

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH VĚD
Ústav porodní asistence

Bc. Simona Grulichová

Mikrobiální osídlení nezralého novorozence

Diplomová práce

Vedoucí práce: MUDr. Soňa Šuláková

Olomouc 2024

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a použila jen uvedené bibliografické a elektronické zdroje.

V Olomouci 10. května 2024

podpis

Děkuji vedoucí mé práce, MUDr. Soně Šulákové, za její odborné vedení, cenné rady, připomínky a za čas, který mi věnovala při tvorbě práce. Statistické zpracování dat bylo provedeno na Ústavu molekulární a translační medicíny Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci za podpory projektu „Projekt Národní ústav pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.“ Děkuji také celé své rodině, příteli a přátelům za podporu během studia.

ANOTACE

Typ závěrečné práce:	Diplomová práce
Téma práce:	Mikrobiom nezralého novorozence
Název práce:	Mikrobiální osídlení nezralého novorozence
Název práce v AJ:	Microbial colonization of the immature infant
Datum zadání:	2023-01-31
Datum odevzdání:	2024-05-10
Vysoká škola, fakulta, ústav:	Univerzita Palackého v Olomouci Fakulta zdravotnických věd Ústav porodní asistence
Autor práce:	Bc. Grulichová Simona
Vedoucí práce:	MUDr. Soňa Šuláková
Oponent práce:	Mgr. et Mgr. Věra Dostálíková
Abstrakt v ČJ:	

Úvod: Diplomová práce se zabývá problematikou mikrobiálního osídlení předčasně narozených dětí. Kolonizující mikrobiom úzce souvisí se zdravím jedince a s rozvojem některých komplikací a onemocnění. Cílem výzkumu v této práci bylo identifikovat vliv způsobu porodu a gestačního věku na mikrobiální kolonizaci nezralého novorozence, což může být klíčové pro minimalizaci vzniku nepříznivých zdravotních stavů.

Metodika: Byla shromážděna data o vstupních mikrobiálních kultivačních stěrech (krk-nos, axila, ucho, rektum) celkem od 207 novorozenců s porodní hmotností pod 1500 g. U 139 dětí byla sesbírána další data o pozitivních kultivačních nálezech identifikovaných ve stěrech z rekta během prvního měsíce života. Sběr dat proběhl v rámci oddělení Novorozenecké JIRP ve FNOL. Statistická analýza byla provedena pomocí statistického software R, ver. 3.5.2. s použitím t-testu, chí-kvadrát testu a McNemarova testu. Hladina statistické významnosti byla stanovena na 5 %.

Výsledky: U dětí po vaginálním způsobu porodu bylo identifikováno vyšší množství pozitivních nálezů v kožních stěrech. Obecně u všech nezralých novorozenců dominovaly kmeny Firmicutes a Proteobacteria. Vliv způsobu porodu na mikrobiální

osídlení novorozence byl významný v prvních dnech po porodu, v průběhu dalších 4 týdnů se minimalizoval. Mikrobiální osídlení výzkumných skupin rozdělených dle gestačního věku bylo velmi podobné, i přes to však byly detekovány drobné variace ve vstupních stěrech. Nicméně při zkoumání této skutečnosti nebyly rozdíly natolik signifikantní, jako při sledování způsobu porodu.

Závěr: V tomto výzkumu byla prokázána souvislost mezi způsobem porodu a mikrobiálním osídlením nezralého novorozence bezprostředně po porodu. Během prvního měsíce života se rozdíly způsobené odlišným způsobem porodu snížily. Tyto data korelují s dalšími provedenými studiemi v rámci dané problematiky. Pozorovali jsme také variace v mikrobiálním profilu v závislosti na gestačním věku, ale nelze z nich jednoznačně vyvozovat souvislost mezi gestačním stářím nezralého novorozence a jeho mikrobiálním osídlením.

Abstrakt v AJ:

Background: The thesis deals with the issue of microbial colonization of premature infants. Aberrant microbiome is linked to the development of certain complications and diseases, understanding this issue may be crucial to minimizing the occurrence of these adverse health consequences. The aim of the research in this thesis was to identify the effect of mode of delivery and gestational age on microbial colonization of the immature neonate. The data acquired may help to better understand this issue.

Methods: Data of the initial microbial culture swabs (nose-neck, axilla, ear, rectum) from 207 preterm neonates with birth weight below 1500 g were collected. Additional data were collected for 139 infants with positive culture findings identified in rectal swabs during the first month of life. Data collection was performed within the neonatal ICU department at the FNOL. Statistical analysis was performed using software R, ver. 3.5.2. using t-test, chi-square test and McNemar test. The significance threshold was 5 %.

Results: A higher number of microorganisms in skin swabs were identified in newborns after vaginal delivery. In general, bacterial phyla Firmicutes and Proteobacteria were dominant in all immature neonates. The effect of mode of delivery

on the microbial colonization of the newborn was significant in the first few days after delivery. It was minimized during the next 4 weeks. The microbial population of the study groups divided according to gestational age was very similar, however, slight variations were detected in the initial swabs. However, when this was examined, the differences were not as significant as when the mode of delivery was observed.

Conclusion: In this study, the effect of mode of delivery on microbial colonization of the immature neonate immediately after birth was demonstrated, but minimized during the first month of life. These findings correlate with results of other previous research. We also observed variations in the microbial profile depending on gestational age, but no clear association between the gestational age of the immature newborn and its microbial colonization can be inferred.

Klíčová slova v ČJ: mikrobiom, nezralý novorozenec, předčasně narozený novorozenec, způsob porodu, gestační věk

Klíčová slova v AJ: microbiome, immature infant, preterm infant, mode of delivery, gestational age

Rozsah: 115 stran/ 1 příloha

Obsah

Úvod.....	8
1 Popis rešeršní činnosti.....	10
2 Teoretické východiska.....	11
2.1 Vznik a vývoj mikrobiomu.....	11
2.1.1 Vznik a vývoj mikrobiomu z pohledu imunologie.....	14
2.2 Mikrobiom nezralého novorozence.....	16
2.2.1 Skladba mikrobiomu nezralých novorozenců.....	18
2.3 Vliv perinatálních faktorů na mikrobiom nezralého novorozence.....	23
2.3.1 Způsob porodu.....	23
2.3.2 Druh podávané stravy.....	30
2.3.3 Antibiotická terapie.....	33
2.3.4 Probiotická suplementace.....	40
2.4 Nekrotizující enterokolitida.....	43
2.5 Porovnání mikrobiomu termínových a nezralých novorozenců.....	46
2.5.1 Srovnání mikrobiálních fetálních DNA profilů.....	46
2.5.2 Porovnání mikrobiomu podle zralosti novorozence.....	49
3 Metodika výzkumu mikrobiální osídlení novorozence.....	54
3.1 Výzkumné cíle a hypotézy.....	54
3.2 Charakteristika výzkumného vzorku.....	55
3.3 Metoda sběru dat.....	56
3.4 Realizace výzkumu.....	56
3.5 Metoda zpracování dat.....	56
4 Interpretace výsledků.....	58
5 Diskuze.....	91
Závěr.....	94
Referenční seznam.....	97
Seznam zkratk.....	107
Seznam obrázků.....	109
Seznam tabulek.....	110
Seznam grafů.....	112
Seznam příloh.....	114

Úvod

Zhruba 10 % novorozenců na celém světě je narozených předčasně (Hiltunen a kol., 2022, s. 1804-1811). To činí asi 2,3 milionů dětí ročně (Xiu a kol., 2023, s. 1-8). Nezralost je hlavní příčinou celosvětových úmrtí dětí do věku 5 let. Předčasně narozené děti se rodí v rozmezí od 22. týdne do 36. týdne a 6 dní gestace (Lee a kol., 2020, s. 1-18). Nejčastějšími komplikacemi prematurity jsou nekrotizující enterokolitida, pozdní novorozenecká seps, bronchopulmonální dysplázie a intraventrikulární hemoragie (Adams a Bassler, 2019, s. 212-226).

Střevo obsahuje komplexní, různorodé a dynamické mikrobiální společenství (Gasaly, de Vos a Hermoso, 2021, s. 1-16). Střevní mikroflóra hraje nepostradatelnou roli v obraně proti kolonizaci střevními patogeny, podporuje dozrávání imunitního systému a reguluje metabolismus hostitele (Zheng, Liwinski a Elinav, 2020, s. 492-506). Proces získávání mikrobiomu je u nezralých novorozenců odlišný v porovnání s termínovými novorozenci. Jejich prenatální a postnatální období často doprovází řada faktorů, které mohou proces tvorby vlastního mikrobiálního profilu ovlivnit. Mateřské komplikace, expozice antibiotikům, způsob porodu, užívání probiotik, nedostatek skin-to-skin kontaktu a časného zahájení kojení mohou výrazně formovat střevní mikroflóru v raném stádiu života nedonošených novorozenců (Chen a Shi, 2023, s. 1-17; Hiltunen a kol., 2022, s. 1804-1811). Předčasně narozené děti dostávají více umělých mléčných formulí ve srovnání s termínovými novorozenci, což může mít rovněž vliv na střevní mikroflóru, protože oligosacharidy mateřského mléka selektivně podporují růst specifických mikrobů (Dahl a kol., 2018, s. 1658-1669).

Aberantní složení střevní mikroflóry u předčasně narozených novorozenců je spojeno s krátkodobými i dlouhodobými nepříznivými zdravotními následky a může být indikací pro včasnou intervenci (Hiltunen a kol., 2022, s. 1804-1811). Předpokládá se, že střevní mikrobiální dysbióza předchází rozvoji některých komplikací, jako jsou nekrotizující enterokolitida, neadekvátní postnatální růst a pozdní seps (Hiltunen a kol., 2022, s. 1804-1811; Lee a kol. 2020, s. 1-18). Správná interpretace procesu časně mikrobiální kolonizace předčasně narozeného novorozence může poskytnout nové postupy k prevenci těchto komplikací (Hiltunen a kol., 2022, s. 1804-1811).

Nelze jednoznačně určit, zda jsou změny mikroflóry přímo spojené s faktory způsobujícími předčasný porod a nezralostí jako takovou, či jsou pouhými důsledky léčebných postupů a vzorců krmení (Hiltunen a kol., 2022, s. 1804-1811). I když

některé faktory může být obtížné ovlivnit, správné porozumění potenciálním determinantům nám poskytne základ pro včasnou tvorbu léčebných postupů k podpoře zdravé střevní mikrobioty nezralého novorozence (Chen a Shi, 2023, s. 1-17).

Vstupní studijní literatura:

Amandito, R., Malik, A., & Rohsiswatmo, R. (2022). Metagenomic profiles of the early life microbiome of Indonesian inpatient neonates and their influence on clinical characteristics. *Scientific Reports*, 12(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13496-4>

Humberg, A., Fortmann, I., Siller, B., Kopp, M. V., Herting, E., Göpel, W., & Härtel, C. (2020). Preterm birth and sustained inflammation: consequences for the neonate. *Seminars in Immunopathology*, 42(4), 451-468. <https://doi.org/10.1007/s00281-020-00803-2>

Granger, C. L., Embleton, N. D., Palmer, J. M., Lamb, C. A., Berrington, J. E., & Stewart, C. J. (2021). Maternal breastmilk, infant gut microbiome and the impact on preterm infant health. *Acta Paediatrica*, 110(2), 450-457. <https://doi.org/10.1111/apa.15534>

Marissen, J., Gomez de Agüero, M., Chandorkar, P., Reichert, L., Glaser, K., Speer, C. P., & Härtel, C. (2023). The Delicate Skin of Preterm Infants: Barrier Function, Immune-Microbiome Interaction, and Clinical Implications. *Neonatology* (16617800), 120(3), 295-307. <https://doi.org/10.1159/000529026>

D'agata, A. L., Wu, J., Welandawe, M. K. V., Dutra, S. V. O., Kane, B., & Groer, M. W. (2019). Effects of early life NICU stress on the developing gut microbiome. *Developmental Psychobiology*, 61(5), 650-660. <https://doi.org/10.1002/dev.21826>

1 Popis rešeršní činnosti

Vyhledávací kritéria:

Klíčová slova v ČJ: mikrobiom, nezralý novorozenec, předčasně narozený novorozenec, střevní mikroflóra, nekrotizující enterokolitida, gestační věk, kožní mikroflóra, probiotická suplementace, antibiotická terapie, mateřské mléko

Klíčová slova v AJ: microbiome, immature newborn, preterm newborn, intestinal microflora, necrotizing enterocolitis, gestational age, skin microflora, probiotic supplementation, antibiotic therapy, breast milk

Jazyk: český, anglický, slovenský

Období: 2017–2023



Databáze: PubMed, Ovid, EBSCO, Google Scholar



Nalezeno: 196 dokumentů



Vyřazující kritéria:

- duplicitní dokumenty
- obsahová nekompatibilita s cíli práce
- kvalifikační práce



Sumarizace využitých databází a dohledaných dokumentů:

PubMed: 12

Ovid: 25

EBSCO: 20

Google Scholar: 4

V rámci rešeršní činnosti bylo pro tvorbu diplomové práce použito 61 dohledaných dokumentů a všechny byly cizojazyčné. Kompletní seznam zdrojů pro diplomovou práci je uveden v referenčním seznamu.

2 Teoretické východiska

2.1 Vznik a vývoj mikrobiomu

Mikrobiom zahrnuje komenzální, symbiotické a patogenní bakterie, houby a viry, které vzájemně interagují mezi sebou a hostitelem (Staude a kol., 2018, s.1-12). Původní teorie ohledně tvorby mikrobiomu novorozence vychází z představy, že se plod vyvíjí ve sterilním prostředí in utero (Blaser a kol., 2021, s. 1-7; Leiby a kol., 2018, s. 1-11; Younge a kol., 2019, s. 1-14). Zde má být plod chráněn před nepříznivými vlivy vnějšího prostředí (Staude a kol., 2018, s.1-12). K jeho mikrobiálnímu osídlení má dojít až během a po porodu. Kolonizace nastává zejména během vaginálního porodu, protože při VP je dítě vystaveno většímu množství mikroorganismů než během císařského řezu. K dalšímu rozvoji jeho jedinečného mikrobiálního osídlení následně dochází prostřednictvím mateřského mléka a expozici mikrobů v okolním prostředí (Younge a kol., 2019, s. 1-14).

Během posledních dvaceti let se materno-feto-neonatální kolonizace dostává do předních příček na žebříčku hlavních témat diskutovaných v rámci oboru neonatologie. V této souvislosti je stále řešena základní myšlenka, zda začíná mikrobiální kolonizace vyvíjejícího se plodu již v děloze matky, nebo přichází novorozenec do prvotního kontaktu s mikroorganismy až po porodu (Healy a kol., 2023, s. 1-8). Předchozí výzkumy ukázaly, že ve fetálním prostředí lze identifikovat mikrobiální DNA (Blaser a kol., 2021, s. 1-7; He a kol., 2020, s. 1-14; Rackaityte a kol., 2020, s. 599-607; Younge a kol., 2019, s. 1-14). Fetomaternální jednotka je tak kolonizována mikroby, kteří mohou být předpokladem pro zránění imunitního systému, udržení homeostázy a hormonální rovnováhy (Staude a kol., 2018, s.1-12) Otázkou však zůstává, zda tyto genetické informace představují životaschopné bakterie a jak souvisí s mikroflórou matky (He a kol. 2020, s. 1-14; Rackaityte a kol., 2020, s. 599-607; Younge a kol., 2019, s. 1-14).

Na skutečnost, zda jsou lidský plod a prenatální intrauterinní prostředí stabilně osídleny skupinami mikroorganismů v průběhu zdravého těhotenství, se lze podívat z pohledu několika medicínských oborů, jako jsou reprodukční biologie, imunologie, klinická mikrobiologie, mikrobiální ekologie, bioinformatika a další. Dlouhou dobu se předpokládalo, že prenatální nitroděložní prostředí je svým způsobem chráněno před živými mikroorganismy. Některé nedávné objevy však tento pohled zpochybnily až

vyvrátily. Existuje domněnka, že vývoj mikrobiomu dítěte začíná již v intrauterinním prostředí (Kennedy a kol., 2023, s. 639-649).

Dříve byla plodová voda považována za sterilní, novodobé výzkumy však popisují, že by mikroorganismy obsahovat mohla. Vývoj novorozeneckého mikrobiomu tak pravděpodobně začíná již v děloze, kde je plod v přímém kontaktu s amniální tekutinou a polyká ji. Některé studie prokázaly, že novorozenecká orální mikrobiota se podobá mikrobiotě plodové vody, placenty a mekonie (Shah a kol., 2022, s. 1-7).

Rackaityte a kol. se ve své analýze zaměřili na ukončená těhotenství v období 18.-23. týdne gestace. Ve fetálním mekoniu bylo identifikováno celkem osmnáct bakteriálních taxonů (Rackaityte a kol., 2020, s. 599-607). Plod během svého nitroděložního vývoje polyká velké množství amniální tekutiny, která pravděpodobně obsahuje mikroorganismy, což vysvětluje jejich přítomnost ve fetálním střevě (Stauder a kol., 2018, s.1-12) Mezi nejhojněji zastoupené patřily Micrococcaceae, zejména *Micrococcus luteus*, a *Lactobacillus*. Autoři předkládají možnost, že fetální *Micrococcus* pochází z cervikovaginální mikrobioty matky, kde se tento rod také běžně vyskytuje. Tento závěr demonstrují na základě bližšího genomového zkoumání rodu *Micrococcus*. Daná analýza odhalila podobnosti v genomu mezi izoláty z vaginálního a fetálního prostředí, což může značit určitý genetický vztah. Zároveň však fetální *Micrococcus* obsahoval specifické geny, které se u druhé skupiny vzorků nevyskytovaly. Tyto specifické geny by mohly těmto mikroorganismům poskytovat určité výhody pro přežití v silných selekčních podmínkách fetálního střeva (Rackaityte a kol., 2020, s. 599-607). Specifické bakterie, jež jsou schopny přežít ve střevě během fetálního vývoje, by měly být schopné přetrvávat v podmínkách s omezeným množstvím živin, využívat hormonální těhotenské změny ve svůj prospěch jako zdroj živin a přežít ve fagocytech. Schopnost přežít ve fagocytech může bakteriím sloužit jako obranný mechanismus, který jim pomůže vyhnout se imunitnímu útoku a přežít tak v prostředí fetálního střeva. Mechanismy regulující přítomnost bakterií v prostředí fetálního střeva zatím nejsou prozkoumány (Rackaityte a kol., 2020, s. 599-607). Younge a kol. (2019, s. 1-14) identifikovali přítomnost mikroorganismů v mekoniu novorozenců ve 24. týdnu gestace.

Na základě studie Rackaityte a kol., která uvedla důkazy o nízké úrovni bakteriální kolonizace fetálního střeva ve 2. trimestru gestace, ale zároveň o přítomnosti bakteriálního rodu *Micrococcus* v mekoniu, se de Goffau a kol. rozhodli

znovu analyzovat jejich sekvenční data. Při opětovném zkoumání jejich dat bylo zjištěno, že v předchozím výzkumu nebyl *Micrococcus* identifikován jako kontaminant a bylo tak nesprávně vyhodnoceno, že pochází z fetálního střeva. Nejpravděpodobnějším vysvětlením dle de Goffau a kol. ohledně přítomnosti rodu *Micrococcus* ve vzorcích mekonia je totiž kontaminace (De Goffau a kol., 2021, s. 1-7). *Micrococcus luteus* je bakterie, která je běžně považována za kontaminant čistého prostředí a chirurgických nástrojů (Wistrand, Söderquist a Sundqvist, 2021, s. 97-102). *Micrococcus luteus* jako kontaminant popsali ve své analýze také Mirsha a kol. (2019).

Řada studií dokazuje existenci prenatálního mikrobiomu (He a kol., 2020, s. 1-14; Rackaityte a kol., 2020, s. 599-607; Younge a kol., 2019, s. 1-14), nicméně stále větší počet vědců se ho ve svých výzkumech snaží zpochybnit (Blaser a kol., 2021, s. 1-7; Leiby a kol., 2018, s. 1-11) a poukazují na možnou mikrobiální kontaminaci analyzovaných vzorků (Blaser a kol., 2021, s. 1-7). Nepřesné výsledky z důvodu možné kontaminace mohou nastat zejména při analýze mekonia. Ve většině studií jsou totiž vzorky odebrané hodiny až dny po narození. Kennedy a kol. se z toho důvodu rozhodli zkoumat mikrobiální DNA profil mekonia před narozením. Fetální mekonium bylo odebrané výtěrem z rekta během plánovaného císařského řezu pro konec pánevní. Z laboratorních výsledků vyplývá, že ve fetálním mekoniu nebyly nalezeny žádné známky mikroorganismů. Sice byli ve vzorcích nalezeni *Staphylococcus epidermidis* a *Cutibacterium acnes*, ale zjistilo se, že tyto bakterie pravděpodobně pocházely z pokožky plodu, nikoli fetálního střeva, a byly tak považovány za kontaminanty. Tyto bakterie tedy neodrážely skutečný stav střevní mikroflóry před narozením (Kennedy a kol., 2021, s. 865-873)

De Goffau a kol. označil *Streptococcus agalactiae* jako jediný bakteriální druh, který byl s jistotou přítomen v 5 % vyšetřovaných placentárních tkáních již před porodem. Závěrem této studie je, že bakteriální infekce placenty není hlavní příčinou předčasných porodů a placentární tkáň neobsahuje svůj mikrobiom. Výzkum však ukazuje, že i když nemá placenta definovanou mikroflóru, může být potenciálním zdrojem perinatálního přenosu *Streptococcus agalactiae*, jež je původcem neonatální sepsy (De Goffau a kol., 2019, s. 329-334).

