrocino I, Cocolin LS. 2022. Effects of *Saccharomyces boulardii* Supplementation on Nutritional Status, Fecal Parameters, Microbiota, and Mycobiota in Breeding Adult Dogs. *Veterinary Sciences* **9**:389. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Mekadim C, Skalnikova HK, Cizkova J, Cizkova V, Palanova A, Horak V, Mrazek J. 2022. Dysbiosis of skin microbiome and gut microbiome in melanoma progression. *BMC microbiology* **22**:1–19. BioMed Central.
- Mentula S, Harmoinen J, Heikkilä M, Westermarck E, Rautio M, Huovinen P, Könönen E. 2005. Comparison between cultured small-intestinal and fecal microbiotas in beagle dogs. *Applied and environmental microbiology* **71**:4169–4175. Am Soc Microbiol.
- Middelbos IS, Vester Boler BM, Qu A, White BA, Swanson KS, Fahey Jr GC. 2010. Phylogenetic characterization of fecal microbial communities of dogs fed diets with or without supplemental dietary fiber using 454 pyrosequencing. *PloS one* **5**:e9768. Public Library of Science San Francisco, USA.
- Middleton RP, Lacroix S, Scott-Boyer M-P, Dordevic N, Kennedy AD, Slusky AR, Carayol J, Petzinger-Germain C, Beloshapka A, Kaput J. 2017. Metabolic differences between dogs of different body sizes. *Journal of nutrition and metabolism* **2017**. Hindawi.
- Mitsou EK, Kirtzalidou E, Oikonomou I, Liosis G, Kyriacou A. 2008. Fecal microflora of Greek healthy neonates. *Anaerobe* **14**:94–101. Elsevier.
- Montassier E, Valdés-Mas R, Batard E, Zmora N, Dori-Bachash M, Suez J, Elinav E. 2021. Probiotics impact the antibiotic resistance gene reservoir along the human GI tract in a person-specific and antibiotic-dependent manner. *Nature Microbiology* **6**:1043–1054. Nature Publishing Group.
- Montrose DC, Floch MH. 2005. Probiotics Used in Human Studies. *Journal of Clinical Gastroenterology* **39**:469–484.
- Münger E, Montiel-Castro AJ, Langhans W, Pacheco-López G. 2018. Reciprocal Interactions Between Gut Microbiota and Host Social Behavior. *Frontiers in Integrative Neuroscience* **12**.
- Muyzer G, de Waal EC, Uitterlinden AG. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology* **59**:695–700.
- Neish AS. 2009. Microbes in Gastrointestinal Health and Disease. *Gastroenterology* **136**:65–80.
- Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, Pettersson S. 2012. Host-Gut Microbiota Metabolic Interactions. *Science* **336**:1262–1267.
- Nozue M, Shimazu T, Sasazuki S, Charvat H, Mori N, Mutoh M, Sawada N, Iwasaki M, Yamaji T, Inoue M. 2017. Fermented soy product intake is inversely associated with the development of high blood pressure: The Japan Public Health Center-Based Prospective Study. *The Journal of nutrition* **147**:1749–1756. Oxford University Press.