2.1.1 Vznik a vývoj mikrobiomu z pohledu imunologie

Mateřský mikrobiom řídí vývoj imunitního systému plodu (Staude a kol., 2018, s.1-12). Slizniční imunita se v lidském střevě vyvíjí od 11.-14. týdne gestace, kdy začíná být střevo osídleno migrujícími dendritickými buňkami, což jsou speciální buňky imunitního systému, které mají schopnost migrovat, a tím vyhledávat a reagovat na mikrobiální podněty a vyvolat odpovědi T-lymfocytů (Halkias a kol., 2019, s. 3562-3577; Li a kol., 2019, s. 301-312; Rackaityte a kol., 2020, s. 599-607).

Adaptivní imunita je založena na selekci a rozšiřování antigenově specifických T-lymfocytů. Imunitní systém tedy tvoří T-buňky, které jsou schopny rozpoznat cizorodé látky. Tyto buňky kolují mezi lymfatickými uzlinami, kde provádí skenování peptidových epitopů, čímž zkoumají prostředí a identifikují potenciálně nebezpečné cizí látky. Toto rozpoznání spouští diferenciaci a proliferaci T-buněk. Diferenciace vede k vytvoření efektorových T-lymfocytů, které migrují k místu s primární infekcí a jsou specializovány na boj s ní. Zároveň se tvoří buňky paměťové, které zůstávají v oběhu a pamatují si specifický antigen. Při opakovaném setkání organismu s antigenem umožňují rychlou obrannou reakci imunitního systému na infekci (Li a kol., 2019, s. 301-312). Tyto T-lymfocyty jsou hojně identifikovány ve fetálním střevě a to od 13. týdne gestace. Není však zcela objasněno, zda jsou v intrauterinním prostředí přítomny životaschopné mikroorganismy, které dokážou mít vliv na střevní mikrobiotu vyvíjejícího se plodu (Halkias a kol., 2019, s. 3562-3577; Li a kol., 2019, s. 301-312; Rackaityte a kol., 2020, s. 599-607) Základní znalosti o adaptivní imunitě v raném věku zůstávají tak dále nedostatečné (Li a kol., 2019, s. 301-312)

Imunitní systém lidského plodu se začíná vyvíjet již v průběhu těhotenství (Mishra a kol., 2021, s. 3394-3409; Rackaityte a kol., 2020, s. 599-607) avšak také Mishra a kol. tvrdí, že faktory zodpovědné za imunitní podporu plodu zůstávají neobjasněné. Proto se Mishra a kol. zabývali expozicí mikrobiálním činitelům během intrauterinního vývoje a jejich podílem na aktivaci paměťových T-buněk ve tkáních plodu (Mishra a kol., 2021, s. 3394-3409).

Mikrobi byli v průběhu druhého trimestru gravidity detekováni v několika orgánech plodu, konkrétně v plicích, střevech, na kůži a v placentě. Izolát fetálního střeva pocházel z oblasti kolem ilea, kde je prokázána nejrozmanitější a nejbohatší mikrobiota v celém střevě. Sledování prokázalo přímou přítomnost bakterií v lumen fetálního střeva během 2. trimestru gravidity. Mezi bakterie, jež byly ve tkáních plodu

popsány, patří Staphylococcus, Lactobacillus, Streptococcus, Enterococcus, Bifidobacterium, Prevotella a Finegoldia. Tyto bakterie v laboratorních podmínkách aktivovaly paměťové T-lymfocyty v mezenterických lymfatických uzlinách plodu, což svědčí o předchozím setkání s antigeny a připravenosti fetálního imunitního systému s těmito bakteriálními antigenními podněty reagovat (Mishra a kol., 2021, s. 3394-3409).

I když vliv mikrobů na imunitní systém plodu nastínili již Rackaityte a kol. ve svém výzkumu, Mishra a kol. jako první studie ukazují, že daná přítomnost mikrobů ovlivňuje priming imunitního systému plodu. Mikroby in utero připravují imunitní systém plodu k efektivnější a citlivější reakci při budoucí expozici. Tímto se dává do souvislosti mikrobiální paměť s procesem tzv. imunitního přednastavení plodu. Tento koncept dosud nebyl v oblasti fetální imunity zkoumán a je tak nutné dalšího zkoumání této problematiky. Diskutuje se také o potenciální roli těchto buněk v rámci obrany proti patogenním mikrobům jak v novorozeneckém, tak dospělém životě (Mishra a kol., 2021, s. 3394-3409).

Li a kol. (2019, s. 301-312) popisují ve své studii formování paměťových CD4+ T-lymfocytů ve fetálním střevě, což značí expozici cizorodým antigenům in utero. I přes zjištěná data řada vědců nadále podporuje myšlenku, že existence živých mikroorganismů ve fetálních tkáních během intrauterinního vývoje není v souladu se základními principy imunologie (Kennedy a kol., 2023, s. 639-649).

V současné době tedy existuje řada nesrovnalostí ohledně přítomnosti mikroorganismů in utero a jsou opakovaně přezkoumávány (Baker, Chase a Herbst-Kralovetz, 2018, s. 1-16). Kennedy a kol., Baker, Chase a Herbst-Kralovetz poukazují na kontroverzní výsledky na základě několika výzkumů. Vysvětlují důležitost správného pochopení fetálního mikrobiomu, aby bylo možné na základě toho uskutečnit výzkumy, jež přinesou nové poznatky v oblasti zdraví plodu a novorozence. V případě špatné interpretace existence fetální mikroflóry nepřinesou výzkumné činnosti žádný pokrok v této oblasti (Baker, Chase a Herbst-Kralovetz, 2018, s.1-16; Kennedy a kol., 2023, s.639-649). To může vést k neúčelným pokusům o terapeutické ovlivnění neexistujícího mikrobiomu plodu. Pokud by se předpoklad fetálního mikrobiomu potvrdil, vyžadovalo by to radikální přepracování našeho chápání imunitního vývoje a dalších systémů v rané fázi života (Kennedy a kol., 2023, s. 639-649).

2.2 Mikrobiom nezralého novorozence

První dva roky života dítěte jsou charakterizovány jako období, kdy dochází k vývoji složitého mikrobiomu. Novorozenci přecházejí z nejednotné střevní mikroflóry postupně ke stabilnímu vzorci mikrobiálního osídlení. Tento proces získávání jednotného a konstantního mikrobiomu je výraznější u předčasně narozených novorozenců než u donošených dětí (Young a kol., 2020, s. 12-19). Mikrobiální kolonizace může u nezralých novorozenců probíhat odlišným způsobem v porovnání s termínovými novorozenci. Tento aberantní způsob bakteriálního osídlení novorozence může být způsoben z mnoha důvodů, jako jsou například:

- nedokonale vyvinutý střevní a imunitní systém,
- nemocniční prostředí, ve kterém tráví první týdny až měsíce svého života,
- častá expozice antimikrobiálními látkám a přípravkům,
- odlišný vzorec krmení (pozdější zahájení enterálního příjmu stravy, používání UM místo MM) (Healy a kol., 2023, s. 1-8).

Novorozenecká mikroflóra napomáhá při angiogenezi, imunitních funkcích, vývoji střevních T-buněk a lymfoidní tkáně v okolí střeva (Shah a kol., 2022, s. 1-7). V průběhu nemocniční péče jsou předčasně narozené děti vystaveny mnoha faktorům, které by mohly ovlivnit vývoj jejich střevní mikrobioty (Young a kol., 2020, s. 12-19). Mezi tyto faktory řadíme parenterální výživu, pozdější zahájení plného kojení, prenatální i postnatální expozice antibiotikům, podávání antimykotik a přítomnost invazivních vstupů (Staude a kol., 2018, s. 1-12; Young a kol., 2020, s. 12-19). Dlouhodobě zavedené močové cévky, intravenózní kanyly, endotracheální kanyly a nasogastrické či orogastrické sondy mohou být zdrojem řady patogenů rezistentních na antibiotika. Kromě toho mají předčasně narození novorozenci nedostatečně vyvinutý imunitní systém a střevo není dost přizpůsobeno vlivům vnějšího prostředí (Young a kol., 2020, s. 12-19). V porovnání s termínovými novorozenci jsou také vystaveni častěji umělé plicní ventilaci, což může rovněž ovlivnit skladbu mikrobiomu (Shah a kol., 2022, s. 1-7). V souvislosti s těmito faktory jsou předčasně narození novorozenci náchylnější k bakteriální či virové infekci (Shah a kol., 2022, s. 1-7).

Předpokládá se, že nedostatečný vývoj imunitního systému a nezralost střeva nejsou jediné rizikové faktory pro vznik závažných komplikací. Skladba mikrobiomu předčasně narozených dětí a faktory, které ho ovlivňují, mají pravděpodobně

souvislost s rozvojem některých komplikací, které u této skupiny dětí nastávají relativně často. Mezi tyto komplikace řadíme například nekrotizující enterokolitidu NEC, což je závažné střevní onemocnění a pozdní sepsi, jejíž průběh může mít fatální následky. Infekce také způsobuje či zhoršuje RDS, oběhovou nestabilitu, plicní hypertenzi, poškození mozku, retinopatii nedonošených, podporuje vznik BPD, somatických a vývojových poruch (Stauda a kol., 2018, s.1-12). A proto je důležité faktorům, které mikrobiom ovlivňují, správně porozumět a ovlivnit s cílem minimalizovat riziko vzniku onemocnění (Healy a kol. 2023, s. 1-8; Young a kol., 2020, s. 12-19).

Mikrobiální dysbióza neovlivňuje pouze aktuální zdravotní stav předčasně narozeného novorozence. Vývoj mikrobiomu v období od novorozeneckého do dětského věku závisí na mnoha faktorech. Během tohoto období se předpokládá, že vzájemné interakce mezi mikroorganismy a imunitním systémem hrají roli v patofyziologii některých onemocnění, které se projevují až v pozdějším věku. Mezi tyto onemocnění patří například diabetes mellitus 1. typu a poruchy imunitního systému (Pammi a kol., 2017, s. 1-14; Stewart a kol., 2018, s. 583-588).

Mozek během posledního trimestru těhotenství a prvního roku života prochází značnými funkčními a vývojovými změnami. Dochází ke gyrifikaci mozku, propojení neuronů čímž vzniká neuronová síť a zvětšení objemu této tkáně. Tyto vývojové změny výrazně ovlivňují následnou funkci mozkové tkáně. Předčasně narození novorozenci nemají dostatečně vyvinutý mozek v porovnání s termínovými novorozenci, což může výrazně ovlivnit tvorbu gyrů, které jsou klíčové pro jeho správnou strukturu a činnost (Stauda a kol., 2018, s.1-12). Osa střevo-mozek zahrnuje komplexní interakce mezi těmito dvěma orgány, která v časném postnatálním období ovlivňuje hormonální regulaci, sympatický, parasympatický a enterický nervový systém, ale také chování a reakci na stres v pozdějším životě (Carlson a kol., 2018, s. 148-159; Stauda a kol., 2018, s. 1-12). Neurologické poruchy, kam řadíme depresi, úzkost a poruchy autistického spektra, jsou častěji diagnostikovány u předčasně narozených dětí, což následně ovlivňuje kvalitu jejich života (Joseph a kol., 2017, s. 1-19; Van Leishout a kol., 2018, s. 596-603).

Je důležité mít na paměti, že osa mozek-střevo na sebe působí vzájemně. Na jednu stranu se diskutuje, že vyšší prevalence bifidobakterií ve střevě má na neurovývojové procesy příznivý vliv (Stauda a kol., 2018, s.1-12). Na druhou stranu se zároveň uvádí, že nadměrný stres a opakované bolestivé podměty, kterým je

předčasně narozený novorozenec často vystaven, ovlivňují střevní mikrobiální prostředí (Cong a kol., 2017, s. 9-16). Jak přesně nedostatečně vyvinutá mozková tkáň ovlivňuje střevní mikrobiotu a naopak, není zatím zcela objasněno a je potřeba dalších zkoumání (Staude a kol., 2018, s.1-12).

2.2.1 Skladba mikrobiomu nezralých novorozenců

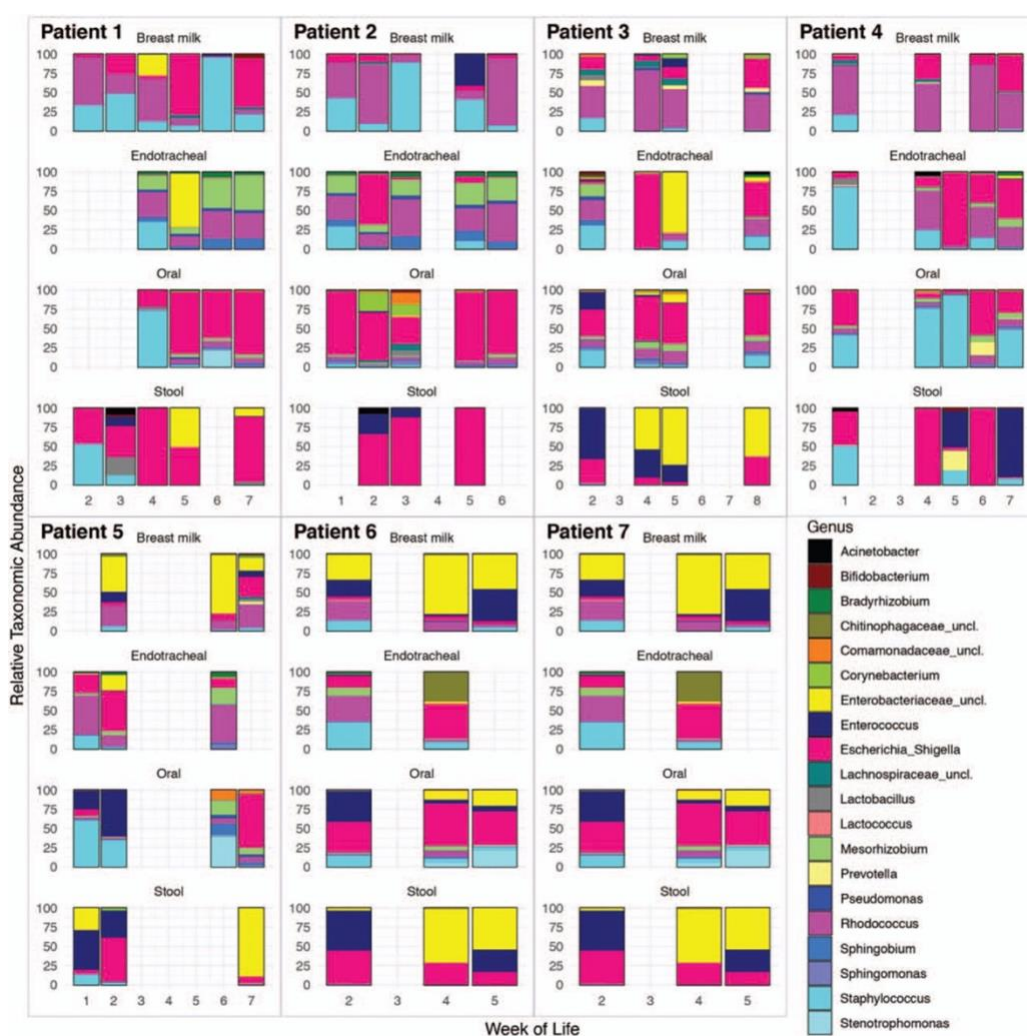
Obecně se uvádí, že střevní mikroflóra nezralých novorozenců postrádá bakteriální rod *Bacteroides* a kmen *Firmicutes* v porovnání s donošenými novorozenci. Ve velkém počtu zde však byla popsána přítomnost *Anaerococcus*, *Aquabacterium*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Oceanobacillus*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Rothia*, *Sarcina*, *Sneathia* a *Streptococcus*. Značnou část střevní mikroflóry zastupují také bakterie *Enterococcus*, *Photorhabdus*, *Tannerella* a *Enterobacter*, které pro své zánětlivé vlastnosti mohou být spojeny s předčasným porodem. I přes podávání MM předčasně narozenému novorozenci v jeho střevní mikrobiotě převažují všeobecně proteobakterie. Snížená bakteriální diverzita a vyšší množství *Proteobacteria* vede ke zvýšené kolonizaci potenciálně patogenních druhů jako jsou *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Citrobacter* spp. a *Klebsiella* spp. (Staude a kol., 2018, s.1-12).

I přes tato data mikrobiom předčasných novorozenců nebyl stále zcela objasněn, a proto se rozhodli Young a kol. (2020, s. 12-19) díky své studii přinést nové poznatky o mikrobiálním osídlení extrémně předčasně narozených novorozenců. Do výzkumu bylo zapojeno celkem 7 předčasně narozených novorozenců, kdy 6 z nich bylo po VP. U dvou novorozenců došlo k propuknutí NEC, u 3 byla zaznamenána pozdní sepse a 3 novorozenci byli bez propuknutí těchto dvou komplikací. Byly analyzovány vzorky odstříkaného MM, orálních a endotracheálních sekretů a stolice. Vzorky byly odebrány několikrát během prvních 6 týdnů života. V průběhu tohoto období byla zaznamenána téměř u všech vzorků obecně rostoucí tendence v alfa diverzitě, která vyjadřuje rozmanitost a množství jednotlivých druhů v daném prostředí. Výjimkou však byly vzorky stolice, kde se mikrobiální rozmanitost během tohoto období spíše snižovala.

Ve všech 4 sledovaných vzorcích byly dominantní 4 bakteriální taxony – *Escherichia*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* a *Enterobacteriaceae*. Ty jsou zodpovědné za pozorovanou homogenizaci mezi vzorky (Young a kol., 2020, s. 12-

19). Moossavi a kol. zjistili, že podávání odstříkaného MM, tím myslí nepřímé kojení, může být spojeno s větším množstvím environmentálních mikrobů, jako jsou Enterobacteriaceae a Enterococcaceae (Moossavi a kol., 2019, s. 324-335). Předčasně narození novorozenci jsou častěji krmeni odstříkaným mateřským mlékem než kojení u prsu, což zřejmě vysvětluje dominanci těchto druhů pozorovaných ve studii (Young a kol., 2020, s. 12-19).

Obrázek 1 - Výskyt nejčastějších bakteriálních taxonů v jednotlivých vzorcích v týdenním měřítku



Pozn.: Graf zobrazuje zastoupení 20 nejpočetnějších bakteriálních rodů ve vzorcích mateřského mléka, endotracheálních sekretů, slin a stolice v průběhu několika týdnů

Převzato z: "Acquisition and Development of the Extremely Preterm Infant Microbiota Across Multiple Anatomical Sites," od G. R. YOUNG, CH. J. VAN DER GAST, D. L. SMITH, J. E. BERRINGTON, N. D.

Na začátku sledovaného období vykazovaly všechny analyzované vzorky obdobnou mikrobiální diverzitu jako stolice. Mezi následujícími dvěma týdny se však mikrobiota začala napříč vzorky lišit. Postupem času se vyšetřované vzorky stolice svou mikrobiotou velmi podobaly předešlým analyzovaným vzorkům tohoto typu. Podobnost mezi prvními dvěma týdny odebrané stolice byla zhruba 13 %, kdežto u pozdějších vzorků byla až 57 %. Stolice celkově ze všech vzorků jevila nejvyšší průměrnou podobnost, což bylo 32 %. Výše zmiňované bakteriální taxony byly jedinými dominantními taxony ve stolici. Orální mikroflóra byla nejvíce podobná mikrobiotě stolice, se kterou byla zjištěná průměrná podobnost 26 %. Se vzorky odebrané z endotracheální kanyly byla shodnost 10 %, s odstříkaným MM pouze 6 %. Mikrobiální složení MM se podobalo složením endotracheálním sekretům. To naznačuje, že endotracheální oblast byla osídlena mikroby z MM. Z toho vyplývá, že různé části lidského těla, které jsou k sobě anatomicky blíže, sdílejí podobné bakteriální komunity (Young a kol., 2020, s. 12-19).

V MM bylo zpozorováno vyšší množství Actinobacteria, konkrétně Nocardiaceae. Rhodococcus, patřící do čeledi Nocardiaceae, je fyziologicky popsán v mikrobiotě horních částí trávicího traktu. Skutečnost, že Rhodococcus ve stolici přítomen nebyl, naznačuje, že tyto bakterie se nedostanou přes některé části trávicího traktu. Rizikový pro ně může být průchod kyselým prostředím žaludku, nebo nedostatečně prokrvené střevo nezralého novorozence. Tento bakteriální rod nebyl běžně popsán jako součást MM, ale spíše se pojí s okolním prostředím. Byl identifikován jako potenciální patogen u osob s oslabeným imunitním systémem, což může zahrnovat také extrémně nezralé novorozence a jejich nedostatečně vyvinutý imunitní systém. Obecně mikrobiota stolice a MM vykazovaly podobnost nejnižší. To může být zapříčiněno právě kyselým prostředím žaludku, které může být jedním z nástrojů selekce bakterií z horních částí trávicího traktu do střeva (Young a kol., 2020, s. 12-19).

Bifidobacteriaceae byly obecně pozorovány ve všech vzorcích v menším množství, nejvíce jich obsahovala stolice. Větší proporcionální zastoupení těchto bakterií ve střevě může být způsobeno podáváním probiotik, které dostávaly všechny děti (Young a kol., 2020, s. 12-19). Bifidobakterie jsou přizpůsobené na kolonizaci

prostředí bohatého na oligosacharidy MM (Pammi a kol., 2017, s. 1-14; Young a kol., 2020, s. 12-19). Kromě toho jsou také přizpůsobeny na osídlení hypoxického novorozeneckého střeva a jsou schopny v těchto ztížených podmínkách růst a přežít (Young a kol., 2020, s. 12-19). Spolu s laktobacily modifikují střevní mikrobiom (Pammi a kol., 2017, s. 1-14).

S postupem času se schopnost mikrobioty reagovat a přizpůsobovat se novým podmínkám či vlivům prostředí snižovala. V raném novorozeneckém období byla mikroflóra flexibilnější, více náchylná k rychlému ovlivnění. Toto tvrzení je důležité pro správné načasování intervencí, které mají mikrobiom ovlivnit. Pokud chceme mikrobiální osídlení novorozence ovlivnit, musíme brát v úvahu také časový rámec. Nejvyššího ovlivnění dosáhneme pravděpodobně v časném novorozeneckém období (Young a kol., 2020, s. 12-19).

Mikrobiální osídlení dýchacích cest nezralých novorozenců silně souvisí s bakteriální kolonizací plodové vody. Snižovaná bakteriální diverzita při narození a časná kolonizace průdušnice rodem *Ureaplasma* u novorozenců na UPV zvyšuje riziko vzniku BPD (Stauda a kol., 2018, s.1-12).

Kožní mikrobiota

Mikrobiota pokožky je zpočátku vývoje primitivní, po porodu přichází kůže do kontaktu s řadou mikroorganismů, kteří ji osídlí (Pammi a kol., 2017, s. 1-14). Při narození tuto mikroflóru ovlivňuje zejména způsob porodu. Později hraje významnou roli také řada dalších faktorů jako jsou specifika nezralé novorozenecké pokožky, vývoj imunitního systému, expozice antibiotikům, klockánkování a prostředí neonatální JIRP (Pammi a kol., 2017, s. 1-14; Shah a kol., 2022, s. 1-7). Rozvoj a zrání kožního mikrobiomu v novorozeneckém období, zejména u předčasně narozených dětí, může být klíčový v prevenci kolonizace patogenními mikroorganismy. Tyto patogeny mohou být potenciálním zdrojem sepse. Nezralost a absence stabilního mikrobiomu mohou predisponovat ke kolonizaci novorozenecké pokožky patogeny (Pammi a kol., 2017, s. 1-14).

Pammi a kol. se ve své studii věnovali mikrobiálnímu osídlení pokožky novorozenců pod 1500 g a 32. týdnem gestace. Byly analyzovány kožní stěry z oblasti kubity, čela a hýždí. Odběr vzorků proběhl v období prvních 48 hodin života a poté jednou týdně po dobu 4 týdnů. Mezi prvním a druhým týdnem života nastal pokles v množství druhů bakterií přítomných zejména ve vzorcích stěrů z kubity a gluteální

oblasti. V dalších týdnech došlo naopak k rychlému nárůstu. Nicméně, nebyly nalezeny statisticky významné údaje o tom, že by se diverzita bakteriálních komunit na jednotlivých částech lidského těla významně lišila. Ve všech vzorcích dominoval na prvním místě kmen Firmicutes, dále byly definovány kmene Bacteroidetes s Proteobacteria. Na úrovni rodů převládal na prvním místě Staphylococcus z kmenu Firmicutes. Staphylococcus epidermidis brání patogenní kolonizaci Staphylococcus aureus, bakteriální rod Staphylococcus tak může podporovat rozvoj imunitních vlastností pokožky. Z kmene Bacteroidetes dominoval rod Prevotella a rod Corynebacterium z kmene Actinobacteria (Pammi a kol., 2017, s. 1-14).

Expozice antibiotikům byla negativně spojena s rozmanitostí kožní mikroflóry. Po podání antibiotické terapie došlo ke snížení četnosti kmene Firmicutes a nárůstu kmenů Bacteroidetes a Proteobacteria. Mezi druhem a způsobem podávané stravy novorozenci (MM, ŽM, UM a totální parenterální výživa) a mikrobiotou pokožky předčasně narozeného novorozence ve stanoveném výzkumném období nebyla nalezena statisticky významná souvislost. Obdobně nebyla nalezena významná spojitost ve skladbě kožní mikrobioty a způsobem porodu. Dle jiných studií způsob porodu kožní mikroflóru novorozence ovlivňuje, zde byly rozdíly pravděpodobně ovlivněny vlivem okolního prostředí a charakteristickými rysy nezralé novorozenecké pokožky. Závěr této studie odkazuje na využití zjištěných dat k potřebě rozvoje dalších intervencí, které by mohly zabránit kolonizaci novorozence patogenní organismy a následné sepsi (Pammi a kol., 2017, s. 1-14).

Shah a kol. v Indii zjistili nové poznatky o kolonizaci pokožky nezralého novorozence, konkrétně pod 32. gestačním týdnem. Odebrali vzorky od 30 novorozenců z oblasti axily, hrudníku, břicha a třísla pomocí jednoho sterilního tampónu ve dvou časových obdobích. Nejprve během 5. až 10. dne života a poté po minimálně 7 dnech optimálního klokánkování s rodiči po dobu alespoň 6 hodin denně (Shah a kol., 2022, s. 1-7). Klokánkování patří mezi nejúčinnější intervence pro snížení morbidity a mortality novorozenců s nízkou porodní váhou. Podporuje jednak citovou vazbu mezi rodiči a dítětem, ale také kojení, schopnost novorozence udržet si stabilní teplotu a zlepšuje jeho vývoj (Ciochetto a kol., 2023, s. 1-8).

Bylo prokázáno, že během procesu klokánkování dochází k přenosu zdravé mikroflóry od matky, která nahrazuje patogenní organismy kolonizující novorozence. Mezi nejčastěji detekované bakteriální kmene patřily Actinobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes a Tenericutes. V jejich výzkumném šetření byl popsán také

bakteriální rod *Mycobacterium*, konkrétně *Mycobacterium tuberculosis* a *Mycobacterium abscessus*, jako součást kožní mikroflóry předčasně narozených novorozenců. Přítomnost tohoto rodu nebyla v předchozích studiích na pokožce nezralého novorozence identifikována. V prvním odebraném vzorku byly identifikovány *Mycobacterium tuberculosis* v 83 % případech a *Mycobacterium abscessus* ve všech případech. Po kлокánkování byl *Mycobacterium tuberculosis* přítomen v 66 % vzorcích, *Mycobacterium abscessus* v 93 % analyzovaných stěrů. Žádný z novorozenců neměl příznaky tuberkulózy a všechny matky kontakt s tímto onemocněním popřely. Z této studie vyplývá, že přítomnost těchto bakterií u velmi zranitelné skupiny předčasně narozených novorozenců, jež jsou vysoce náchylní k četným infekčním chorobám, je alarmující vzhledem k riziku propuknutí tuberkulózy již v brzkém poporodním období (Shah a kol., 2022, s. 1-7).

2.3 Vliv perinatálních faktorů na mikrobiom nezralého novorozence

2.3.1 Způsob porodu

Někteří odborníci uvádí, že u předčasně narozených novorozenců nemá způsob porodu významný vliv na střevní mikrobiotu v porovnání s termínovými novorozenci. Tuto skutečnost vysvětlují tak, že střevní mikroflóra nezralých dětí vykazuje ve své podstatě odlišný vzorec než mikrobiota donošených novorozenců (Staude a kol., 2018, s.1-12).

Heida a kol. zkoumali vývoj střevní mikroflóry na skupině 41 předčasně narozených novorozenců, jejichž gestační věk se pohyboval v rozmezí od 25. do 30. týdne gestace. Děti narozené pomocí SC měly průměrně vyšší gestační věk než novorozenci po VP. Zatímco VP byl spojen zejména s intrauterinní infekcí, předčasnou rupturou plodových obalů a inkompetencí děložního hrdla, 22 ze 27 SC bylo provedeno z důvodů placentární insuficience. Analyzovány byly 4 vzorky stolice novorozence během prvního měsíce života. Největší rozdíly v mikrobiálních profilech stolice těchto dvou skupin novorozenců byly identifikovány během prvních 3 týdnů života. Množství bakteriálního rodu *Staphylococcus*, jež je typicky přítomen na kůži, byl výrazně vyšší u dětí po SC. U druhé skupiny novorozenců bylo zaznamenáno vyšší množství rodů *Escherichia* a *Bacteroides*. Ve 4. týdnu života se snížily rozdíly mezi novorozenci obou skupin rozdělených na základě způsobu porodu a hlavním indikátorem byla aktuální hmotnost novorozence. U novorozenců nad 1100 g dominovala ve vzorcích čeled'

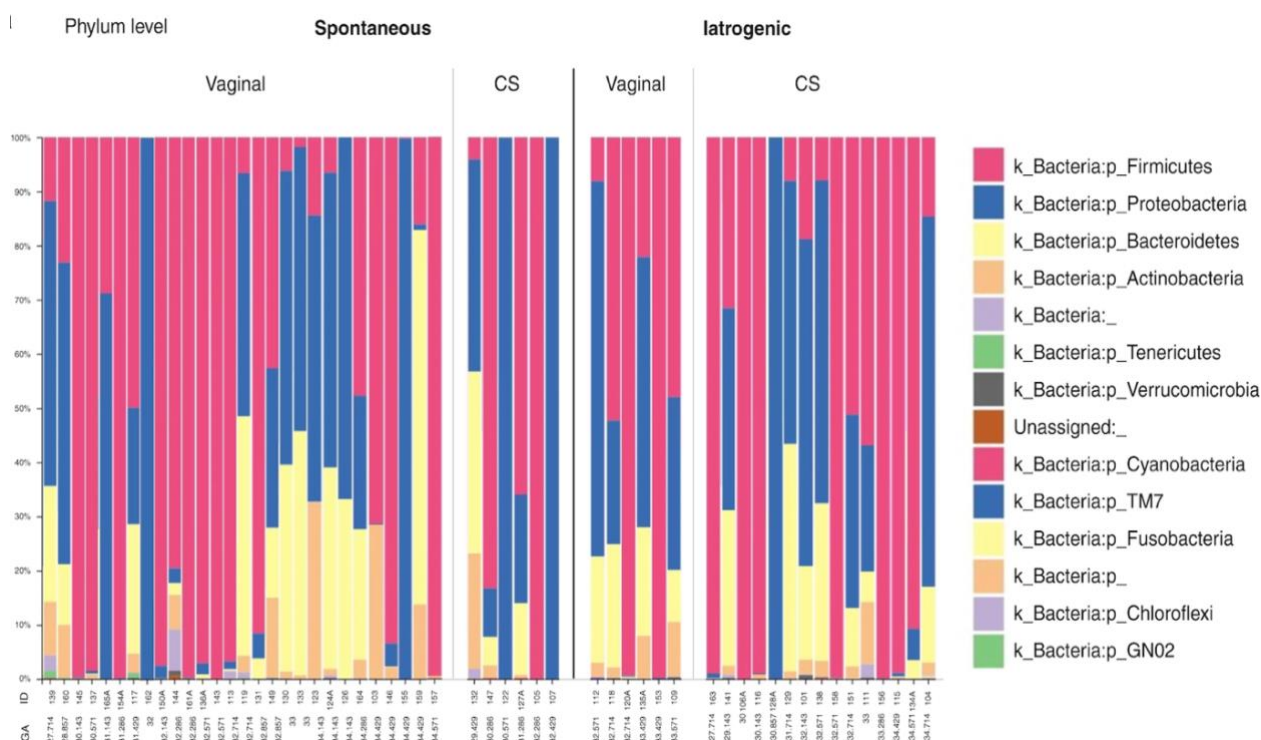
Enterobacteriaceae. Souvislost mikrobiálního profilu s hmotností novorozence byla zkoumána také v předchozích týdnech, kdy ve druhém týdnu života stolice novorozenců s porodní hmotností ≥ 860 g vykazovala signifikantně méně stafylokoků. Tato souvislost však byla vyhodnocena jako nepřímá, protože novorozenci po SC měli ve vztahu s nejčastější indikací k jeho provedení nižší průměrnou porodní hmotnost a byli častěji kolonizováni rodem *Staphylococcus* během porodu. Studie prokazuje myšlenku, že způsob porodu má významný, ale přechodný vliv na složení střevní mikrobioty předčasně narozených novorozenců (Heida a kol., 2021, s. 1-12).

Hill a kol. (2017, s. 1-18) se ve své studii rovněž zabývali tímto tématem. Nutno poznamenat, že skupinu nezralých novorozenců po SC tvořil mnohem větší soubor dětí než skupinu novorozenců po VP. Tento nepoměr mezi zkoumanými subjekty byl způsoben nedostatečným množstvím vaginálních porodů novorozenců, jež by splňovali vstupní kritéria pro zařazení do výzkumu, což byla hmotnost pod 1500 g či GA pod 35. týden, během výzkumného období v daném zařízení. V prvním týdnu života u obou skupin zastával první místo v množství bakterií kmen *Proteobacteria*, druhé *Firmicutes*. I přes to, že kmen *Proteobacteria* dominoval u obou skupin, u novorozenců po VP byla relativní četnost tohoto kmene vyšší. Na úrovni rodů u dětí po SC bylo identifikováno vyšší množství *Escherichia* a *Clostridium sensu stricto*, u druhé skupiny vyšší četnost zastávaly rody *Enterobacter* a *Haemophilus*. Během prvního měsíce života došlo u novorozenců po SC k prudkému nárůstu *Bifidobacterium*, u druhé skupiny novorozenců se tento nárůst projevil až v následujícím měsíci života. Na konci sledovaného období, tedy ve 24. týdnu života, novorozenci po VP vykazovali mírně vyšší množství *Bifidobacterium* a několikanásobně vyšší hojnost rodu *Bacteroides*. U dětí po SC bylo zaznamenáno více bakterií rodu *Blautia* a *Clostridium XIVa* v porovnání s druhou skupinou. Množství dominantních rodů v prvním týdnu studie, tedy *Escherichia*, *Clostridium sensu stricto*, *Enterobacter* a *Haemophilus*, se postupně snížilo. V závěru pozorování na úrovni rodů u novorozenců po VP dominovaly *Bifidobacterium* a *Bacteroides*, u druhé výzkumné skupiny to byl zejména rod *Bifidobacterium*. Na úrovni kmenů u dětí po SC dominovaly *Actinobacteria* spolu s *Firmicutes*, u druhé skupiny se k nim navíc přidal kmen *Bacteroidetes*.

Hiltunen a kol. (2022, s. 1804-1811) popisují, že předčasně narození novorozenci po spontánním VP vykazovali odlišnou počáteční beta diverzitu v porovnání s nezralými novorozenci po SC. Nicméně, kromě této skutečnosti

prosazují myšlenku, že gestační věk či způsob porodu na složení střevní mikroflóry nezralého novorozence vliv neměl. Přenos střevních mikrobů matky na novorozence je totiž dán spontánním předčasným porodem jako takovým, nikoli způsobem porodu. Autoři vycházeli z předchozích publikací, které naznačují, že složení střevní mikroflóry matky může být také spojeno se zvýšeným rizikem předčasného porodu. Na základě toho se rozhodli kromě střevní mikrobioty novorozenců zkoumat také mikrobiální střevní osídlení matky. Do výzkumného šetření bylo zahrnuto 55 předčasně narozených novorozenců a 51 matek. Pro srovnání byly odebrány vzorky stolice od 25 termínových novorozenců. Kromě toho zkoumali také další faktory, jež by mohly s odlišnou střevní mikrobiální kolonizací souviset, jako jsou gestační věk, pohlaví, antibiotická terapie, porodní hmotnost, doba zahájení krmení a druh podávané enterální stravy.

Obrázek 2 – Porovnání střevní mikrobioty nezralých novorozenců na základě způsobu porodu



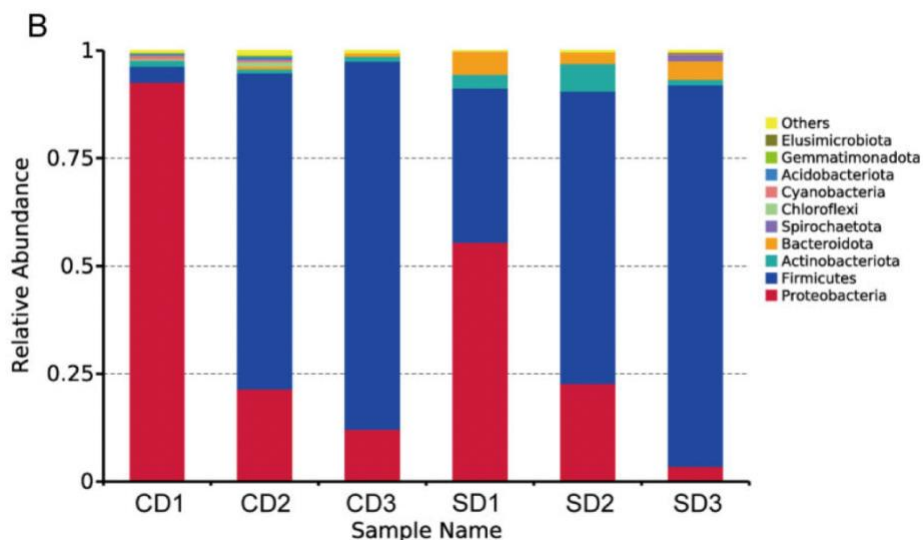
Pozn.: Graf zobrazuje skladbu střevní mikrobioty nezralých novorozenců po spontánním a vyvolaném předčasném porodu během prvních 3-4 dnů života. V rámci každé skupiny jsou děti rozděleny na dvě podskupiny: Vaginal – přirozený porod, CS – císařský řez. Bakteriální osídlení je popsáno na úrovni kmenů.

Převzato z: "Spontaneous preterm delivery is reflected in both early neonatal and maternal gut microbiota," od H. HILTUNEN, M. C. COLLADO, H. OLLILA, T. KOLARI, S. TÖLKKÖ, E. ISOLAURI, S. SALMINEN a S. RAUTAVA, 2022. *Pediatric Research*, 91, s. 1807 (<https://doi.org/10.1038/s41390-021-01663-8>)

Faktory jako gestační věk, způsob porodu, intrapartální expozice antibiotikům a IUGR neovlivnily počáteční složení střevní mikroflóry novorozence. U novorozenců po VP či SC nebyly zaznamenány významné rozdíly v relativním množství specifických taxonů na úrovni kmene, čeledi či rodů. U předčasně narozených dětí obecně dominoval kmen Firmicutes, následoval Proteobacteria a Bacteroidetes. Z čeledí to byly Planococcaceae, Lactobacillaceae a Enterobacteriaceae. Mezi skupinami novorozenců po spontánním a iatrogenním předčasném porodu nebyly pozorovány rozdíly v bakteriálních taxonech, ale byly identifikovány rozdíly ve shlukování bakterií ze střevního prostředí. Byly zaznamenány změny ve střevní mikroflóře matky, které vypovídají o její souvislosti s předčasným spontánním porodem. Skupina matek po spontánním předčasném porodu vykazovala signifikantní rozdíly ve srovnání s matkami, které porodily předčasně na základě lékařské indikace. Míra podobnosti střevní mikroflóry matky s mikrobiální skladbou střevního prostředí novorozence byla vyšší u spontánních předčasných porodů, než u iatrogenně vyvolaných. Na základě této skutečnosti lze předpokládat, že k počátečnímu přenosu mikroorganismů z matky na novorozence dochází již in utero. (Hiltunen a kol., 2022, s. 1804-1811).

Xiu a kol. (2022, s. 1-8) zkoumali vliv perinatálních faktorů na střevní mikroflóru novorozenců narozených před 32. gestačním týdnem. Zabývali se zejména dopadem antibiotické terapie, druhem podávané enterální výživy a způsobem porodu na střevní mikrobiální osídlení novorozence během prvních tří týdnů života. Dle způsobu porodu byli novorozenci při studii této proměnné rozděleni do dvou skupiny – VP a SC.