- Obafemi YD, Oranusi SU, Ajanaku KO, Akinduti PA, Leech J, Cotter PD. 2022. African fermented foods: overview, emerging benefits, and novel approaches to microbiome profiling. *npj Science of Food* **6**:15. Nature Publishing Group.
- Odamaki T, Kato K, Sugahara H, Hashikura N, Takahashi S, Xiao J, Abe F, Osawa R. 2016. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC Microbiology* **16**:90.
- Oh C, Lee K, Cheong Y, Lee S-W, Park S-Y, Song C-S, Choi I-S, Lee J-B. 2015. Comparison of the Oral Microbiomes of Canines and Their Owners Using Next-Generation Sequencing. *PLOS ONE* **10**:e0131468. Public Library of Science.
- Pang J-F, Kluetsch C, Zou X-J, Zhang A, Luo L-Y, Angleby H, Ardalan A, Ekström C, Sköllermo A, Lundeberg J. 2009. mtDNA data indicate a single origin for dogs south of Yangtze River, less than 16,300 years ago, from numerous wolves. *Molecular biology and evolution* **26**:2849–2864. Oxford University Press.
- Park J, Floch MH. 2007. Prebiotics, Probiotics, and Dietary Fiber in Gastrointestinal Disease. *Gastroenterology Clinics of North America* **36**:47–63.
- Park S, Bae J-H. 2016. Fermented food intake is associated with a reduced likelihood of atopic dermatitis in an adult population (Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2012-2013). *Nutrition Research* **36**:125–133. Elsevier.
- Parker HG, Kim LV, Sutter NB, Carlson S, Lorentzen TD, Malek TB, Johnson GS, DeFrance HB, Ostrander EA, Kruglyak L. 2004. Genetic structure of the purebred domestic dog. *science* **304**:1160–1164. American Association for the Advancement of Science.
- Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, van den Brandt PA, Stobberingh EE. 2006. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* **118**:511–521. American Academy of Pediatrics.
- Pereira AM, Pinna C, Biagi G, Stefanelli C, Maia MR, Matos E, Segundo MA, Fonseca AJ, Cabrita ARJ. 2020. Supplemental selenium source on gut health: Insights on fecal microbiome and fermentation products of growing puppies. *FEMS Microbiology Ecology* **96**:fiae212. Oxford University Press.
- Perzanowski MS, Rönmark E, Platts-Mills TAE, Lundbäck B. 2002. Effect of Cat and Dog Ownership on Sensitization and Development of Asthma among Preteenage Children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **166**:696–702.
- Pilla R, Suchodolski JS. 2020. The Role of the Canine Gut Microbiome and Metabolome in Health and Gastrointestinal Disease. *Frontiers in Veterinary Science* **6**:498.
- Putignani L, Del Chierico F, Petrucca A, Vernocchi P, Dallapiccola B. 2014. The human gut microbiota: a dynamic interplay with the host from birth to senescence settled during childhood. *Pediatric Research* **76**:2–10. Nature Publishing Group.
- Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T. 2010. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *nature* **464**:59–65. Nature Publishing Group.
- Ravel J et al. 2011. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**:4680–4687.
- Reese AT, Chadaideh KS, Diggins CE, Schell LD, Beckel M, Callahan P, Ryan R, Emery Thompson M, Carmody RN. 2021. Effects of domestication on the gut microbiota parallel those of human industrialization. *eLife* **10**:e60197.
- Røken M, Forfang K, Wasteson Y, Haaland AH, Eiken HG, Hagen SB, Bjelland AM. 2022. Antimicrobial resistance—Do we share more than companionship with our dogs? *Journal of Applied Microbiology* **133**:1027–1039.
- Salminen S, Isolauri E. 2008. Opportunities for improving the health and nutrition of the human infant by probiotics. *Personalized Nutrition for the Diverse Needs of Infants and Children* **62**:223–237. Karger Publishers.