Obrázek 3 – Porovnání střevní mikroflóry nezralých novorozenců dle způsobu porodu na úrovni kmenů

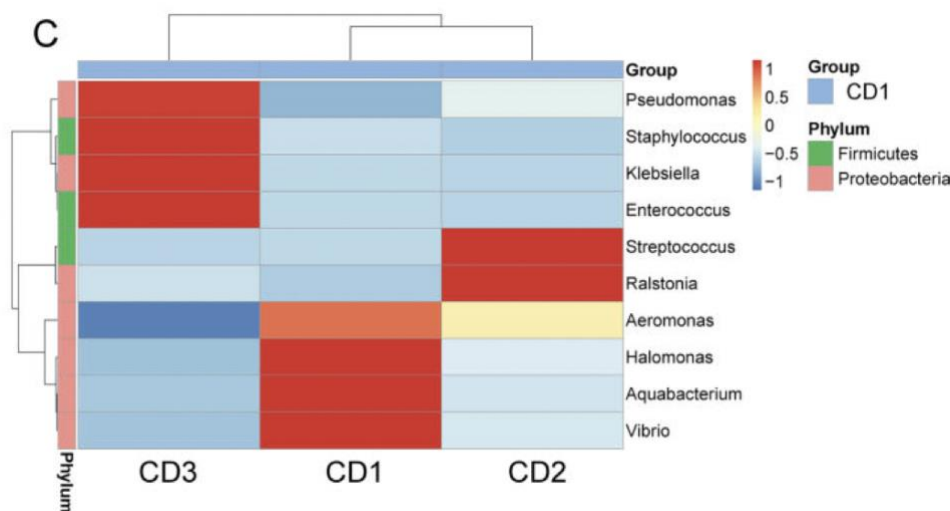


Pozn.: Graf zobrazuje složení střevní mikroflóry nezralých novorozenců dle způsobu porodu na úrovni kmenů během 3 týdnů života. Zkratky označují způsob porodu a týden života novorozence: CD x – císařský řez a týden života, SD x – spontánní porod a týden života

Převzato z: “Assessing multiple factors affecting the gut microbiome structure of very preterm infants,” od W. XIU, J.LIN, Y. HU, H. TANG, S. WU a CH. YANG, 2023, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 56, s. 3, (<https://doi.org/10.1590/1414-431X2023e13186>)

Na úrovni kmenů byly zpočátku zjištěny značné odlišnosti, které se během zkoumaného období minimalizovaly. U obou skupin bylo detekováno 10 bakteriálních kmenů a převažovaly Proteobacteria s Firmicutes. V prvním týdnu života byl kmen Proteobacteria u skupiny po SC zjištěn ve výrazně vyšší míře (téměř 93 % z celkového množství) ve srovnání s druhou skupinou (55,5 %). Četnost proteobakterií měla obecně tendenci klesat v dalších týdnech života u obou skupin. U skupiny po VP v prvním týdnu bylo detekováno vyšší množství kmene Firmicutes (téměř 36 %) v porovnání s druhou skupinou (3,65 %). Zatímco se množství kmene Proteobacteria postupně snižovalo, četnost Firmicutes se zvyšovala a tento kmen se tak stal dominantním u obou skupin. Ve třetím týdnu života zastával více než 80 % z celkového počtu. Ostatní kmeny po celou dobu tvořily méně než 10 % komunity (Xiu a kol., 2023, s. 1-8).

Obrázek 4 – Zobrazení střevní mikroflóry nezralých novorozenců po SC

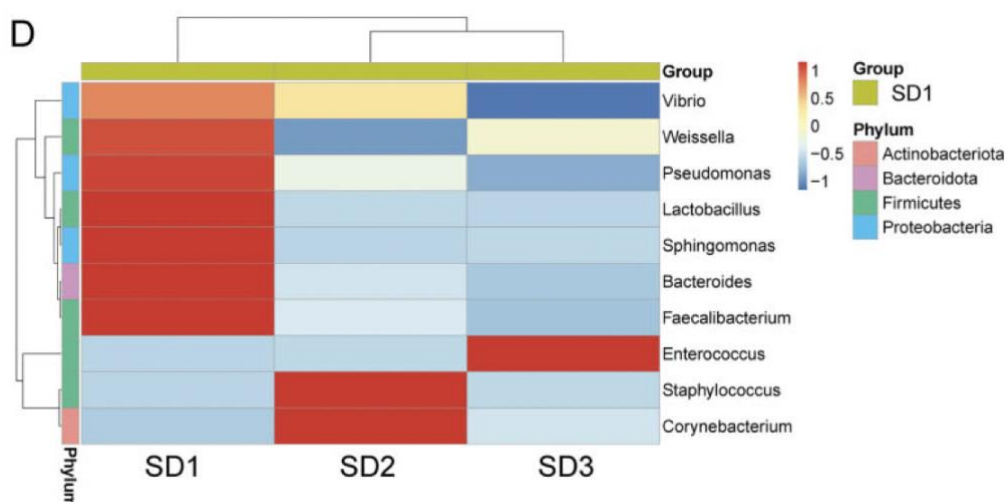


Pozn.: Grafické znázornění předkládá údaje o složení střevní mikroflóry nezralých novorozenců po SC během prvních 3 týdnů života na úrovni rodů. Zkratky označují způsob porodu a týden života: CD x – císařský řez a týden života novorozence

Převzato z: “Assessing multiple factors affecting the gut microbiome structure of very preterm infants,” od W. XIU, J.LIN, Y. HU, H. TANG, S. WU a CH. YANG, 2023, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 56, s. 3, (<https://doi.org/10.1590/1414-431X2023e13186>)

Rozdíly mezi skupinami byly přítomny také na úrovni rodů. U nezralých dětí po SC v prvním týdnu života dominovaly rody *Vibrio*, *Aquabacterium*, *Halomonas*, *Aeromonas*, v druhém *Ralstonia* a *Streptococcus* a ve třetím *Enterococcus* spolu s *Pseudomonas*, *Staphylococcus* a *Klebsiella*. Všechny rody převládající v posledním týdnu byly potenciálně patogenní. Nižší hladina zdravích prospěšných bakterií, jako jsou *Bacteroides* a *Lactobacillus*, v souvislosti s vyšším výskytem patogenních bakteriálních rodů vede ke zvýšenému riziku vzniku neonatálních komplikací jako jsou NEC, pozdní sepse a BPD (Xiu a kol., 2023, s. 1-8).

Obrázek 5 – Zobrazení střevní mikroflóry nezralých novorozenců po VP



Pozn.: Grafické znázornění předkládá údaje o složení střevní mikroflóry nezralých novorozenců po VP během prvních 3 týdnů života na úrovni rodů. Zkratky označují způsob porodu a týden života: SD x – vaginální porod a týden života novorozence

Převzato z: “Assessing multiple factors affecting the gut microbiome structure of very preterm infants,” od W. XIU, J.LIN, Y. HU, H. TANG, S. WU a CH. YANG, 2023, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 56, s. 3, (<https://doi.org/10.1590/1414-431X2023e13186>)

U nezralých dětí po VP v prvním týdnu života byly rody více různorodé a převažovaly *Faecalibacterium*, *Bacteroides*, *Sphingomonas*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas* a *Weissella*. Ve druhém týdnu se do popředí dostaly *Corynebacterium* a *Staphylococcus*, ve třetím týdnu se stal dominantním rodem *Enterococcus*, stejně jako u předchozí skupiny. Rod *Bacteroides* byl po celou dobu velmi nízký u skupiny dětí po SC v porovnání s dětmi po VP (Xiu a kol., 2023, s. 1-8). Tento rod však zastává neopomenutelnou roli v lidském zdraví, účastní se glykolýzy, imunitního vývoje střevní sliznice a syntézy vitamínů (Wexler a Goodman, 2017, s. 1-24). Jiná studie ukazuje, že snížený relativní výskyt tohoto rodu souvisí s dětskou obezitou (Zhang a Dang, 2022, s. 1-13). Rod *Lactobacillus*, jež má prospěšné účinky v souvislosti s regulací střevního prostředí, byl přítomen pouze u skupiny novorozenců po VP (Xiu a kol., 2023, s. 1-8).

Wandro a kol. ve své studii identifikují přítomnost bakteriálního rodu *Bacteroides* pouze u nezralých novorozenců po VP. U této skupiny dětí byl daný rod přítomen ve 4 z 9 případů. Žádný předčasně narozený novorozenec po SC tímto rodem kolonizován nebyl (Wandro a kol., 2018, s. 1-12). Také Chernikova a kol. (2018,

s. 71-79) popisují vyšší výskyt tohoto rodu u skupiny nezralých novorozenců po VP v porovnání se skupinou dětí po SC.

2.3.2 Druh podávané stravy

Mikrobiální kolonizaci předčasně narozených novorozenců ovlivňuje nejen gestační věk, antibiotická terapie a způsob porodu, ale také druh podávané stravy (Parra-Llorca a kol., 2018, s. 1-10). Mateřské mléko obsahuje komplexní komunitu bakterií, jež následně kolonizují střevní prostřední a napomáhají tak vývoji střevní mikroflóry kojenců (Moossavi a kol., 2019, s. 324-335). I v kolostru odebraném ještě před prvním kojením novorozence lze detekovat mikrobiální společenstva (Damaceno a kol., 2017, s. 371-379). V otázce, jak dochází k tvorbě mikrobioty MM, se vychází zejména ze dvou hlavních teorií. V první je předmětem myšlenky enteromamární translokace mateřské střevní mikrobioty, v druhé se diskutuje o souvislosti s orální mikrobiotou dítěte, která retrogradně kolonizuje prs matky a tím MM. Mikroflóru mateřského mléka dále ovlivňují obecně faktory, jež mají vliv na střevní mikroflóru (obezita, způsob stravování, doplňky stravy), ale také způsob podávání mléka, tedy zda je dítě kojeno nebo je mu podáno odsáté MM, což může ovlivnit translokaci orální mikrobioty dítěte. Také fáze laktace a mléčné složky, jako jsou oligosacharidy mateřského mléka, mastné kyseliny, hormony a imunitní buňky, by mohly mít vliv na složení mikrobiálního profilu MM (Moossavi a kol., 2019, s. 324-335).

MM je považováno za zlatý standard výživy nejen předčasně narozeného novorozence. Má příznivý vliv na jeho zdravotní stav, kdy souvisí se snížením rizika NEC a pozdní sepse, dále zlepšuje jeho somatický a kognitivní vývoj (Parra-Llorca a kol., 2018, s. 1-10; Staude a kol., 2018, s. 1-12). Podporuje tvorbu střevní mikrobioty kojence a pokud je tento proces v útlém věku narušen, může dojít k dysbióze, která je predispozicí k řadě chronickým onemocněním, jako je astma bronchiale, alergie a obezita (Moossavi a kol., 2019, s. 324-335).

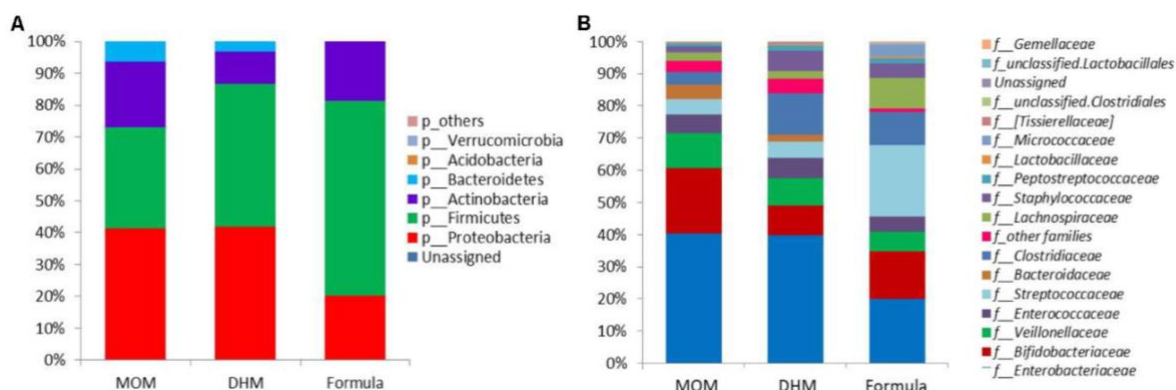
MM a raný vývoj střevní mikroflóry ovlivňují riziko vzniku NEC u předčasně narozených dětí. Oligosacharidy MM jsou komplexní nekonjugované cukry, mají složitou a rozmanitou strukturu, což je důvod, proč je složité je nahradit v umělých formulích (Masi a kol., 2021, s. 2273-2282). Jsou pro kojence nestravitelné, neporušené se dostávají do dolních částí trávicího traktu a zde působí jako prebiotika pro specifické bakterie, zejména *Bifidobacterium*. Tyto bakterie jsou považované za

klíčové pro zdraví novorozence (Gotoh a kol., 2018, s. 1-14; Masi a kol. 2021, s. 2273-2282). Střevní mikroflóra bohatá na bifidobakterie koreluje se sníženým výskytem průjmů, alergií a atopické dermatitidy. Dále snižuje hladinu cholesterolu, zvyšuje dostupnost folátů ve střevě a může podporovat protinádorovou imunitu. Tvorba mikrobiotického prostředí bohatého na bifidobakterie je považováno za klíčové pro zajištění celoživotně zdravého střevního prostředí (Gotoh a kol., 2018, s. 1-14). Oligosacharidy v MM pravděpodobně souvisí s jeho ochrannou funkcí (Masi a kol., 2021, s. 2273-2282). Díky své antimikrobiální aktivitě mohou poskytovat ochranu před infekcí krevního řečiště způsobenou střevními mikroby a zvyšovat funkci střeva chránit organismus před nepříznivými látkami či mikroorganismy (Ackerman a kol., 2017, s. 595-605; Wu a kol., 2019, s. neuvedeno). Kromě toho oligosacharidy stimulují imunitní systém a tvoří struktury, jež napodobují skutečné receptory, ale neplní jejich funkce, a jsou tak návnadou pro patogeny, které se při kontaktu s těmito nepravými receptory mohou pokusit na ně navázat (Masi a kol., 2021, s. 2273-2282).

V případě nedostatečného množství MM se jeví darované ŽM jako nejvhodnější alternativa. Parra-Llorca a kol. porovnali ve své studii vliv MM, ŽM a UM na střevní mikroflóru předčasně narozených novorozenců. Druh mléka významně ovlivnil složení intestinální mikrobioty, ale rozdíl v mikrobiální diverzitě a celkovém množství mikroorganismů zaznamenán nebyl (Parra-Llorca a kol., 2018, s. 1-10).

Ze zjištěných údajů vyplývá, že skupina novorozenců kmených MM vykazovala na úrovni kmenů vyšší relativní četnost Actinobacteria a nižší Firmicutes, na úrovni čeledí vyšší množství Bifidobacteriaceae a nižší Clostridiaceae, na úrovni rodů vyšší četnost Bifidobacterium a nižší hladinu rodu Citrobacter a dalších neklasifikovaných rodů z čeledí Clostridiaceae a Enterobacteriaceae v porovnání se skupinou dětí, kterým bylo podáváno darované ŽM. Obě tyto skupiny vykazovaly vyšší množství Enterobacterales v porovnání s mikrobiálním profilem třetí skupiny (Parra-Llorca a kol., 2018, s. 1-10).

Obrázek 6 – Porovnání střevní mikrobioty na základě druhu podávané stravy předčasně narozenému novorozenci



Pozn.: Graf zobrazuje skladbu mikrobiálního osídlení střev nezralého novorozence na základě druhu podávaného mléka na úrovni kmenů (A) a rodů (B). Odběr stolice proběhl při dosažení plného enterálního příjmu. Zkratky představují převládající (alespoň 80 % z celkového množství podaného mléka) druh podávaného mléka novorozenci. MOM – mateřské mléko, DHM – pasterizované darované ženské mléko, Formula – Umělá mléčná výživa

Převzato z: "Preterm Gut Microbiome Depending on Feeding Type: Significance of Donor Human Milk," od A. PARRA-LLORCA, M. GORMAZ, C. ALCÁNTARA, M. CERNADA, A. NUÑEZ-RAMIRO, M. VENTO a M.C. COLLADO, 2018, *Frontiers in Microbiology*, 9, s. 4, (<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01376>)

U novorozenců, kterým bylo podáváno UM, bylo zaznamenáno vyšší množství kmenu Firmicutes a rodů *Blautia*, *Streptococcus*, *Acidaminococcus*, *Rothia* a *Dorea* ve srovnání s oběma dalšími skupinami. Byly pozorovány také některé rody, které se nevyskytovaly napříč kategoriemi dle druhu podávané stravy. *Acinetobacter* byl přítomen výhradně ve skupině dětí krmených MM, *Coprococcus* u novorozenců s ŽM a neklasifikovaný rod *Peptostreptococcaceae* u skupiny s UM (Parra-Llorca a kol., 2018, s. 1-10).

Bylo tedy prokázáno, že druh podávané výživy předčasně narozenému novorozenci má významný vliv na složení střevní mikroflóry. U nezralých novorozenců krmených MM v porovnání s dětmi, kterým bylo podáváno ŽM, bylo značně vyšší množství *Bifidobacteriaceae*, *Actinobacteria* a nižší výskyt *Staphylococcaceae*, *Clostridiaceae* a *Pasteurellaceae*. Sice byly detekovány rozdíly mezi střevním mikrobiálním prostředím po podávání MM a ŽM, ale další data dokazují, že darované

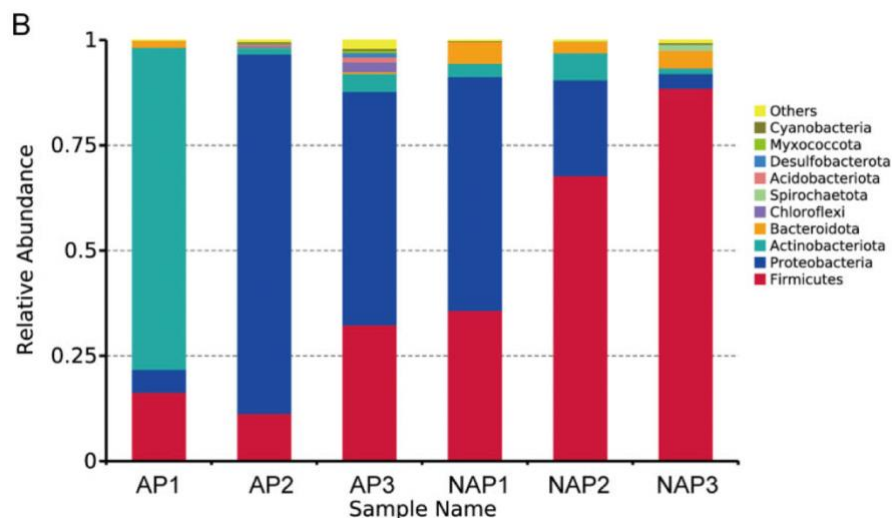
ŽM podporuje tvorbu fyziologického střevního mikrobiomu více než UM (Parra-Llorca a kol., 2018, s. 1-10).

2.3.3 Antibiotická terapie

Kromě řady dalších faktorů je střevní mikrobiální prostředí nezralého novorozence citlivé na užívání léků, zejména antibiotik (Xiu a kol., 2023, s. 1-8). Léčba antibiotiky sice rapidně snížila novorozeneckou úmrtnost, její dopad na střevní mikroflóru a s tím související další zdravotní důsledky nebyly zatím zcela pochopeny. Děti s porodní hmotností pod 1000 g představují skupinu s nejvyšší antibiotickou expozicí v rámci dětí ve věku do 24 měsíců. Alespoň jeden cyklus antibiotické terapie dostává až 85 % novorozenců s ELBW (Wandro a kol., 2018, s. 1-12). Nitroděložní infekce jsou často příčinou předčasného porodu. Mnoho nezralých dětí se rodí už s podezřením na infekci a jsou léčeny antibiotiky od narození. Mezi typické patogeny způsobující sepsi předčasně narozených dětí patří *Escherichia coli* a streptokoky skupiny B (Zwittink a kol., 2018, s. 475-483). V dřívějších studiích bylo prokázáno, že prenatální i postnatální expozice antibiotikům snižuje rozmanitost střevní mikroflóry novorozenců (Wandro a kol., 2018, s. 1-12). Předchozí výzkumy také ukázaly, že krátkodobé i dlouhodobé změny střevní mikrobioty způsobené antibiotickou terapií v raném věku zvyšují náchylnost ke vzniku onemocnění spojených s poruchou imunitního systému, jako jsou alergie a astma. Kromě toho časné podávání antibiotik zvyšuje antibiotickou rezistenci (Zwittink a kol., 2018, s. 475-483). Dlouhodobá antibiotická terapie zvyšuje riziko vzniku NEC (Esaiassen a kol., 2018, s. 1-16).

Xiu a kol. (2023, s. 1-8) se ve svém výzkumném šetření zaměřili na prenatální expozici antibiotikům, kdy byly tyto léky podány matce v průběhu těhotenství. Podle toho, zda matky užívaly v průběhu gestace antibiotika, byli novorozenci rozděleni na dvě skupiny. Pomocí analýzy vzorků jejich stolice následně porovnali střevní mikrobiotu napříč skupinami.

Obrázek 7 – Porovnání střevní mikroflóry nezralých novorozenců podle expozice antibiotikům během jejich intrauterinního vývoje



Pozn.: Graf představuje dvě skupiny nezralých novorozenců. AP – skupina novorozenců vystavená antibiotikům během nitroděložního vývoje (matka prenatalně užívala antibiotika), NAP – skupina novorozenců nevystavená antibiotikům během nitroděložního vývoje (matka prenatalně neužívala antibiotika). Číselné označení za zkratkou udává týden života novorozence během odběru vyšetřovaného vzorku. Na obrázku je grafické znázornění jejich střevní mikroflóry na úrovni kmenů během prvních 3 týdnů života.