- Saltiel AR. 2001. New perspectives into the molecular pathogenesis and treatment of type 2 diabetes. *Cell* **104**:517–529. Elsevier.
- Savolainen P, Zhang Y, Luo J, Lundeberg J, Leitner T. 2002. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. *Science* **298**:1610–1613. American Association for the Advancement of Science.
- Sayols-Baixeras S, Dekkers KF, Baldanzi G, Jönsson D, Hammar U, Lin Y-T, Ahmad S, Nguyen D, Varotsis G, Pita S. 2022. Streptococcus species abundance in the gut is linked to subclinical coronary atherosclerosis in 8,973 participants from the SCAPIS cohort. medRxiv:2022–05. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Scarsella E, Stefanon B, Cintio M, Licastro D, Sgorlon S, Dal Monego S, Sandri M. 2020. Learning machine approach reveals microbial signatures of diet and sex in dog. *PLoS One* **15**:e0237874. Public Library of Science San Francisco, CA USA.
- Scheperjans F, Aho V, Pereira PA, Koskinen K, Paulin L, Pekkonen E, Haapaniemi E, Kaakkola S, Eerola-Rautio J, Pohja M. 2015. Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype. *Movement Disorders* **30**:350–358. Wiley Online Library.
- Schmidt M, Unterer S, Suchodolski JS, Honneffer JB, Guard BC, Lidbury JA, Steiner JM, Fritz J, Kölle P. 2018. The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets. *PLOS ONE* **13**:e0201279. Public Library of Science.
- Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. 2010. Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiological Reviews* **90**:859–904. American Physiological Society.
- Seo BR, Bhardwaj P, Choi S, Gonzalez J, Andresen Eguiluz RC, Wang K, Mohanan S, Morris PG, Du B, Zhou XK. 2015. Obesity-dependent changes in interstitial ECM mechanics promote breast tumorigenesis. *Science translational medicine* **7**:301ra130-301ra130. American Association for the Advancement of Science.
- Shin JH, Park Y, Sim M, Kim S-A, Joung H, Shin D-M. 2019. Serum level of sex steroid hormone is associated with diversity and profiles of human gut microbiome. *Research in Microbiology* **170**.
- Shin N-R, Kang W, Tak EJ, Hyun D-W, Kim PS, Kim HS, Lee J-Y, Sung H, Whon TW, Bae J-W. 2018. *Blautia hominis* sp. nov., isolated from human faeces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **68**:1059–1064. Microbiology Society,.
- Sidhu M, van der Poorten D. 2017. The gut microbiome. *Australian family physician* **46**:206–211.
- Sinha T et al. 2019. Analysis of 1135 gut metagenomes identifies sex-specific resistome profiles. *Gut Microbes* **10**:358–366.
- Sitarik A, Havstad S, Levin A, Lynch SV, Fujimura K, Ownby D, Johnson C, Wegienka G. 2018. Dog introduction alters the home dust microbiota. *Indoor air* **28**:539–547.
- Skoglund P, Ersmark E, Palkopoulou E, Dalén L. 2015. Ancient wolf genome reveals an early divergence of domestic dog ancestors and admixture into high-latitude breeds. *Current Biology* **25**:1515–1519. Elsevier.
- Solomon O. 2010. What a Dog Can Do: Children with Autism and Therapy Dogs in Social Interaction. *Ethos* **38**:143–166.
- Sommer F, Bäckhed F. 2013. The gut microbiota—masters of host development and physiology. *Nature reviews microbiology* **11**:227–238. Nature Publishing Group.
- Song SJ, Lauber C, Costello EK, Lozupone CA, Humphrey G, Berg-Lyons D, Caporaso JG, Knights D, Clemente JC, Nakielny S. 2013. Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. *elife* **2**:e00458. eLife Sciences Publications Limited.