Převzato z: “Assessing multiple factors affecting the gut microbiome structure of very preterm infants,” od W. XIU, J.LIN, Y. HU, H. TANG, S. WU a CH. YANG, 2023, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 56, s. 4, (<https://doi.org/10.1590/1414-431X2023e13186>)

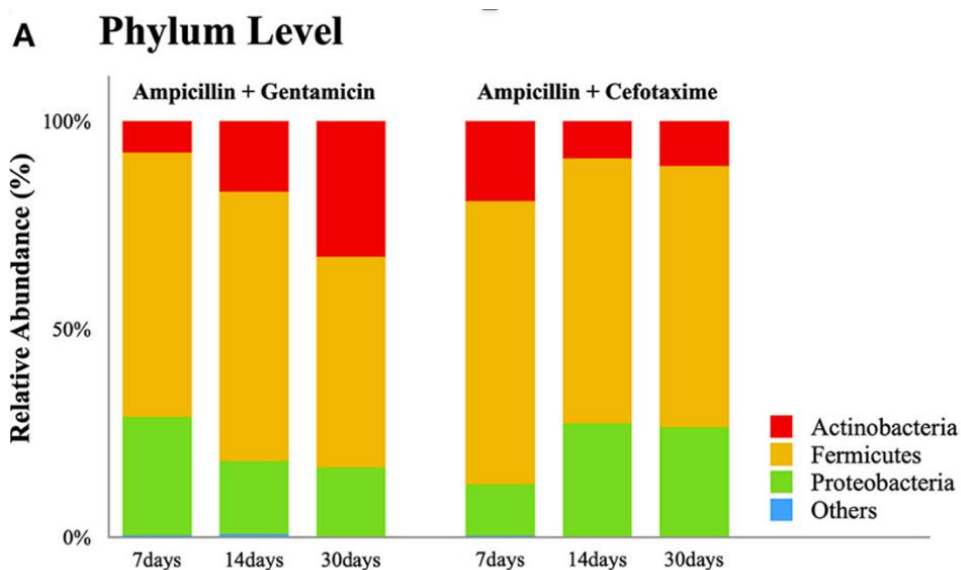
U skupiny novorozenců, jež byli během těhotenství vystaveni antibiotické terapii, dominoval v prvním týdnu života kmen Actinobacteria, který během následujícího týdne prudce klesl. V druhém týdnu se tak nejhojnějším kmenem stal Proteobacteria, který převažoval i v následujících 7 dnech (Xiu a kol., 2023, s. 1-8). Nedávná studie Lee a kol. poukazuje na možnou souvislost mezi vyšším množstvím bakterií kmene Proteobacteria a vznikem NEC (Lee a kol., 2020, s. 1-18). U druhé skupiny, tedy dětí, jejichž matky během gestace neužívaly antibiotické preparáty, během prvních 7 dnů života silně převládal kmen Proteobacteria. V průběhu dalších týdnů se jeho množství snížilo a byl nahrazen kmenem Firmicutes. Ve třetím týdnu života tento kmen zastával téměř 88 % celkového množství bakterií v komunitě (Xiu a kol., 2023, s. 1-8).

Dle získaných dat bylo rozložení bakteriálních rodů v rámci jednotlivých skupin nerovnoměrné. U skupiny dětí, jež byly vystaveny antibiotikům během svého intrauterinního vývoje, byly převládajícími rody *Vibrio*, *Gardnerella*, *Streptococcus* a *Staphylococcus*. Rod *Gardnerella* byl silně převažujícím v prvním týdnu života, *Streptococcus* ve třetím. *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* a *Streptococcus* byly dominantními rody ve druhé skupině novorozenců. Rod *Bifidobacterium* byl přítomen pouze u skupiny dětí, která nebyla během gestace vystavena antibiotikům. Zjištění naznačují, že prenatální užívání antibiotik může ovlivnit normální kolonizaci střevní mikroflóry předčasně narozeného novorozence. Tato skutečnost zdůrazňuje potřebu pečlivého zvážení nastavení antibiotické terapie v těhotenství. Při rozhodování je třeba brát v úvahu nejen pozitivní účinky pro matku, ale i případný negativní dopad na plod (Xiu a kol., 2023, s. 1-8).

Protože časté užívání antibiotik u nezralých dětí narušuje rovnováhu střevního mikrobiálního prostředí, zabývali se Chang a kol. (2021, s. 1-8) vlivem různých antibiotických preparátů na střevní mikrobiotu dětí s VLBW. Ze studie byli vyloučeni novorozenci, kterým byla podána probiotika a novorozenci, a u kterých došlo k zahájení antibiotické terapie po 7 dnech života. Nezralí novorozenci zahrnutí do studie byli následně rozděleni do dvou skupin dle druhu podávaného antibiotického přípravku. První skupinu tvořili novorozenci, kteří dostávali kombinaci ampicilinu a gentamicinu. Druhé skupině byla podávána kombinace ampicilinu a cefotaximu. Odběr vzorků stolice od novorozence byl proveden ve věku jednoho týdne, dvou týdnů a 30 dní.

Podrobná analýza na úrovni kmene neprokázala významné rozdíly v zastoupení dominantních kmenů v žádném ze sledovaných období. Kmen *Firmicutes* byl nejhojnějším kmenem v obou skupinách po celou dobu prvního měsíce života. U skupiny novorozenců, kterým byla podávána kombinace ampicilinu a gentamicinu, došlo v průběhu tohoto období k nárůstu kmene *Actinobacteria* z 7,6 % na 32,7 %. Na úkor toho došlo ke snížení kmene *Proteobacteria* z 28,4 % na necelých 17 %. Ve druhé skupině novorozenců vykazovaly tyto dva kmény opačnou tendenci ve zvyšování a snižování svého množství. Množství kmene *Actinobacteria* se snížil z 19,3 % na 10,9 % a *Proteobacteria* zvýšil z 12,3 % na 26,3 % (Chang a kol., 2021, s. 1-8).

Obrázek 8 – Porovnání střevní mikroflóry nezralých novorozenců podle druhu podávaných antibiotik



Pozn.: Obrázek zobrazuje grafické znázornění nejpočetnějších bakteriálních kmenů střevní mikroflóry nezralých novorozenců v 7., 14. a 30. dnu života. Novorozenci jsou rozděleni do dvou skupin podle druhu podávaných antibiotik: Ampicilin a Gentamicin (vlevo), Ampicilin a Cefotaxime (vpravo). Antibiotika byla novorozencům podávána během prvního týdne života.

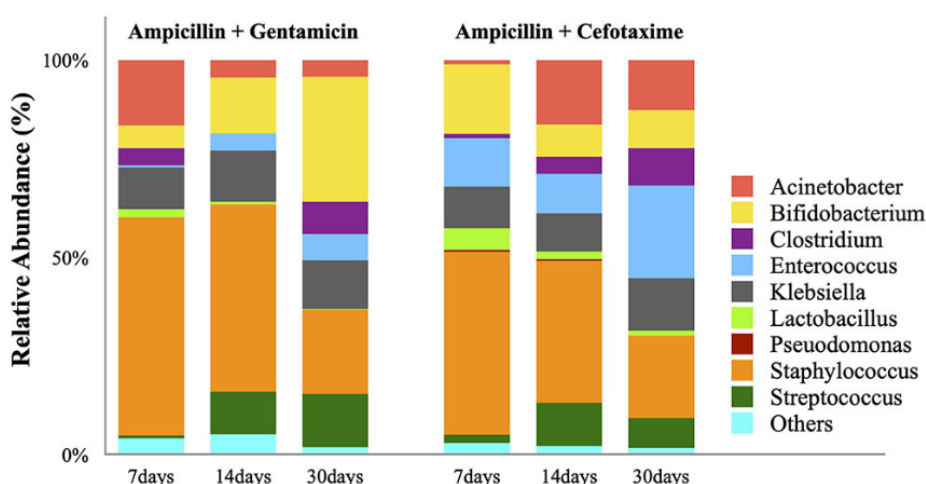
Převzato z: "Impact of Early Empiric Antibiotic Regimens on the Gut Microbiota in Very Low Birth Weight Preterm Infants: An Observational Study," od H. CHANG, J. CHIANG CHIAU, Y. HO a kol, 2021, *Frontiers in Pediatrics*, 9, s. 4, (<https://doi.org/10.3389/fped.2021.651713>)

Nejvýraznější rozdíl byl pozorován v rodu *Enterococcus*. Skupina novorozenců, jež dostávala kombinaci ampicilinu s cefotaximem, vykazovala významně vyšší hojnost bakteriálních druhů z rodu *Enterococcus* a to zejména během prvních 7 dnů života. Druhová bohatost v této skupině se významně snížila ve vzorcích z období 2 týdnů a 30 dnů života v porovnání s prvním odběrem (Chang a kol., 2021, s. 1-8).

Došlo také ke změnám v kolonizaci *Bifidobacterium*. U skupiny novorozenců, kterým byla podávána kombinace ampicilinu a gentamicinu, došlo k nárůstu tohoto rodu z necelých 6 % na 31,6 %. Tento rod se tak stal dominantním členem bakteriální komunity této skupiny dětí v období jednoho měsíce života. U druhé skupiny novorozenců došlo naopak k poklesu z 17,6 % na necelých 10 %. *Staphylococcus* byl dominantním rodem v obou výzkumných skupinách v prvním a druhém odběru. Množství *Lactobacillus* se v průběhu času snížilo u obou skupin, naopak hojnost *Streptococcus* se zvýšila (Chang a kol., 2021, s. 1-8).

Obrázek 9 – Porovnání střevní mikroflóry nezralých novorozenců podle druhu podávaných antibiotik

B Genus Level



Pozn.: Na obrázku jsou zobrazeny nejpočetnější bakteriální rody střevní mikroflóry nezralých novorozenců v 7., 14. a 30. dnu života. Novorozenci jsou rozděleni do dvou skupin podle druhu podávaných antibiotik: Ampicilin a Gentamicin (vlevo), Ampicilin a Cefotaxime (vpravo). Antibiotika byla novorozencům podávána během prvního týdne života.

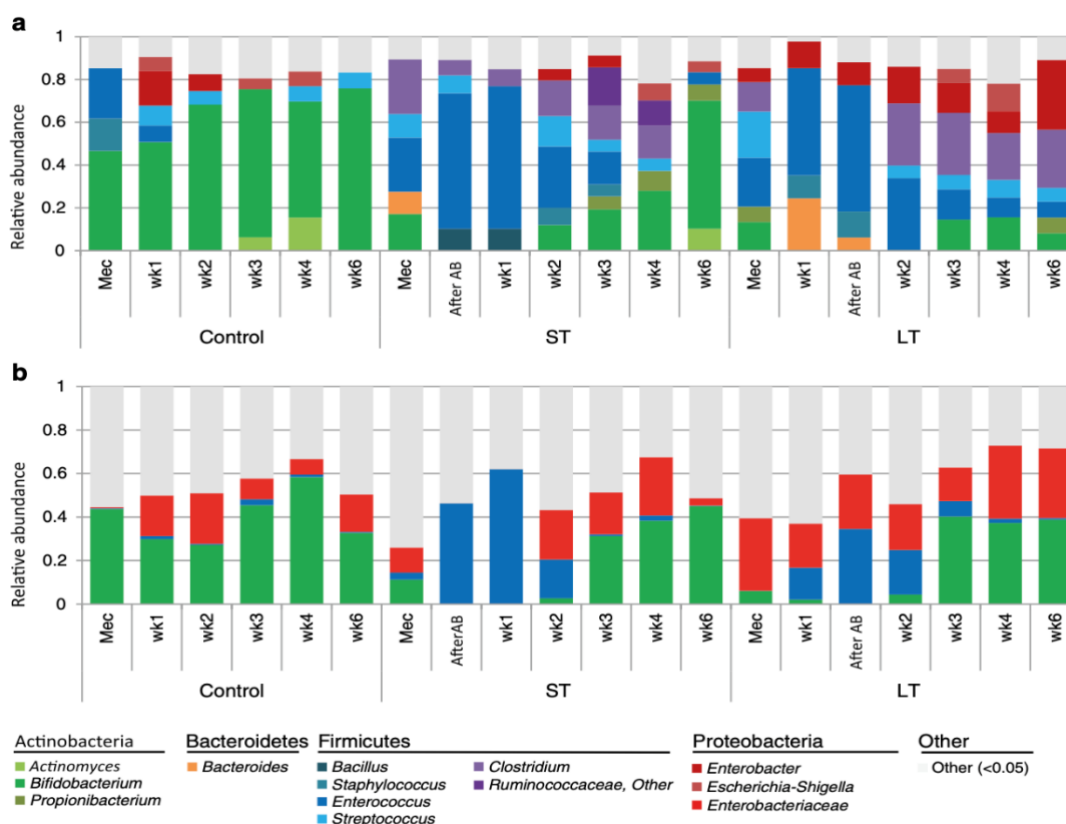
Převzato z: "Impact of Early Empiric Antibiotic Regimens on the Gut Microbiota in Very Low Birth Weight Preterm Infants: An Observational Study," od H. CHANG, J. CHIANG CHIAU, Y. HO a kol, 2021, *Frontiers in Pediatrics*, 9, s. 4, (<https://doi.org/10.3389/fped.2021.651713>)

Závěrem lze říct, že různé antibiotické preparáty různě ovlivňují časný vývoj střevní mikrobioty předčasně narozených dětí. Při hodnocení účinku antibiotik na střevní mikroflóru předčasně narozeného novorozence je třeba vzít v úvahu několik faktorů, jako jsou velikost dávky, délka léčby a druh preparátu. Spektrum cefalosporinů je širší než spektrum penicilinů, což potenciálně vede k větší interferenci s normální mikroflórou. Dlouhodobé užívání cefalosporinů třetí generace může vést k vyšší kolonizaci patogenních bakterií, jak naznačoval nadměrný růst rodu *Enterococcus* u novorozenců léčených cefotaximem v této studii (Chang a kol., 2021, s. 1-8).

Zwittink a kol. věnovali pozornost délce antibiotické terapie a její souvislosti s vývojem střevní mikroflóry. Studovali vliv krátkodobého a dlouhodobého intravenózního podávání kombinace amoxicilinu s ceftazidimem u 15 předčasně narozených dětí. Krátkodobé podávání antibiotik bylo definováno jako období, při kterém antibiotická terapie nepřesáhla 72 h. Druhá skupina dětí, tedy s dlouhodobou

antibiotickou terapií, dostávala dané léky ≥ 5 dní. Z této skupiny byla u jednoho novorozence diagnostikována sepse a u tří pneumonie, vždy bez identifikace konkrétního patogenu. Oběma skupinám byly léčivé přípravky podávány během prvního týdnu života. Zwittink a kol. použili také kontrolní skupinu, tedy nezralé novorozence bez antibiotické terapie. Vývoj jejich střevního mikrobiomu byl pozorován po dobu 6 týdnů po narození. Všichni novorozenci byli narozeni vaginálně a dostávali pouze enterální výživu (Zwittink a kol., 2018, s. 475-483).

Obrázek 10 – Porovnání střevní mikroflóry nezralých novorozenců podle délky užívání antibiotik



Pozn.: Obrázek zobrazuje vývoj střevního mikrobiální profilu nezralých novorozenců během prvních 6 týdnů života, jež užívali antibiotickou terapii. Novorozenci jsou rozděleni do tří skupin: ST – novorozenci s krátkodobou antibiotickou terapií, LT – novorozenci s dlouhodobou antibiotickou terapií, Control – kontrolní skupina. Část A zobrazuje složení mikrobioty detekované pomocí 16S rRNA genomového sekvenování, část B zobrazuje složení analyzované pomocí kvantitativní polymerázové řetězové reakce.

Převzato z: “Association between duration of intravenous antibiotic administration and early-life microbiota development in late-preterm infants,” od R. D. ZWITTINK, I. B RENES, R. A VAN LINGEN, a kol., 2018, European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 37(3), s. 479, (<https://doi.org/10.1007/s10096-018-3193-y>)

U kontrolní skupiny novorozenců byl během sledovaného období zaznamenán několikanásobně vyšší výskyt bakteriálního rodu *Bifidobacterium*. Jeho průměrný relativní výskyt byl v mekoniu 45 % a postupně se zvyšoval až na 73 %. Bylo u nich zaznamenáno také vyšší množství rodu *Enterobacter* v prvním a druhém postnatálním týdnu a *Actinomyces* ve 3. a 4. týdnu. U novorozenců s krátkodobou a dlouhodobou antibiotickou terapií nebyl stanoven specifický mikrobiální profil, který by přetrvával po celou dobu zkoumaného období. Byla pozorována vysoká variabilita mezi jednotlivými novorozenci. U obou skupin novorozenců byl pozorován pokles bakteriálního rodu *Bifidobacterium* po podání antibiotik. Zatímco u skupiny s krátkodobou antibiotickou terapií se množství *Bifidobacterium* začalo od 3. týdne postupně zvyšovat, u druhé skupiny přetrvávalo nízké po celých 6 týdnů. Tato změna naznačovala, že střevní mikroflóra dětí s krátkodobou antibiotickou terapií se více podobala kontrolní skupině než mikroflóra dětí s dlouhodobým podáváním antibiotik (Zwittink a kol., 2018, s. 475-483).

U obou skupin nezralých dětí se stal *Enterococcus* dominantním rodem během podávání antibiotické terapie. Jeho dominance přetrvávala až dva týdny po vysazení. To může pro novorozence představovat riziko, protože některé druhy *Enterococcus* se z běžných střevních symbiotických organismů staly nozokomiálními patogeny, jež jsou rezistentní vůči řadě antibiotikům. Na konci sledovaného období nebyl celkový počet mikroorganismů mezi skupinami odlišný. Na začátku sledování byl nižší u dětí, jež dostávaly antibiotickou terapii, což naznačuje opožděnou mikrobiální kolonizaci z důvodu antibiotické terapie (Zwittink a kol., 2018, s. 475-483).

Ze získaných dat vyplývá, že krátkodobé i dlouhodobé intravenózní podávání antibiotik během prvního postnatálního týdne výrazně ovlivňuje gastrointestinální mikroflóru dítěte. Krátkodobá terapie však umožňuje vyšší kolonizaci *Bifidobacterium* během prvních 6 týdnů, což naznačuje, že brzké vysazení antibiotické léčby umožňuje časnější návrat ke správné kolonizaci. Rozdíly ve vývoji mikrobiomu novorozence způsobené antibiotickou léčbou by mohly ovlivnit zdravý vývoj imunitního systému a mikrobiální kolonizaci gastrointestinálního traktu kojence (Zwittink a kol., 2018, s. 475-483)

Chernikova a kol. popisují souvislost mezi časnou antibiotickou terapií u nezralých novorozenců a nižším výskytem *Bifidobacterium* a *Bacteroides*. To

naznačuje, že časná expozice antibiotikům může ovlivnit budoucí složení střevního mikrobiálního prostředí (Chernikova a kol., 2018, s. 71-79).

2.3.4 Probiotická suplementace

V souvislosti s tzv. ideálním mikrobiomem novorozeneckého střeva, který má představovat termínový novorozenec po VP, výhradně kojený a bez expozice antibiotikům, přišla myšlenka podávání probiotik nezralým novorozencům, jejichž střeva může být potenciálně kolonizováno škodlivými bakteriemi. Probiotika jsou novorozenci dodávána jako doplněk stravy s cílem normalizovat, tedy přiblížit se co nejvíce ideálnímu střevnímu osídlení a snížit tak riziko vzniku komplikací spojených s atypickým mikrobiomem. Dříve bylo prezentováno, že probiotika jsou bezpečná a zvyšují množství tzv. zdravých prospěšných bakterií přítomných ve střevě. Za poslední dobu studie přinesly nové závěry ohledně fetálního a novorozeneckého mikrobiomu a prospěšnost podávání probiotik se tak stala spornou. Rutinní podávání probiotik předčasně narozeným novorozencům se z důvodu těchto nejasných skutečností v praxi liší napříč zdravotnickými zařízeními (Healy a kol., 2023, s. 1-8). Zejména v USA jsou probiotika u nezralých dětí užívána jen zřídka z důvodu obavy z probiotické sepse a kontaminace probiotických produktů (Esaiassen a kol., 2018, s. 1-16).

Řada studií však poukazuje na prospěšnost podávání probiotik. Rozsáhlé metaanalýzy prokázaly, že podávání probiotik může značně snížit riziko propuknutí NEC, nozokomiálních infekcí a úmrtí novorozence (Staude a kol., 2018, s.1-12). Zejména suplementace bifidobakteriemi či laktobacily snižuje riziko NEC (Esaiassen a kol., 2018, s. 1-16).

Na základě získaných dat lze tedy předpokládat, že probiotická suplementace předčasně narozených dětí může přinést řadu benefitů. Není však zcela objasněno, jaké konkrétní bakterie, v jakém dávkování a po jakou dobu je nejefektivnější podávat. Důležitá je také otázka bezpečnosti probiotické suplementace, a to zejména z důvodu nezralého imunitního systému předčasně narozených dětí a řady invazivních vstupů u nich přítomných. Podávání probiotik může být teoreticky zodpovědné za několik vedlejších účinků jako jsou systémové infekce, škodlivé metabolické aktivity, nadměrné imunitní stimulace a meteorismus. Kromě toho by probiotika neměla obsahovat přenosné geny, jež vedou k rezistenci vůči antibiotikům. Také je vhodné zajistit možnost rutinní detekce probiotické sepse (Van den Akker a kol., 2020, s. 664-

680). Ta může být u předčasně narozených dětí zvláště nebezpečná jak z důvodu jejich oslabené imunity, tak obtížné detekce probiotické bakteriémie klasickými kultivačními metodami (Costa a kol., 2018, s. 1-8). K probiotické bakteriémii může dojít v důsledku střevní translokace nebo kontaminace probiotického přípravku. Mezi bakterie detekované v rámci probiotické sepsy patří *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus reuteri*, *Saccharomyces boulardii*, *Bifidobacterium breve* a *Escherichia coli* Nissle 1917. Některé druhy *Escherichia coli* mohou být považovány za potenciálně patogenní, jiné za probiotické. Dále není vhodné podávat probiotické bakterie, které produkují d-laktát, z důvodu, že může zvyšovat riziko překyselení organismu dítěte. D-laktát produkují některé druhy rodu *Lactobacillus*, jako jsou například *Lactobacillus reuteri* a *Lactobacillus acidophilus* (Van den Akker a kol., 2020, s. 664-680).