- Stull JW, Brophy J, Weese JS. 2015. Reducing the risk of pet-associated zoonotic infections. *CMAJ* **187**:736–743. CMAJ.
- Suchodolski JS. 2011. Intestinal Microbiota of Dogs and Cats: a Bigger World than We Thought. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* **41**:261–272. Elsevier.
- Suchodolski JS, Camacho J, Steiner JM. 2008. Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. *FEMS microbiology ecology* **66**:567–578. Blackwell Publishing Ltd Oxford, UK.
- Sudo N, Chida Y, Aiba Y, Sonoda J, Oyama N, Yu X, Kubo C, Koga Y. 2004. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response in mice. *The Journal of physiology* **558**:263–275. Wiley Online Library.
- Surma S, Oparil S, Narkiewicz K. 2022. Pet Ownership and the Risk of Arterial Hypertension and Cardiovascular Disease. *Current Hypertension Reports* **24**:295–302.
- Suskind DL, Brittnacher MJ, Wahbeh G, Shaffer ML, Hayden HS, Qin X, Singh N, Damman CJ, Hager KR, Nielson H. 2015. Fecal microbial transplant effect on clinical outcomes and fecal microbiome in active Crohn’s disease. *Inflammatory bowel diseases* **21**:556–563. Oxford University Press Oxford, UK.
- Tomova A, Husarova V, Lakatosova S, Bakos J, Vlkova B, Babinska K, Ostatnikova D. 2015. Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia. *Physiology & behavior* **138**:179–187. Elsevier.
- Tonelli Enrico V, Vo N, Methe B, Morris A, Sowa G. 2022. An unexpected connection: A narrative review of the associations between Gut Microbiome and Musculoskeletal Pain. *European Spine Journal* **31**:3603–3615.
- Topál J, Miklósi A, Csányi V. 1997. Dog-human relationship affects problem solving behavior in the dog. *Anthrozoös* **10**:214–224. Taylor & Francis.
- Tower RB, Nokota M. 2006. Pet companionship and depression: Results from a United States Internet sample. *Anthrozoös* **19**:50–64. Routledge.
- Trasande L, Blustein J, Liu M, Corwin E, Cox LM, Blaser MJ. 2013. Infant antibiotic exposures and early-life body mass. *International Journal of Obesity (2005)* **37**:16–23.
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. 2006. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* **444**:1027–131.
- Underhill AP. 1997. Current issues in Chinese Neolithic archaeology. *Journal of World Prehistory* **11**:103–160. Springer.
- Van Gylswyk NO, Hippe H, RAINEY FA. 1996. *Pseudobutyrvibrio ruminis* gen. nov., sp. nov., a Butyrate-Producing Bacterium from the Rumen That Closely Resembles *Butyrvibrio fibrisolvens* in Phenotype. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **46**:559–563. Microbiology Society,.
- Veevers JE. 1985. The Social Meaning of Pets. *Marriage & Family Review* **8**:11–30. Routledge.
- Venter CS, Vorster HH, Cummings JH. 1990. Effects of dietary propionate on carbohydrate and lipid metabolism in healthy volunteers. *The American Journal of Gastroenterology* **85**:549–553.
- Viau R, Arsenault-Lapierre G, Fecteau S, Champagne N, Walker C-D, Lupien S. 2010. Effect of service dogs on salivary cortisol secretion in autistic children. *Psychoneuroendocrinology* **35**:1187–1193.
- Vicario M et al. 2012. Chronic psychosocial stress induces reversible mitochondrial damage and corticotropin-releasing factor receptor type-1 upregulation in the rat intestine and IBS-like gut dysfunction. *Psychoneuroendocrinology* **37**:65–77.
- Vighi G, Marcucci F, Sensi L, Di Cara G, Frati F. 2008. Allergy and the gastrointestinal system. *Clinical & Experimental Immunology* **153**:3–6. Oxford University Press.

- Voigt RM, Forsyth CB, Green SJ, Mutlu E, Engen P, Vitaterna MH, Turek FW, Keshavarzian A. 2014. Circadian disorganization alters intestinal microbiota. *PloS one* **9**:e97500. Public Library of Science San Francisco, USA.
- Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojärvi J, Kootte RS, Bartelsman JF, Dallinga-Thie GM, Ackermans MT, Serlie MJ, Oozeer R. 2012. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* **143**:913–916. Elsevier.
- Wang G et al. 2013. The genomics of selection in dogs and the parallel evolution between dogs and humans. *Nature Communications* **4**:1860.
- Wastyk HC et al. 2021. Gut-microbiota-targeted diets modulate human immune status. *Cell* **184**:4137–4153.e14.
- Weber M, Biourge V, Nguyen P. 2017. Digestive sensitivity varies according to size of dogs: a review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **101**:1–9. Wiley Online Library.
- Weber M, Martin L, Biourge V, Nguyen P, Dumon H. 2003. Influence of age and body size on the digestibility of a dry expanded diet in dogs. *Journal of animal physiology and animal nutrition* **87**:21–31. Wiley Online Library.
- Wetzels SU, Strachan CR, Conrady B, Wagner M, Burgener IA, Virányi Z, Selberherr E. 2021. Wolves, dogs and humans in regular contact can mutually impact each other's skin microbiota. *Scientific Reports* **11**:17106. Nature Publishing Group.
- Williams EK, Chang RB, Strohlic DE, Umans BD, Lowell BB, Liberles SD. 2016. Sensory neurons that detect stretch and nutrients in the digestive system. *Cell* **166**:209–221. Elsevier.
- Wise RA. 2004. Dopamine, learning and motivation. *Nature reviews neuroscience* **5**:483–494. Nature Publishing Group UK London.
- Wong JMW, de Souza R, Kendall CWC, Emam A, Jenkins DJA. 2006. Colonic Health: Fermentation and Short Chain Fatty Acids. *Journal of Clinical Gastroenterology* **40**:235.
- Woodmansey EJ, McMurdo ME, Macfarlane GT, Macfarlane S. 2004. Comparison of compositions and metabolic activities of fecal microbiotas in young adults and in antibiotic-treated and non-antibiotic-treated elderly subjects. *Applied and environmental microbiology* **70**:6113–6122. Am Soc Microbiol.
- Wu GD et al. 2011. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science (New York, N.Y.)* **334**:105–108.
- Wu H-J, Wu E. 2012. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes* **3**:4–14.
- Xue R, Zhang H, Pan J, Du Z, Zhou W, Zhang Z, Tian Z, Zhou R, Bai L. 2018. Peripheral Dopamine Controlled by Gut Microbes Inhibits Invariant Natural Killer T Cell-Mediated Hepatitis. *Frontiers in Immunology* **9**.
- Yatsunenkov T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Baldassano RN, Anokhin AP. 2012. Human gut microbiome viewed across age and geography. *nature* **486**:222–227. Nature Publishing Group UK London.
- Ye D et al. 2023. Integrative metagenomic and metabolomic analyses reveal gut microbiota-derived multiple hits connected to development of gestational diabetes mellitus in humans. *Gut Microbes* **15**:2154552.
- Ying S, Zeng D-N, Chi L, Tan Y, Galzote C, Cardona C, Lax S, Gilbert J, Quan Z-X. 2015. The influence of age and gender on skin-associated microbial communities in urban and rural human populations. *PloS one* **10**:e0141842. Public Library of Science San Francisco, CA USA.

- Yurkovetskiy L, Burrows M, Khan AA, Graham L, Volchkov P, Becker L, Antonopoulos D, Umesaki Y, Chervonsky AV. 2013. Gender bias in autoimmunity is influenced by microbiota. *Immunity* **39**:400–412. Elsevier.
- Zhou J, Zhang Q, Zhao Y, Zou Y, Chen M, Zhou S, Wang Z. 2022. The relationship of *Megamonas* species with nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents revealed by metagenomics of gut microbiota. *Scientific Reports* **12**:22001. Nature Publishing Group.

9 Seznam použitých zkratk a symbolů

BARF	kosti a syrová strava
BMI	Index tělesné hmotnosti
D	pes
DGGE	elektroforéza v gradientovém denaturačním gelu
DNA	deoxy-ribonukleová kyselina
F	žena
GABA	gama-aminomáselná kyselina
GIT	gastrointestinální soustava
H	člověk
HPA	osa hypotalamus-hypofýza-nadledviny
M	muž
NGS	sekvenování nové generace
PCoA	metrické vícerozměrové škálování
PCR	polymerázová řetězová reakce
PB	člověk nechovající psa
PU	člověk chovající psa uvnitř domu/bytu
PV	člověk chovající psa mimo svůj byt/dům
RNA	ribonukleová kyselina
rRNA	ribosomální ribonukleová kyselina
sl.	sloupec

10 Seznam tabulek a obrázků

10.1 Tabulky

- Tab.1 Reaktanty PCR a jejich množství pro každý analyzovaný vzorek
Tab.2 Kroky programu PCR-DGGE na přístroji Biometra TAdvanced
Tab.3 Složení roztoků pro DGGE
Tab.4 Složení roztoku pro PCR pro vybrané DGGE bandy
Tab.5 Přehled identifikovaných bakteriálních druhů