Probiotika mohou být účinnější u dětí, kterým je podáváno MM, než u novorozenců krmených UM (Aceti a kol., 2017, s. 1-21). To může být způsobeno díky specifickým oligosacharidům lidského mléka, z nichž má prospěch rod *Bifidobacterium*, zejména *Bifidobacterium infantis* (Underwood a kol., 2017, s. 449-455).

Předmětem výzkumu Esaiassen a kol. byl vliv probiotik a antibiotické terapie na vyvíjející se střevní mikroflóru předčasně narozených dětí. Nezralí novorozenci narození před 31. týdnem gestace byli rozděleni dle GA na extrémně předčasně narozené (pod 27. gestační týden), kterým byla podávána probiotika a velmi předčasně narozené (nad 28. gestační týden) bez probiotické suplementace. Skupina novorozenců pod 27. týden sice dostávala probiotika, ale také mnohem vyšší množství antibiotik než skupina novorozenců bez probiotické suplementace. U dvou nezralých dětí pod 27. týden života se rozvinul NEC. Kontrolní skupinu tvořili donošení novorozenci po VP. Identifikace střevní mikrobioty probíhala analýzou vzorků stolice, která byla odebrána v období prvního týdne života, 28. den a ve věku 4 měsíců (Esaiassen a kol., 2018, s. 1-16).

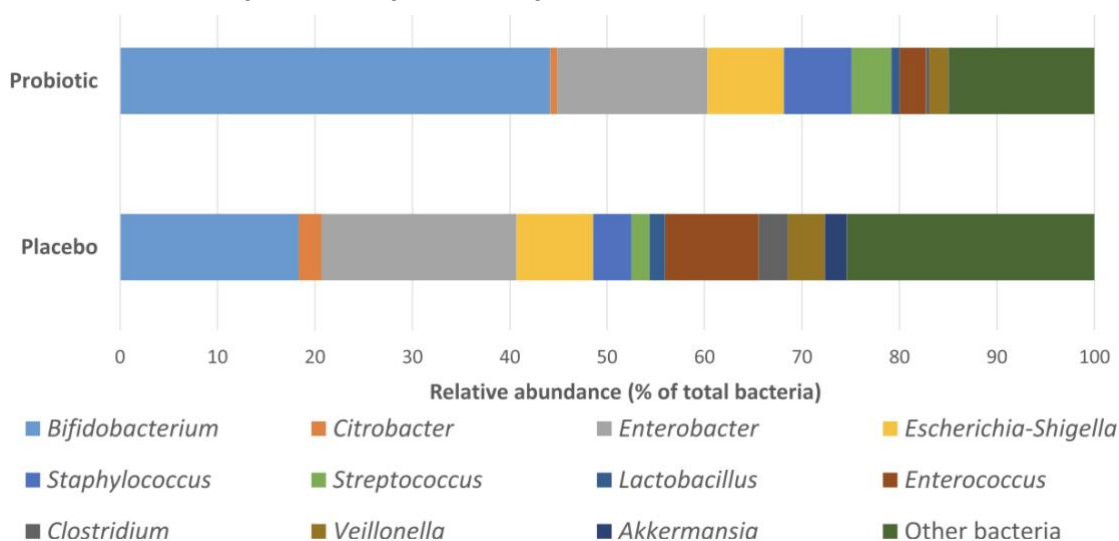
V prvním odběru silně dominoval *Bifidobacterium* u extrémně předčasně narozených dětí s probiotickou suplementací. Ve druhém odběru u těchto dětí bylo zaznamenáno výrazné zvýšení relativního množství rodu *Escherichia*. K podobnému výraznému zvýšení množství *Bifidobacterium* došlo u velmi předčasně narozených dětí bez probiotické suplementace. Donošené děti spolu se skupinou nezralých novorozenců bez podávání probiotik měli vyšší množství bakteriálních rodů

Streptococcus a Veillonella v porovnání se třetí skupinou. Obě skupiny předčasně narozených dětí vykazovaly vyšší relativní výskyt Staphylococcus a Enterococcus. Ve 4 měsících života nebyly detekované žádné významné rozdíly v taxonomickém profilu mezi kontrolní skupinou novorozenců a extrémně nezralými novorozenci s probiotickou suplementací. U předčasně narozených dětí bez podávání probiotik bylo ve stejném období nalezeno vyšší množství rodu Prevotella. Lactobacillus byl detekován v malém množství u všech skupin. Novorozencům s probiotickou suplementací byl Lactobacillus podáván ve stejném množství jako Bifidobacterium, a přesto množství Bifidobacterium bylo několikanásobně vyšší. Možným vysvětlením této skutečnosti může být charakteristická prostorová organizace střevních bakterií, při které jsou laktobacily orientovány spíše ve střevních kryptách, a jsou tak méně přítomny v odebraném vzorku stolice (Esaiassen a kol., 2018, s. 1-16).

Tématem studie Plummer a kol. (2018, s. 1-8) byl účinek suplementace probiotik na vývoj střevní mikroflóry předčasně narozených. Nezralé novorozence rozdělili na dvě skupiny, kdy jedna dostávala v rámci suplementace probiotika (38 novorozenců), druhá placebo (28 novorozenců). Odběr vzorků stolice probíhal v několika časových bodech v rámci jednoho roku života. Od každého novorozence byly získány v průměru 3 vzorky.

Bakteriální rod Bifidobacterium byl detekován v 90 % odebraných vzorků od dětí, které dostávaly probiotika a stal se tak nejrozšířenějším rodem ve vzorcích této skupiny. U druhé skupiny byl detekován pouze v 55 % vzorcích. Streptococcus byl identifikován ve $\frac{3}{4}$ vzorků dětí s probiotickou suplementací, v druhé skupině v 53 % odebraných vzorků. U skupiny nezralých dětí bez podávání probiotik byl jako nejrozšířenější kmen identifikován Enterobacter, který byl pozitivní v 85 % vzorcích. U druhé skupiny tomu tak bylo v 77 % vzorků (Plummer a kol., 2018, s. 1-8).

Obrázek 11 – Zobrazení bakteriálních rodů detekovaných ve střevní mikroflóře nezralých novorozenců se suplementací probiotik a placebo



Pozn.: Graf zobrazuje střevní mikroflóru velmi nezralých novorozenců. Novorozenci byli rozděleni na dvě skupiny, kdy jedna skupina dostávala probiotika (Probiotic) a druhá placebo (Placebo) po zahájení enterálního příjmu po zbytek hospitalizace nebo do dosažení termínového korigovaného věku. Zobrazení mikrobiálního profilu je na úrovni rodů.

Převzato z: "Gut microbiota of preterm infants supplemented with probiotics: sub-study of the ProPrams trial," od E.L. PLUMMER, D. M. BULACH, G.L. MURRAY, S. E. JACOBS, S. N. TABRIZI a S. M. GARLAND, 2018, *BMC Microbiology*, 18(1), s. 5, (<https://doi.org/10.1186/s12866-018-1326-1>)

Rody *Bifidobacterium* a *Streptococcus* byly detekovány alespoň v jednom vzorku všech nedonošených dětí s probiotickou suplementací. Naopak *Enterobacter*, *Escherichia* a *Enterococcus* byly popsány alespoň v jednom analyzovaném vzorku stolice dětí bez probiotické suplementace. Zvýšené množství *Bifidobacterium* bylo pozorováno u kojenců s probiotickou suplementací pouze během období suplementace. To může naznačovat, že zvýšené množství tohoto rodu v době, kdy jsou imunitní systém a novorozenecké střevo velmi nezralé, může významně přispívat k ochraně před NEC (Plummer a kol., 2018, s. 1-8).

2.4 Nekrotizující enterokolitida

Nekrotizující enterokolitida je onemocnění, které postihuje výhradně předčasně narozené novorozence. Jedná se o složitý stav spojovaný s nedostatečným vývojem střeva, nerovnováhou bakterií v něm a poruchou mikrovaskulárního krevního oběhu

(Healy a kol., 2023, s. 1-8). NEC je považována za nejčastější získanou vážnou střevní komplikaci předčasně narozeného novorozence a je vzácná u novorozenců narozených po 32. gestačním týdnu (Healy a kol., 2023, s. 1-8; Mihi a Good, 2019, s. 145-157; Staude a kol. 2018, s. 1-12). Toto onemocnění postihuje přibližně 7 % předčasně narozených dětí s nízkou porodní hmotností a zhruba ve třetině případů je smrtelné (Chernikova a kol., 2018, s. 71-79; Wandro a kol., 2018, s. 1-12;). Etiologie tohoto onemocnění je multifaktoriální (Staude a kol., 2018, s.1-12). Děti, které trpí touto komplikací, mají pravděpodobně sníženou produkci střevního hlenu, nedostatečnou střevní imunitu a sníženou tvorbu endogenních antimikrobiálních faktorů, které tělo přirozeně chrání před infekcemi. Z těchto důvodů je pro bakterie snazší přilnout k epitelovým buňkám střeva. Pokud je střevo navíc poškozeno v důsledku ischemie nebo hypoperfuze, šance propuknutí NEC se opět zvyšuje (Healy a kol., 2023, s. 1-8). U NEC je prokázána souvislost s bakteriální mikroflórou novorozence. Tu pozitivně ovlivňuje MM, naopak antibiotické preparáty způsobují bakteriální dysbiózu, která následně přispívá ke vzniku NEC (Staude a kol., 2018, s.1-12).

Celá patogeneze NEC není stále přesně objasněna. Nejpřijímanější teorie však tvrdí, že v daném prostředí se bakteriální endotoxin naváže na Toll-like receptor 4, který se nachází na epitelových buňkách střeva, tím se aktivují PRR receptory, které jsou schopny rozpoznat specifické konzervované molekuly asociované s patogenními mikroorganismy a dochází k apoptóze buněk a poškození střevního epitelu (Mihi a Good, 2019, s. 145-157). Aktivace receptorů vede k zánětlivému procesu v oblasti odkryté lamina propria, tedy k uvolňování zánětlivých cytokinů, jako jsou TNF- α , IL-1 a IL-8. Tyto změny v konečném důsledku vedou k buněčné apoptóze, poškození střevního epitelu až nekróze tkáně (Healy a kol., 2023, s. 1-8). V období před nástupem klinických příznaků tohoto onemocnění je popsána silná dominance gramnegativních bakterií v mikrobiomu novorozence a je zaznamenán pokles anaerobních bakterií (Staude a kol., 2018, s.1-12). Nebyl zatím identifikován žádný konkrétní mikroorganismus, který zaručeně hraje roli v rozvoji onemocnění, řada studií však uvádí vyšší relativní četnost Enterobacteriaceae spojenou s nižší hojností Bifidobacterium jako rizikový faktor pro vznik NEC (Masi a kol., 2021, s. 2273-2282). Nedávná metagenomická analýza potvrdila vyšší relativní hojnost bakteriálního rodu Klebsiella a vyšší míru replikace u všech bakterií těsně před nástupem tohoto onemocnění (Olm a kol., 2019, s. 1-12). Diskutuje se však, zda změněný vzorec mikroflóry přímo predisponuje ke vzniku NEC, či je pouhým odrazem nedostatečné

gastrointestinální a imunologické zralosti. Některé změny, jako vyšší přítomnost gramnegativních bakterií a stafylokoků, mohou souviset či dokonce být způsobené dlouhodobým pobytem na JIRP (Stauda a kol., 2018, s.1-12).

Některé dřívější studie popsaly, že se NEC většinou nevyskytuje u novorozenců, kteří mají rozmanitou střevní mikrobiotu. Toto tvrzení mohou vysvětlit dvě teorie. V první hrají hlavní roli vrozené faktory, kdy někteří novorozenci zkrátka mohou být díky genetické predispozici méně náchylní ke vzniku NEC nebo jejich imunitní systém výrazně přispívá ke snížení rizika vzniku této komplikace. Druhá teorie souvisí s ochrannými účinky střevní mikroflóry. Různorodí mikrobi ve střevě mohou snižovat riziko vzniku NEC. Rozmanitá skladba střevní mikrobioty podporuje schopnost bakterií regulovat zánětlivé procesy ve střevě a zlepšuje integritu střevního epitelu. To výrazně přispívá k udržení zdravé střevní stěny čímž se může minimalizovat pravděpodobnost výskytu této komplikace (Healy a kol., 2023, s. 1-8). V souvislosti s danými teoriemi přináší MM velmi prospěšné účinky. Podporuje totiž jak bakteriální diverzitu, tak imunologické procesy novorozence. Kromě konzumace MM se osvědčilo také podávání probiotik. Dodávání probiotických mikroorganismů, jako jsou *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* a *Saccharomyces*, předčasně narozenému novorozenci, snižuje riziko vzniku NEC téměř o polovinu (Stauda a kol., 2018, s.1-12).

Příjem MM se řadí mezi neúčinnější faktory, které snižují riziko NEC. I přes to se u dětí, kterým je toto mléko podáváno, NEC stále objevuje. Tato skutečnost naznačuje, že variabilní složení živin a dalších složek MM může být v souvislosti s propuknutím NEC důležité. Masi a kol. ve své studii prozkoumali, jak oligosacharidy mateřského mléka a vývoj střevní mikrobioty novorozence souvisí s NEC. Do výzkumného šetření bylo zapojeno celkem 77 předčasně narozených novorozenců. U 33 bylo diagnostikováno onemocnění NEC. Všichni novorozenci s tímto onemocněním byli krmeni MM a 31 z nich dostávalo navíc probiotika. Bylo zjištěno, že oligosacharid mateřského mléka DSLNT byl významně nižší u MM, jež bylo podáváno novorozencům, u kterých došlo k propuknutí NEC. Jeho prahová hladina byla stanovena na 241nmol/ml. Metagenomické sekvenování stolice ukázalo u těchto novorozenců před nástupem NEC významně nižší relativní výskyt *Bifidobacterium longum* a vyšší relativní výskyt *Enterobacter cloacae*. Na úrovni kmenů byla u dětí s tímto onemocněním zaznamenána významně nižší relativní hojnost Actinobacteria a vyšší relativní četnost Proteobacteria. Tento výzkum potvrdil teorii, že koncentrace specifických oligosacharidů mateřského mléka je spojena se specifickými změnami ve

vývoji střevního mikrobiální profilu. Nižší koncentrace DSLNT byla spojena se změněným vzorcem vývoje střevní mikrobioty a propuknutím NEC. Tato skutečnost může vést ke změnám při podávání darovaného ŽM, kdy by mělo být upřednostněno ŽM s vysokým obsahem DSLNT (Masi a kol., 2021, s. 2273-2282).

Ačkoli četné studie podporují názor, že střevní bakterie hrají zásadní roli v patogenezi NEC, dosud nebyl žádný bakteriální druh konzistentně identifikován jako původce. NEC je tedy spojena s řadou mikroorganismů, převážně z kmene Firmicutes a Proteobacteria. Z kmene Firmicutes se jedná zejména o koaguláza-negativní stafylokoky a z Proteobacteria o E.coli, Klebsiella sp. a Cronobacter sakazakii (Lee a kol., 2020, s. 1-18).

2.5 Porovnání mikrobiomu termínových a nezralých novorozenců

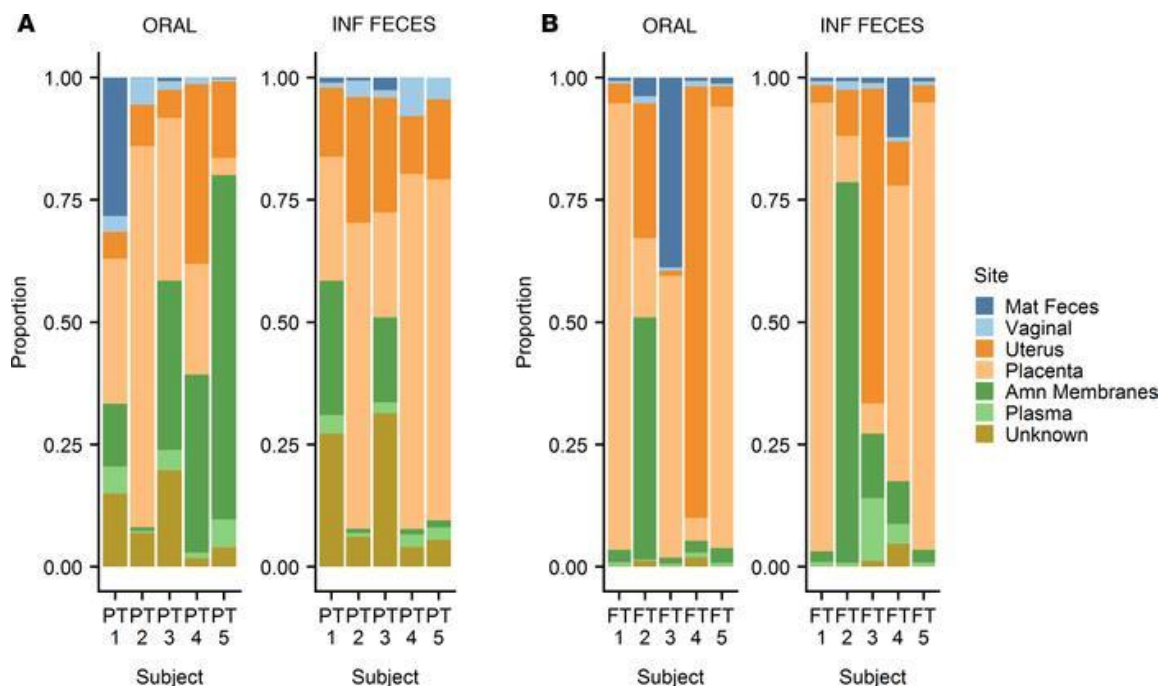
2.5.1 Srovnání mikrobiálních fetálních DNA profilů

Younge a kol. (2019, s. 1-14) rovněž jako další studie prokázali výskyt životaschopných bakterií in utero. Kromě toho se snažili více porozumět vzájemnému vztahu mezi fetálním mikrobiálním DNA a mikrobiálním osídlením matky. Byla prokázána přítomnost mikrobů v dutině ústní a mekoniu u dětí narozených již ve 24. týdnu gestace. Díky moderním metodám analýzy mikrobiálního složení bylo prokázáno, že daní mikrobi pocházejí ze zdrojů in utero. V této studii byly analyzovány vzorky od termínových novorozenců a od 5 předčasně narozených novorozenců, kteří se narodili pomocí SC. Do výzkumu nebyli zahrnuti novorozenci po VP, aby se předešlo expozici mateřské urogenitální mikroflóry. Gestační týden novorozenců byl v rozmezí od 24. do 29. týdne a 90 % dětí mělo neporušené plodové obaly před začátkem SC. Za sterilních podmínek byly odebrány vzorky, jak ze strany dítěte, tak matky. Byly odebrané vzorky z dutiny ústní, mekonie placenty, plodových obalů, endometria, krevní plasmy rodičky i dítěte a vzorky pocházející z poševního a rektálního prostředí matky.

Bylo zjištěno, že mikrobiota placenty vykazuje značnou podobnost s orálním mikrobiálním osídlením nezralého novorozence bezprostředně po porodu a skladbou mikrobioty jeho mekonie. V některých případech se vyšetřované vzorky novorozence shodovaly také ve velké míře s mikrobiálním profilem plodových obalů. Bylo tomu tak převážně u vzorků z dutiny ústní dítěte, mikrobiota mekonie vykazovala spíše

podobnost s mikrobiálním složením placenty. GA nehrál klíčovou roli v podobnosti vzorků mezi matkou a dítětem (Younge a kol., 2019, s. 1-14).

Obrázek 12 – Podobnosti mezi mateřskou a fetální mikroflórou u termínových a předčasně narozených novorozenců



Pozn.: Graf znázorňuje porovnání podobností mezi mateřskou orální mikroflórou (ORAL) a fetální mikrobiotou mekonie (INF FECES) u termínových a předčasně narozených novorozenců. Část obrázku A představuje dvojici matky a předčasně narozeného novorozence, a část B zobrazuje matku a termínového novorozence. Zkratky popisují zralost novorozence: PT – nezralý novorozenec, FT – termínový novorozenec. Číselné označení pod zkratkou udává číslo novorozence zařazeného do studie.

Převzato z: “Fetal exposure to the maternal microbiota in humans and mice,” od N. YOUNGE, J. R. MCCANN, J. BALLARD, a kol., 2019, JCI Insight, 4(19), s. 4, (<https://doi.org/10.1172/jci.insight.127806>)

Mikrobiota termínových novorozenců se také převážně podobala mikrobům identifikovaných v placentární tkáni. Pouze jeden donošený novorozenec vykazoval vyšší podobnost mikrobiálního profilu obou vzorků s mikrobiálním složením plodových obalů. V souvislosti s tímto zjištěním vznikla hypotéza založená na podobnosti mezi mateřskou a fetální mikroflórou, že mikroorganismy přítomné v dutině ústní nebo střevě matky, mohou být transportovány k materno-fetální bariéře. Diskutuje se o dvou

možných způsobech transportu mikrobů, a to buď prostřednictvím krevního oběhu, nebo pomocí buněk imunitního systému. Závěr této studie však odkazuje na potřebu dalšího zkoumání mechanismů, kterými se dostává plod do kontaktu s mateřskou mikrobiotou (Younge a kol., 2019, s. 1-14).