10.2 Obrázky

- Obr.1 Agarózová elektroforéza jako pověření úspěšnosti proběhlé PCR reakce
Obr.2 Vizualizace proběhlé DGGE reakce gelu 1 a označené bandy 1-7
Obr.3 Vizualizace proběhlé DGGE reakce gelu 2
Obr.4 Vizualizace proběhlé DGGE reakce gelu 3 a označené bandy 8-10
Obr.5 Vizualizace proběhlé DGGE reakce gelu 4
Obr.6 Osekvenovaný úsek bakteriální DNA, č.1
Obr.7 Dendrogram srovnávající složení střevního biomů psů a člověka
Obr.8 Vizualizace výsledků srovnání složení biomů psa a člověka v softwaru BioNumerics metrickou technikou vícerozměrného škálování
Obr.9 Dendrogram srovnávající složení střevního biomů lidí vlastnicích a nevlastnicích psa.
Obr.10 Vizualizace srovnání lidí vlastnicích a nevlastnicích psa v softwaru BioNumerics metrickou technikou vícerozměrného škálování
Obr.11 Dendrogram srovnávající složení střevního biomů lidí vlastnicích psa uvnitř, venku a nevlastnicích psa
Obr.12 Vizualizace srovnání střevních biomů lidí vlastnicích psa uvnitř, venku a nevlastnicích psa v softwaru BioNumerics metrickou technikou vícerozměrného škálování
Obr.13 Dendrogram srovnávající složení střevního biomů lidí vlastnicích psa uvnitř, venku a psů uvnitř a venku
Obr.14 Vizualizace srovnání střevních biomů lidí vlastnicích psa uvnitř, venku a psů uvnitř a venku v softwaru BioNumerics metrickou technikou vícerozměrného škálování..

11 Samostatné přílohy

Příloha 1 – Tabulka účastníků

Kód člověka	Místo aktuálního bydliště:	Váš věk	Pohlaví člověka	Trpíte nějakým chronickým onemocněním?	Užíval/a jste v posledním měsíci probiotika, prebiotika, či fermentované potraviny?	Vlastnili Vaši rodiče psa?	Kód psa	Pohlaví psa	Váha psa	Kdy jste si pořídili svého psa?	Počet psů v domácnosti	Kde tráví Váš pes nejvíce času?	Má Váš pes přístup do vnitřních prostor bytu/domu?	Označte prosím všechny možnosti, kde Váš pes obvykle spí:	Jedl Váš pes někdy jídlo z nádobí, které jste zároveň používal/a i Vy?	Je možné, že Váš pes je v kontaktu s Vaším jídlem?	Necháváte psa obližovat Váš obličej?	Dáváte svému psovi polibky?	Jakým krmivem je krmen Váš pes?	Užíval Váš pes v posledním měsíci probiotika?
1	Hlavní město Praha	23-30	F	-	+	+	2	M	33 kg	2021	2	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Pelech, kennela, Postel, gauč, křeslo, židle, Podlaha	+	+	+	+	Granule, konzervy	+
3	Hlavní město Praha	40-50	M	Astma	+	+	4	M	30 kg	2019	2	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Pelech, kennela, Postel, gauč, křeslo, židle, Podlaha	+	+	+	+	Granule, konzervy	+
5	Středočeský kraj	23-30	F	-	+	+	6	F	7 kg	2015	1	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Postel, gauč, křeslo, židle	+	-	+	+	Granule, konzervy	+
7	Středočeský kraj	50-60	F	Chronická obstrukční plicní nemoc, astma	-	+	6	F	7 kg	2015	1	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Postel, gauč, křeslo, židle	+	-	-	-	Granule, konzervy	+
8	Hlavní město Praha	30-40	F	-	+	+	9	F	6 kg	2010	1	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Pelech, kennela, Postel, gauč, křeslo, židle, Podlaha	+	-	+	+	Granule, mléčné výrobky, zelenina	-
10	Hlavní město Praha	30-40	M	-	-	-	9	F	6 kg	2010	1	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Pelech, kennela	+	-	+	+	Granule, konzervy	-
11	Hlavní město Praha	40-50	F	Hypothyreaza	-	+	12	M	20 kg	2019	2	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Pelech, kennela, Postel, gauč, křeslo, židle, Podlaha	+	+	+	+	Granule, syrové maso, zelenina, ovoce, rýže, mléčné výrobky, těstoviny, zbytky z kuchyně, doplňky stravy.	-
13	Hlavní město Praha	23-30	F	Hypofunkce štítné žlázy	-	-	14	M	30 kg	2021	1	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Postel, gauč, křeslo, židle, Podlaha	+	+	+	+	Granule, konzervy	-
15	Hlavní město Praha	40-50	M	-	+	+	16	F	22 kg	2010	2	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Pelech, kennela, Postel, gauč, křeslo, židle, Podlaha	+	+	-	+	Granule, zelenina, ovoce, rýže, mléčné výrobky, těstoviny, zbytky z kuchyně, doplňky stravy.	-
17	Hlavní město Praha	30-40	F	-	+	+	18	F	5 kg	2018	1	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Pelech, kennela, Podlaha	+	-	+	+	Granule, konzervy	-
19	Středočeský kraj	23-30	F	-	+	+	20	F	22 kg	2019	1	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Postel, gauč, křeslo, židle	+	+	+	+	Granule, konzervy	-
21	Středočeský kraj	23-30	F	-	-	+	22	F	40 kg	2020	1	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Pelech, kennela	+	+	+	+	Konzervy, vařené maso, granule.	-