Také mikrobiální komunita v amniální tekutině si zaslouží být předmětem diskuse, protože může ovlivnit bakteriální kolonizaci kůže a střeva plodu (Stinson a kol., 2020, s. 1-11). Dle Staude a kol. (2018, s. 1-12) má vliv také na kolonizaci dýchacích cest předčasně narozeného novorozence. V případě přítomnosti nesprávných mikroorganismů v plodové vodě by mohla takhle skutečnost ovlivnit zrání imunitního systému plodu (Leiby a kol., 2018, s. 1-11; Stinson a kol., 2020, s. 1-11). Vzhledem k tomu, že infekce je velmi často příčinou předčasného porodu, navrhuje se hypotéza, kdy by se mohl lišit mikrobiální DNA profil plodové vody a plodových obalů u předčasně narozených a termínových novorozenců. V nedávné studii byly na základě této myšlenky zkoumány vzorky plodové vody od zmiňovaných dvou skupin novorozenců. Testované vzorky vykazovaly profily s nízkou bakteriální DNA. V plodové vodě nebyli detekováni mikrobi obvykle spojeni se spontánním předčasným porodem. Nepodařilo se identifikovat žádné rozdíly v genetickém materiálu bakterií napříč oběma skupinami. Závěry studie tedy naznačují, že tzv. neškodné mikroorganismy, jež nevyvolávají předčasný porod, a jsou typicky identifikovány v amniální tekutině v období termínu porodu, se zde vyskytují i v dřívějších fázích gravidity. Pokud tedy dochází k počáteční kolonizaci in utero v tak brzkém stádiu těhotenství, očekávalo by se, že během několika měsíců nitroděložního vývoje její četnost a diverzita vzroste. To se však nepotvrdilo, protože byly nízké v případě obou skupin (Stinson a kol., 2020, s. 1-11).

Staude a kol. (2018, s. 1-12) popisují odlišnosti mezi mikrobiotou plodových obalů termínových a předtermínových novorozenců. Podle jejich údajů bakterie *Aerococcaceae*, *Bifidobacteriaceae* a *Fusobacteria* převažují nebo se dokonce nacházejí výhradně v plodových obalech předčasně narozených dětí.

Obdobně jako s myšlenkou ohledně možného odlišného mikrobiálního složení plodové vody u předčasných porodů (Stinson a kol., 2020, s. 1-11) přichází domněnka týkající se mikrobiálního profilu placenty. Tuto skutečnost se rozhodli prozkoumat Leiby a kol. (2018, s. 1-11), kdy srovnávali mikrobiální DNA ve vzorcích placenty z 20 termínových a stejného počtu předtermínových porodů. Abnormální mikrobiální kolonizace placenty by totiž mohla ovlivnit také mikrobiom novorozence, protože

placentární mikrobiota je podobná orální fetální mikroflóře a mikrobiálnímu složení mekoniuma, jako to popsali Younge a kol. (2019, s. 1-14) ve své studii. Rovněž jako Stinson a kol. (2020, s. 1-11) demonstrovali ve svém závěru, že plodová voda vykazovala nízkou četnost a diverzitu mikroorganismů, Leiby a kol. popisují podobné nálezy ve vzorcích placentární tkáně obou skupin. Nepodařilo se tak ani potvrdit hypotézu, že placenta normálně obsahuje konzistentní bakteriální komunitu. Vzhledem k tomu, že je vždy potřeba počítat s kontaminací vyšetřovaného vzorku a nejasným výsledkům ohledně mikrobiálního osídlení placenty, se tato skupina vědců přiklání spíše k hypotéze o sterilním prostředí in utero (Leiby a kol., 2018, s. 1-11).

2.5.2 Porovnání mikrobiomu podle zralosti novorozence

Pro pochopení rozdílu mezi mikrobiomem předtermínových a termínových novorozenců je nezbytné pochopit jeho proces zrání a utváření (Heida a kol., 2021, s. 1-12). U nezralých novorozenců je ve srovnání s donošenými novorozenci vyšší pravděpodobnost, že jim budou podány antibiotické preparáty a podstoupí delší pobyt v nemocnici, což může vývoj jejich střevního mikrobiálního osídlení značně ovlivnit (Chen a Shi, 2023, s. 1-17). Předchozím studiím se podařilo tyto rozdíly identifikovat. U nedonošených novorozenců bylo zaznamenáno vyšší množství Gamaproteobacteria v porovnání s donošenými novorozenci. U předčasně narozených dětí je také popsáno dlouhodobě nedostatečné množství bifidobakterií a laktobacilů, což je znakem pozmeněného vývoje střevní mikrobioty (Heida a kol., 2021, s. 1-12). I další studie potvrzují u nezralých novorozenců převahu Proteobacteria spolu s Firmicutes (Healy a kol., 2023, s. 1-8).

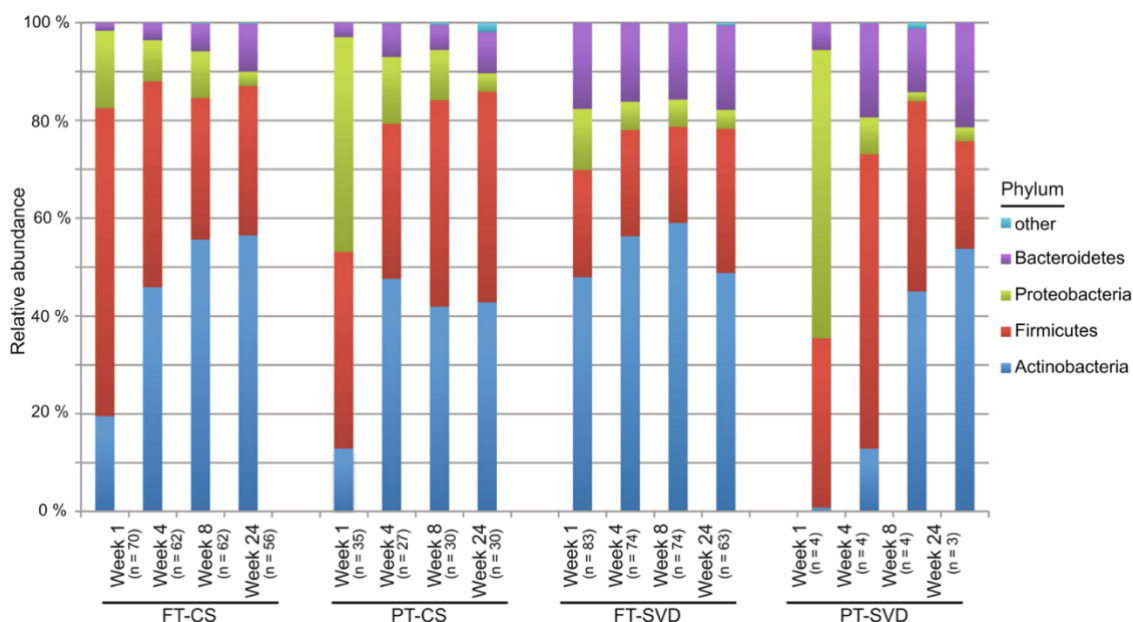
U termínového novorozence má však na střevní mikroflóru významný vliv mimo jiné způsob porodu, který přetrvává zhruba po dobu půl roku. Donošení novorozenci po SC jsou kolonizováni častěji mikroorganismy, jež mohou představovat riziko budoucích infekcí, jako jsou Enterococcus, Enterobacter a Klebsiella. V porovnání s termínovými novorozenci po VP jejich střevní mikrobiální profil vykazuje nižší množství Lactobacillus a Bacteroides (Chen a Shi, 2023, s. 1-17). U termínového výhradně kojeného novorozence dominuje kmen Actinobacteria (Healy a kol., 2023, s. 1-8).

Dle Hiltunen a kol. (2022, s. 1804-1811) předčasně narození novorozenci vykazují významně nižší alfa diverzitu střevní mikroflóry a odlišné shlukování v rámci

beta diverzity ve srovnání s novorozenci narozenými v termínu. Tato skutečnost naznačuje, že mikrobiota nezralých dětí je specifická.

Hill a kol. (2017, s. 1-18) porovnávali střevní mikrobiální profil termínových a předtermínových novorozenců dle způsobu porodu. Na základě výsledků své studie popisují, že zhruba po 24 týdnech života nebyly ve vzorcích detekované výrazné rozdíly způsobené zralostí novorozence, vliv způsobu porodu však přetrvával dále. Z důvodu menšího množství vzorků ve skupině nezralých novorozenců po VP se nepodařilo mikrobiální profil těchto novorozenců tak dobře identifikovat, jako tomu bylo u ostatních skupin.

Obrázek 13 – Srovnání střevní mikroflóry termínových a předtermínových novorozenců dle způsobu porodu



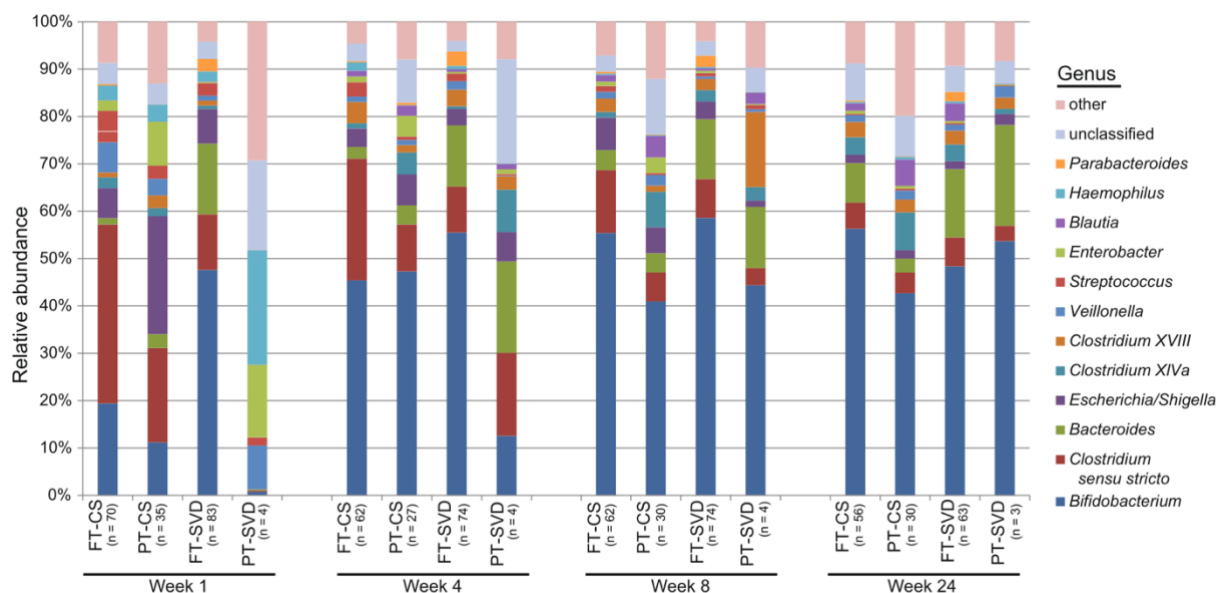
Pozn.: Na obrázku je grafické znázornění střevní mikroflóry nezralého (PT) a termínového novorozence (FT). Novorozenci jsou kromě zralosti rozděleni dle způsobu porodu. Zkratka CS představuje porod císařským řezem, zkratka SVD porod vaginální. Střevní mikroflóra je zobrazena na úrovni kmenů během 1., 4., 8. a 24. týdne života.

Převzato z: " Evolution of gut microbiota composition from birth to 24 weeks in the INFANTMET Cohort," od C. J. HILL, D. B. LYNCH, K. MURPHY, a kol., 2017, *Microbiome*, 5(1), s.10, (<https://doi.org/10.1186/s40168-016-0213-y>)

Nejvýraznější rozdíly ve skladbě střevního mikrobiálního osídlení byly znatelné v prvním týdnu života. Vzorky obou skupin předčasně narozených dětí vykazovaly

výrazně vyšší množství Proteobacteria. Kromě toho byl u nich zpočátku zaznamenán také vysoký relativní podíl kmene Firmicutes, později se tento bakteriální kmen stává dominantním spolu s Actinobacteria. U termínových novorozenců po SC v prvním týdnu života převládá kmen Firmicutes, postupem času se na první příčky dostává také kmen Actinobacteria, který zpočátku vykazoval nižší množství. Skupina termínových novorozenců po VP měla po celou dobu zkoumání relativně stabilní složení střevní mikroflóry, kdy dominantním kmenem byl Actinobacteria. Během sledovaného období byl pozorován trend, kdy se mikrobiální profil zralých dětí po SC stále více podobal profilu stejně zralé skupiny po VP. U předčasně narozených dětí nebyla tato skutečnost zpozorována v takové míře (Hill a kol., 2017, s. 1-18).

Obrázek 14 – Srovnání střevní mikroflóry termínových a předtermínových novorozenců dle způsobu porodu



Pozn.: Graf zobrazuje složení střevní mikroflóry předčasně narozených (PT) a termínových novorozenců (FT) v jednotlivých týdnech života (1., 4., 8. a 24. týden). Jsou dále rozděleni dle způsobu porodu, který je označen zkratkou CS – císařský řez, nebo SVD – spontánní vaginální porod. Zobrazení střevního mikrobiálního profilu je na úrovni rodů.

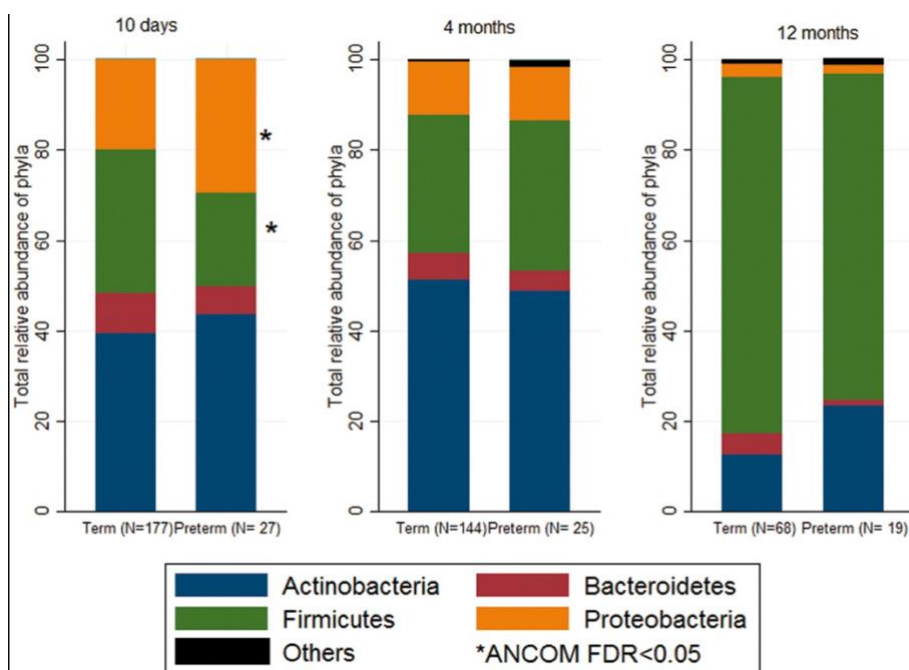
Převzato z: “ Evolution of gut microbiota composition from birth to 24 weeks in the INFANTMET Cohort,“ od C. J. HILL, D. B. LYNCH, K. MURPHY, a kol., 2017, Microbiome, 5(1), s.10, (<https://doi.org/10.1186/s40168-016-0213-y>)

Ve skupině termínových novorozenců po VP po celou dobu zkoumání dominoval rod *Bifidobacterium*. Tento rod byl v prvním týdnu života u zbylých skupin dětí detekován ve výrazně menším množství, následně došlo k jeho nárůstu. Obecně u novorozenců po SC bylo v prvním týdnu života zaznamenáno nižší množství rodu *Bacteroides* v porovnání s dětmi po VP. U zralých novorozenců po SC se postupem času zvýšilo, u nezralých zůstalo na obdobné úrovni po celou dobu zkoumání. V závěru sledování byl tento rod u dětí po SC stále výrazně nižší než u novorozenců po přirozeném porodu (Hill a kol., 2017, s. 1-18).

Převahu bakterií z kmene Firmicutes (60,4 %) u předčasně narozených novorozenců potvrdili také Hiltunen a kol. (2022, s. 1804-1811) ve své analýze. U termínových novorozenců dominoval kmen Proteobacteria (32,5 %) nad kmeny Firmicutes (30,7 %) a Actinobacteria (29,5 %). Střevní mikrobiota nezralých dětí vykazovala vyšší hladiny specifických prozánětlivých bakterií. Tito autoři střevní mikrobiotu termínových a předtermínových dětí na základě způsobu porodu nesrovnávali, protože dle jejich dat způsob porodu neovlivňuje skladbu střevního mikrobiálního prostředí u nezralých dětí (Hill a kol., 2017, s. 1-18).

Dahl a kol. ve svém srovnání předčasně narozených a termínových novorozenců zjistili, že nezralé děti mají nízkou bakteriální diverzitu a odlišné mikrobiální složení (Dahl a kol., 2018, s. 1658-1669).

Obrázek 15 – Srovnání střevní mikroflóry termínových a předtermínových novorozenců na v průběhu prvního roku života



Pozn.: Grafické znázornění složení střevního mikrobiální profilu termínových (Term) a předčasně narozených (Preterm) novorozenců na úrovni kmenů. Obrázek je rozdělen do tří částí, kdy první část představuje skladbu střevní mikroflóry 10. den života (10 days), druhá ve 4 měsících života (4 months) a poslední v 1 roce života (12 months).

Převzato z: "Preterm infants have distinct microbiomes not explained by mode of delivery, breastfeeding duration or antibiotic exposure," od C. DAHL, H. STIGUM, J. VALEUR, a kol., 2018, *International Journal of Epidemiology*, 47(5), s. 1665 (<https://doi.org/10.1093/ije/dyy064>)

I přesto, že se snažili vytvořit skupinu předčasně narozených dětí s minimem nepříznivých vlivů, jejich střevní mikrobiota byla v prvních dnech života odlišná. Skupinu tvořili nezralí novorozenci po vaginálním porodu, výlučně kojení a bez antibiotické terapie. Jejich střevní mikrobiální prostředí vykazuje vyšší množství kmene *Proteobacteria* a rodu *Enterococcus* ve srovnání s termínovými novorozenci v prvních dnech života. Kmen *Firmicutes* byl přítomen ve vyšším množství u zralých novorozenců. Odlišnosti se však postupně snižovaly. Z přiloženého grafu vyplývá, že nezralí novorozenci vykazovali nižší hladiny kmene *Bacteroidetes* po celou dobu zkoumání (Dahl a kol., 2018, s. 1658-1669).

3 Metodika výzkumu mikrobiální osídlení novorozence

3.1 Výzkumné cíle a hypotézy

Cílem výzkumu je deskripce mikrobiálního osídlení potenciálními patogeny nezralého novorozence s porodní hmotností pod 1500 g. Dílčími cíli jsou:

- Prokázat, zda má způsob porodu vliv na mikrobiální osídlení potenciálními patogeny nezralého novorozence s porodní hmotností pod 1500 g bezprostředně po porodu a během prvního měsíce života.
- Zjistit, zda existuje souvislost mezi gestačním věkem a mikrobiálním osídlením potenciálními patogeny nezralého novorozence s porodní hmotností pod 1500 g bezprostředně po porodu a během prvního měsíce života.

K uvedeným cílům byly formulovány statistické hypotézy:

Cíl 1:

- H01** Neexistuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a skladbou mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni kmenů.
- HA1** Existuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a skladbou mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni kmenů.
- H02** Neexistuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a skladbou mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni rodů.
- HA2** Existuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a skladbou mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni rodů.
- H03** Neexistuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence během prvního měsíce života na úrovni kmenů.
- HA3** Existuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence během prvního měsíce života na úrovni kmenů.
- H04** Neexistuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence během prvního měsíce života na úrovni rodů.
- HA4** Existuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence během prvního měsíce života na úrovni rodů.

Cíl 2:

- H05** Neexistuje signifikantní vztah mezi gestačním věkem a složením mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni kmenů.
- HA5** Existuje signifikantní vztah mezi gestačním věkem a složením mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni kmenů.
- H06** Neexistuje signifikantní vztah mezi gestačním věkem a složením mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni rodů.
- HA6** Existuje signifikantní vztah mezi gestačním věkem a složením mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni rodů.
- H07** Neexistuje signifikantní vztah mezi gestačním věkem a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence v průběhu prvního měsíce života na úrovni kmenů.
- HA7** Existuje signifikantní vztah mezi gestačním věkem a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence v průběhu prvního měsíce života na úrovni kmenů.
- H08** Neexistuje signifikantní vztah mezi gestačním věkem a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence v průběhu prvního měsíce života na úrovni rodů.
- HA8** Existuje signifikantní vztah mezi gestačním věkem a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence v průběhu prvního měsíce života na úrovni rodů.