Kód člověka	Místo aktuálního bydliště:	Váš věk	Pohlaví člověka	Trpíte nějakým chronickým onemocněním?	Užíval/a jste v posledním měsíci probiotika, prebiotika, či fermentované potraviny?	Vlastnili Vaši rodiče psa?	Kód psa	Pohlaví psa	Váha psa	Kdy jste si pořídili svého psa?	Počet psů v domácnosti	Kde tráví Váš pes nejvíce času?	Má Váš pes přístup do vnitřních prostor bytu/domu?	Označte prosím všechny možnosti, kde Váš pes obvykle spí:	Jedl Váš pes někdy jídlo z nádobí, které jste zároveň používal/a i Vy?	Je možné, že Váš pes je v kontaktu s Vaším jídlem?	Necháváte psa oblizovat Váš obličej?	Dáváte svému psovi poilkby?	Jakým krmivem je krměn Váš pes?	Užíval Váš pes v posledním měsíci probiotika?
23	Hlavní město Praha	23-30	F	Autoimunitní zánět štítné žlázy, alergie, astma	+	+	24	F	13 kg	2019	1	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Pelech, kennela, Postel, gauč, křeslo, židle, Podlaha	+	+	+	+	Barf	+
25	Středočeský kraj	30-40	M	-	+	-	26	M	15 kg	2021	1	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Pelech, kennela, Postel, gauč, křeslo, židle, Podlaha	+	+	-	+	Barf	-
28	Středočeský kraj	23-30	F	-	+	+	29	M	25kg	2022	2	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Pelech, kennela, Postel, gauč, křeslo, židle	+	+	+	+	Barf, doplňky stravy	-
							30	F	16 kg	2014	2	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Pelech, kennela, Postel, gauč, křeslo, židle	+	+	+	+	Barf, doplňky stravy	-
31	Středočeský kraj	30-40	F	-	-	-	32	F	28 kg	2015	2	Venku	Ne	Pelech, kennela	-	+	-	+	Granule, konzervy	-
33	Středočeský kraj	23-30	F	-	+	+	34	F	25 kg	2020	2	Venku	Ne	Pelech, kennela, Podlaha	+	-	-	+	Granule, konzervy, zbytky z kuchyně	-
35	Středočeský kraj	60 a víc	M	-	-	+	36	F	37 kg	2020	1	Venku	Ne	Pelech, kennela	-	+	-	-	Granule, konzervy	-
37	Hlavní město Praha	30-40	F	-	+	-	38	M	22 kg	2021	2	Venku	Ne	Pelech, kennela, Podlaha	-	-	-	-	Granule, konzervy	+
39	Středočeský kraj	40-50	F	-	-	+	40	M	20 kg	2014	1	Venku	Ne	Pelech, kennela	-	-	-	-	Granule, konzervy	-
41	Středočeský kraj	40-50	F	-	+	+	42	F	67 kg	2015	2	Venku	Ano, ale pouze omezeně	Pelech, kennela, Postel, gauč, křeslo, židle, Podlaha	+	-	+	+	Barf	+
							27	F	9,5 kg	2015	2	Uvnitř	Ano, do většiny bytu/domu	Pelech, kennela, podlaha	+	+	+	+	Barf	+
43	Hlavní město Praha	30-40	F	-	-	-	44	F	41 kg	2010	1	Venku	Ne	Pelech, kennela	-	-	-	+	Granule, konzervy	-
45	Kraj Vysočina	23-30	F	-	+	+	46	M	38 kg	2013	1	Venku	Ano, ale pouze omezeně	Pelech, kennela, Podlaha	+	+	+	+	Granule, konzervy	-
47	Moravskoslezský kraj	50-60	F	-	+	+	48	M	30 kg	2013	3	Venku	Ne	Podlaha	-	-	-	-	Granule, vařená strava	-
49	Moravskoslezský kraj	40-50	F	-	-	+	50	F	11 kg	2017	1	Venku	Ano, ale pouze omezeně	Pelech, kennela	-	-	-	-	Granule, konzervy a vařená strava	-
51	Pardubický kraj	30-40	M	-	+	+	52	F	42 kg	2019	2	Venku	Ano, ale pouze omezeně	Pelech, kennela, Podlaha	-	-	+	+	Barf	-
53	Středočeský kraj	30-40	M	-	-	+	54	M	24 kg	2016	3	Venku	Ne	Pelech, kennela	-	-	-	-	Granule, konzervy	-

Kód člověka	Místo aktuálního bydliště:	Váš věk	Pohlaví člověka	Trpíte nějakým chronickým onemocněním?	Užíval/a jste v posledním měsíci probiotika, prebiotika, či fermentované potraviny?	Vlastnili Vaši rodiče psa?	Kód psa	Pohlaví psa	Váha psa	Kdy jste si pořídili svého psa?	Počet psů v domácnosti	Kde tráví Váš pes nejvíce času?	Má Váš pes přístup do vnitřních prostor bytu/domu?	Označte prosím všechny možnosti, kde Váš pes obvykle spí:	Jedl Váš pes někdy jídlo z nádobí, které jste zároveň používal/a i Vy?	Je možné, že Váš pes je v kontaktu s Vaším jídlem?	Necháváte psa oblizovat Váš obličej?	Dáváte svému psovi polibky?	Jakým krmivem je krměn Váš pes?	Užíval Váš pes v posledním měsíci probiotika?
55	Středočeský kraj	30-40	F	-	-	-	54	M	24 kg	2016	3	Venku	Ne	Pelech, kennela	-	-	-	-	Granule, konzervy	-
56	Středočeský kraj	18-22	F	-	+	+	57	F	25 kg	2013	1	Venku	Ne	Pelech, kennela	-	-	+	-	Granule, vařená strava, zbytky z kuchyně	-
58	Středočeský kraj	23-30	F	-	+	-	59	F	32 kg	2020	1	Venku	Ano, ale pouze omezeně	Pelech, kennela	-	+	+	+	Barf	-
60	Hlavní město Praha	30-40	M	-	-	-	-	-												
62	Hlavní město Praha	23-30	F	-	+	-	-	-												
63	Hlavní město Praha	30-40	M	Únava	+	-	-	-												
64	Královéhradecký kraj	23-30	F	-	+	-	-	-												
65	Zlínský kraj	50-60	F	Diabetes 2.typu	-	-	-	-												
66	Zlínský kraj	50-60	M	-	-	-	-	-												
67	Hlavní město Praha	23-30	F	-	-	-	-	-												
68	Hlavní město Praha	23-30	M	Gilbertův syndrom	-	-	-	-												
69	Hlavní město Praha	50-60	F	-	-	-	-	-												
70	Hlavní město Praha	50-60	M	Hemoroidy, záněty prostaty	+	-	-	-												
71	Hlavní město Praha	23-30	F	-	-	-	-	-												
72	Středočeský kraj	50-60	F	Autoimunitní zánět štítné žlázy	+	-	-	-												
73	Hlavní město Praha	30-40	F	-	+	-	-	-												
74	Středočeský kraj	30-40	F	-	+	-	-	-												
75	Hlavní město Praha	23-30	M	Ekzém pokožky hlavy	-	-	-	-												