3.2 Charakteristika výzkumného vzorku

Výzkumný soubor tvořilo celkem 207 předčasně narozených novorozenců. U této skupiny bylo zkoumáno mikrobiální osídlení novorozence bezprostředně po porodu. Z celkového počtu bylo 77 (37,20 %) novorozenců po VP, 130 (62,80 %) po SC, 97 (46,86 %) s GA <29+0 a 110 (53,14 %) s GA ≥ 29+0. Kritéria výběru participantů do výzkumu byly:

- předčasný porod, tedy porod před ukončeným 37. týdnem gestace,
- porodní hmotnost předčasně narozeného novorozence ≤1500 g,
- vstupní kultivační vyšetření stěrů ze všech následujících míst: rektum, axila, ucho, krk – nos.

Z původního výzkumného souboru byla vytvořena druhá výzkumná skupina, kterou tvořilo celkem 139 participantů. Vstupním kritériem pro zařazení novorozence do této výzkumné skupiny bylo:

- Kultivační vyšetření stěrů z rekta z prvních 24 h života, zhruba 1. a 4. týdne života.

Z původní skupiny bylo vyřazeno 68 (32,85 %) předčasně narozených novorozenců z důvodu nedostatečného množství kultivačních vyšetření stěrů z rekta.

3.3 Metoda sběru dat

Realizace výzkumného šetření proběhla pomocí kvantitativního typu výzkumu na podkladě retrospektivní studie. Retrospektivní sběr dat proběhl z období 1.1.2018 – 31.12. 2023. Data byla dohledána ze zdravotnické dokumentace FNOL, kde byli novorozenci hospitalizováni na Novorozenecké JIRP. Do připravených záznamových archů byly zaznamenány následující údaje novorozence: porodní hmotnost, gestační věk, způsob porodu, výsledky vstupních kultivačních vyšetření odebraných z rekta, axily, ucha, krk-nos, výsledky kultivačních vyšetření z rekta odebraných během 24 h, 1. a 4. týdne života, kalendářní měsíc narození novorozence. Zjištěná data byla následně statisticky zpracována a porovnána na základě zvolených výzkumných skupin.

3.4 Realizace výzkumu

Výzkumné šetření pomocí kvantitativního typu výzkumu bylo provedeno na základě souhlasného stanoviska Etické komise Fakulty zdravotnických věd Univerzity Palackého v Olomouci (příloha č.1). Výzkum byl realizován ve FNOL, kdy byly pro sběr dat využity zdravotnické dokumentace z oddělení Novorozenecké JIRP. Data byla zapsána do záznamového archu vytvořeném v Microsoft Excel a následně statisticky zpracována zkušeným biostatistikem z Ústavu molekulární a translační medicíny Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

3.5 Metoda zpracování dat

Získaná data pomocí retrospektivní metody sběru dat byla v programu Microsoft Excel rozdělena do několika souborů pro lepší přehlednost při zpracovávání jednotlivých hypotéz. Statistické zpracování dat bylo provedeno na ÚMTM LF UPOL.

V rámci každého cíle byla data vyhodnocena jak na úrovni rodů, tak kmenů. Nejprve byly v excelových tabulkách detekované mikroorganismy označeny příslušným rodem a kmenem, kam se taxonomicky řadí. Následně byla pro každý rod/kmen a typ/datum odběru vytvořena jedna souhrnná proměnná, která označovala maximum z hodnot u jednotlivých mikroorganismů patřících do příslušného rodu/kmene. Posléze byly tyto souhrnné proměnné kategorizovány do podoby A/N (rod/kmen v odběru přítomen/nepřítomen). Přitom v odběrech rektum byla za pozitivitu považována hodnota 4, 5 a 6, hodnoty 0-3 byly považovány za negativní. V ostatních typech odběrů byla nula považována za negativní, jakákoli nenulová hodnota pak za pozitivní. Do analýzy byly dále zařazeny: pomocná proměnná pro identifikaci pacienta, GA převedené na číselnou hodnotu, pomocná proměnná pro rozlišení způsobu porodu (VP a SC), pomocná proměnná pro rozlišení gestačního týdne.

Statistické zpracování vstupních stěrů (hypotéza č. 1, 2, 5, 6) spočívalo zejména v porovnání podílu pozitivních nálezů ve sledovaných výzkumných skupinách (t-test, chí-kvadrát test). V rámci hypotéz č. 1 a 2 byly výzkumné skupiny novorozenců rozdělené dle způsobu porodu. U hypotéz č. 5. a 6 tvořili novorozenci skupiny na základě gestačního týdne, kdy do jedné skupiny byli novorozenci zařazeni s gestačním věkem <29. týden a do druhé \geq 29. týden. V závislosti k hypotézám č. 1 a 5 byly data zpracovány a vyhodnoceny na úrovni kmenů, hypotézy č. 2 a 6 na úrovni rodů.

Vývoj střevního mikrobiálního osídlení novorozence (hypotézy č. 3, 4, 7, 8) byl statisticky zhodnocen McNemarovým testem, jež se využívá v případě párového uspořádání nominálních dat, kdy sledujeme výskyt náhodné veličiny v rámci jednoho výběrového souboru dvakrát po sobě, doplněným Fisherovým exaktním testem. V případě hypotéz č. 3. a 7. proběhlo zpracování dat na úrovni mikrobiálních kmenů, u hypotéz č. 4. a 8 na úrovni rodů. Výzkumné skupiny novorozenců byly v případě hypotéz č. 3 a 4 rozděleny dle způsobu porodu (SC a VP) u hypotéz 7. a 8 dle GA (<29. týden a \geq 29. týden). Byly porovnány bakterie přítomné v kultivačních vyšetřeních z rekta, jejichž odběr proběhl během prvních 24 h, 1. a 4. týdne života. Komparace proběhla na úrovni kmenů i rodů, a to jak mezi výzkumnými skupinami navzájem, tak v rámci jedné skupiny, kdy byl pozorován vývoj mikrobiálního osídlení v čase.

4 Interpretace výsledků

Pro lepší pochopení problematiky blíže popsané v následujících výsledcích je nutné zmínit, že u některých novorozenců bylo hlášeno několik pozitivních nálezů v rámci jednoho kultivačního odběru, zatímco u jiných byl nález zcela negativní. Na úrovni rodů byl za jeden pozitivní nález považován jeden bakteriální rod v daném odběru. V některých případech však došlo k výskytu více rodů v rámci jednoho odběru u jednoho novorozence. V tomto případě se pozitivita každého rodu u daného novorozence počítala samostatně. Z toho důvodu je někdy hlášeno více pozitivních nálezů, než byl celkový počet odběrů. Pro souhrn za kmen nebyly však pouze sečteny jednotlivé pozitivní nálezy na úrovni rodů, neboť u některých novorozenců bylo pozitivních více rodů z jednoho kmenu v daném odběru. Tyto vzorky by tak mylně byly započítány vícekrát, proto při statistickém zpracování došlo také k zohlednění tohoto faktu. Data uvedená v procentech jsou zaokrouhlená na dvě desetinná čísla.

Dílčí cíl 1: Prokázat, zda má způsob porodu vliv na mikrobiální osídlení nezralého novorozence s porodní hmotností pod 1500 g bezprostředně po porodu a během prvního měsíce života.

Statistická hypotéza č. 1:

- H01 Neexistuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a skladbou mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni kmenů.
- HA1 Existuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a skladbou mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni kmenů.

Ověření platnosti hypotézy

Níže uvedené tabulky zobrazují zastoupení jednotlivých bakteriálních kmenů ve vstupních stěrech (axila, krk-nos, ucho, rektum) u novorozenců rozdělených dle způsobu porodu. Skupinu novorozenců po VP tvořilo 77 dětí, po SC 130.

Tabulka č. 1 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti axily na úrovni kmenů

Axila – bakteriální kmen	SC (n=130)		Vaginální porod (n=77)	
	n	%	n	%
Firmicutes	3	2,31 %	20	25,97 %
Proteobacteria	2	1,54 %	14	18,18 %
Actinobacteria	0	0,00 %	2	2,60 %
Ascomycota	1	0,77 %	0	0,00 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

U novorozenců po SC bylo nalezeno celkem 6 pozitivních nálezů na úrovni kmenů, zatímco u dětí po VP 36. V kultivačních stěrech z axily byl zjištěn statisticky významný rozdíl v podílech negativních a pozitivních vzorků u kmenů Firmicutes a Proteobacteria, kdy u obou kmenů bylo $p < 0,001$.

Tabulka č. 2 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti krk-nos na úrovni kmenů

Krk – bakteriální kmen	SC (n=130)		Vaginální porod (n=77)	
	n	%	n	%
Firmicutes	20	15,38 %	29	37,66 %
Proteobacteria	3	2,31 %	17	22,08 %
Actinobacteria	0	0,00 %	2	2,60 %
Ascomycota	0	0,00 %	2	2,60 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

Bylo identifikováno celkem 23 pozitivních nálezů u dětí po SC a 50 u novorozenců po VP. Ve vstupních stěrech z oblasti krk-nos byla dosažena statistická hladina významnosti $p < 0,001$ u kmenů Firmicutes a Proteobacteria. I přes zjištěné rozdíly byl Firmicutes dominantním kmenem u obou skupin.

Tabulka č. 3 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti ucha na úrovni kmenů

Ucho – bakteriální kmen	SC (n=130)		Vaginální porod (n=77)	
	n	%	n	%
Firmicutes	23	17,69 %	31	40,26 %
Proteobacteria	1	0,77 %	18	23,38 %
Actinobacteria	1	0,77 %	3	3,90 %
Ascomycota	1	0,77 %	2	2,60 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

V první skupině, tedy ve skupině dětí po SC, bylo detekováno celkem 26 pozitivních nálezů. Ve druhé skupině bylo hlášeno 54 pozitivních nálezů. Rovněž v tomto odběru byl zaznamenán významný rozdíl v množství bakteriálních kmenů Firmicutes a Proteobacteria ($p < 0,001$) a dominance kmene Firmicutes.

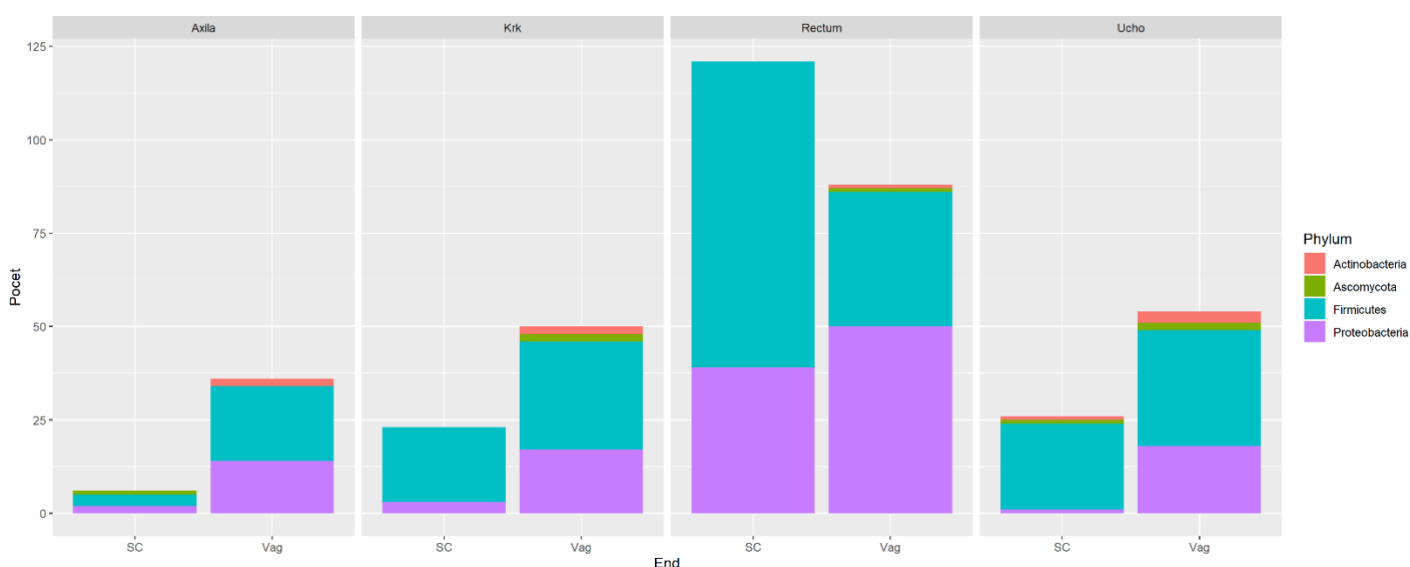
Tabulka č. 4 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti rekta na úrovni kmenů

Rektum – bakteriální kmen	SC (n=130)		Vaginální porod (n=77)	
	n	%	n	%
Firmicutes	82	63,08 %	36	46,75 %
Proteobacteria	39	30,00 %	50	64,94 %
Actinobacteria	0	0,00 %	2	2,60 %
Ascomycota	0	0,00 %	1	1,30 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

Celkem bylo hlášeno ve skupině po SC 121 pozitivních vzorků, ve druhé skupině 89. U bakteriálního kmene Firmicutes byl dosažen významný rozdíl ($p=0,317$) v podílech pozitivních a negativních nálezů při porovnání výzkumných skupin. Obdobně tomu bylo také u kmene Proteobacteria, kdy byla hodnota $p < 0,001$. V tomto stěru je pozorována také rozdílnost v dominanci kmenů.

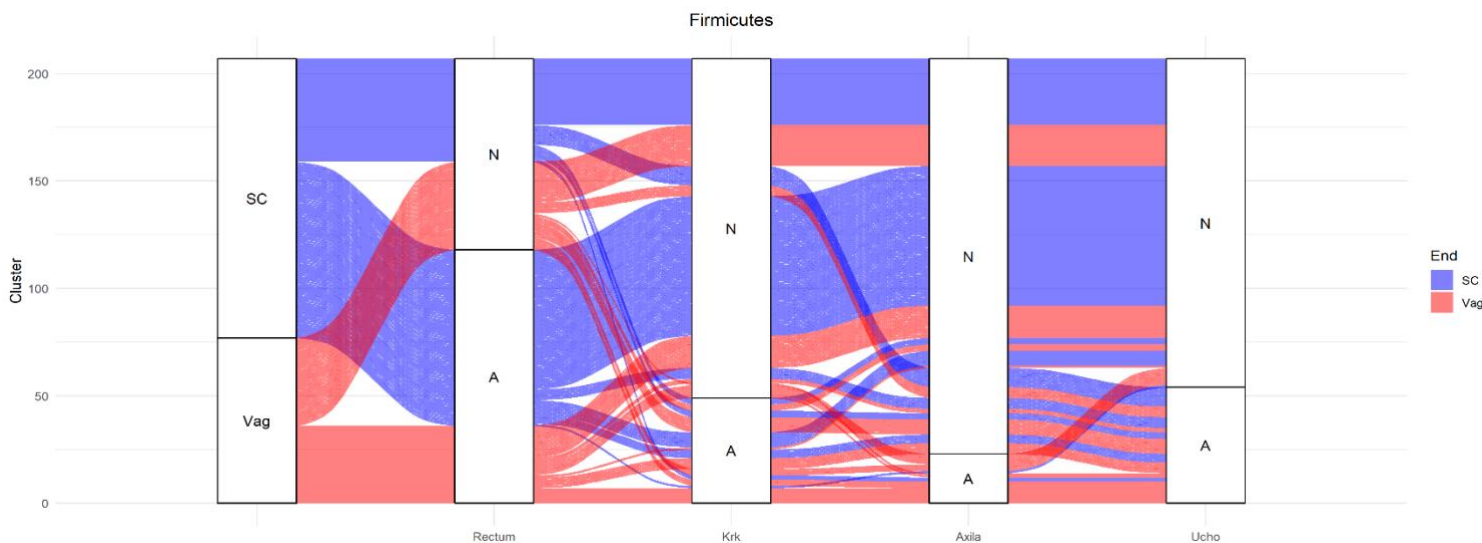
Graf č. 1 - Srovnání pozitivních nálezů ve vstupních stěrech na úrovni kmenů



Vysvětlivky: číselná hodnota – počet pozitivních nálezů, SC – císařský řez, Vag – vaginální porod, % - procenta

Grafické zobrazení porovnává pozitivní nálezy na úrovni kmenů jednotlivých výzkumných skupin. Číselné označení grafu vlevo označuje celkový počet pozitivních nálezů, nikoli podíl pozitivních nálezů k negativním. Proto je nutné zdůraznit, že skupinu dětí po císařském řezu tvořilo 130 novorozenců, po vaginálním porodu 77 novorozenců. Dominovaly zejména kmeny Firmicutes a Proteobacteria.

Graf č. 2 - Zobrazení nálezů kmene Firmicutes ve vstupních stěrech novorozenců rozdělených dle způsobu porodu



Vysvětlivky: SC – porod císařským řezem, Vag – vaginální porod, N – kmen v daném odběru nepřítomen, A – kmen v daném odběru přítomen, 24 h – první den života, 7d – první týden života, 1 m – první měsíc života, číselná hodnota – počet vzorků

Graf zobrazuje nálezy kmene Firmicutes ve všech vstupních vzorcích. Tento kmen byl považován za nejhojnější.

Závěr:

Ve všech vstupních stěrech byl nalezen vyšší podíl pozitivních nálezů na úrovni kmenů u novorozenců po VP. Rozdíl nebyl nalezen pouze v celkovém množství přítomných bakterií, ale také v dominanci jednotlivých kmenů. U obou výzkumných skupin byl ve stěrech krk-nos, axila a ucho kmen Firmicutes popsán za nejhojnější. Ve stěrech z rekta u dětí po SC dominoval kmen Firmicutes (63,08 %), zatímco u druhé skupiny to byl Proteobacteria (64,94 %). Na základě zjištěných informací se zamítá hypotéza H01 ve prospěch HA1.

Statistická hypotéza č. 2:

H02 Neexistuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a skladbou mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni rodů.

HA2 Existuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a skladbou mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni rodů.

Ověření platnosti hypotézy

Ověření platnosti této hypotézy je shodné s hypotézou č. 1 pouze s tím rozdílem, že je zkoumána na úrovni rodů.

Tabulka č. 5 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti axily na úrovni rodů

Axila – bakteriální rod	SC (n=130)		Vaginální porod (n=77)	
	n	%	n	%
Staphylococcus	1	0,77 %	19	24,68 %
Streptococcus	0	0,00 %	2	2,60 %
Enterobacter	0	0,00 %	1	1,30 %
Klebsiella	0	0,00 %	2	2,60 %
Escherichia	1	0,77 %	11	14,29 %
Corynebacterium	0	0,00 %	2	2,60 %
Enterococcus	2	1,54 %	0	0,00 %
Haemophilus	1	0,77 %	0	0,00 %
Candida	1	0,77 %	0	0,00 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

Množství detekovaných mikroorganismů ve stěrech z axily bylo jednoznačně vyšší u dětí po VP. U dané skupiny dominoval rod Staphylococcus (24,7 %). U dětí po SC byl celkově nízký počet pozitivních nálezů, proto nelze jednoznačně určit dominantní rod. Statistický významný rozdíl mezi výzkumnými skupinami byl v rodech Escherichia a Staphylococcus, kdy $p < 0,001$.

Tabulka č. 6 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti krk-nos na úrovni rodů

Krk – bakteriální rod	SC (n=130)		Vaginální porod (n=77)	
	n	%	n	%
Staphylococcus	17	13,08 %	26	33,77 %
Enterococcus	4	3,08 %	3	3,90 %
Streptococcus	0	0,00 %	1	1,30 %
Klebsiella	0	0,00 %	3	3,90 %
Escherichia	0	0,00 %	14	18,18 %
Candida	0	0,00 %	2	2,60 %
Corynebacterium	0	0,00 %	2	2,60 %
Haemophilus	1	0,77 %	0	0,00 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

Ve vstupních stěrech z oblasti krk-nos byl u obou skupin dětí dominantním rodem *Staphylococcus*. Byl detekován významný rozdíl v různorodosti identifikovaných rodů, kdy se u dětí po SC vyskytovaly pouze 3 rody, kdežto u druhé skupiny 7 rodů. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn u dominantního rodu *Staphylococcus* a dále *Escherichia*, kdy byl v obou případech hodnocen jako statisticky významný ($p < 0,001$).

Tabulka č. 7 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti ucha na úrovni rodů

Ucho – bakteriální rod	SC (n=130)		Vaginální porod (n=77)	
	n	%	n	%
Lactobacillus	0	0,00 %	1	1,30 %
Staphylococcus	19	14,62 %	27	35,06 %
Enterococcus	4	3,08 %	0	0,00 %
Streptococcus	0	0,00 %	3	3,90 %
Klebsiella	0	0,00 %	5	6,49 %
Escherichia	0	0,00 %	12	15,6 %
Enterobacter	0	0,00 %	1	1,30 %
Candida	1	0,77 %	2	2,60 %
Corynebacterium	0	0,00 %	3	3,90 %
Haemophilus	1	0,77 %	0	0,00 %
Micrococcus	1	0,77 %	0	0,00 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

U novorozenců po vaginálním způsobu porodu byla popsána vyšší různorodost přítomných mikroorganismů. Dominantním rodem byl u obou skupin *Staphylococcus*,

i přes to byl u něj popsán statisticky významný rozdíl v podílech pozitivních vzorků ($p=0,001$). Významný rozdíl byl nalezen také u rodů *Klebsiella* ($p=0,007$) a *Escherichia* ($p < 0,001$).

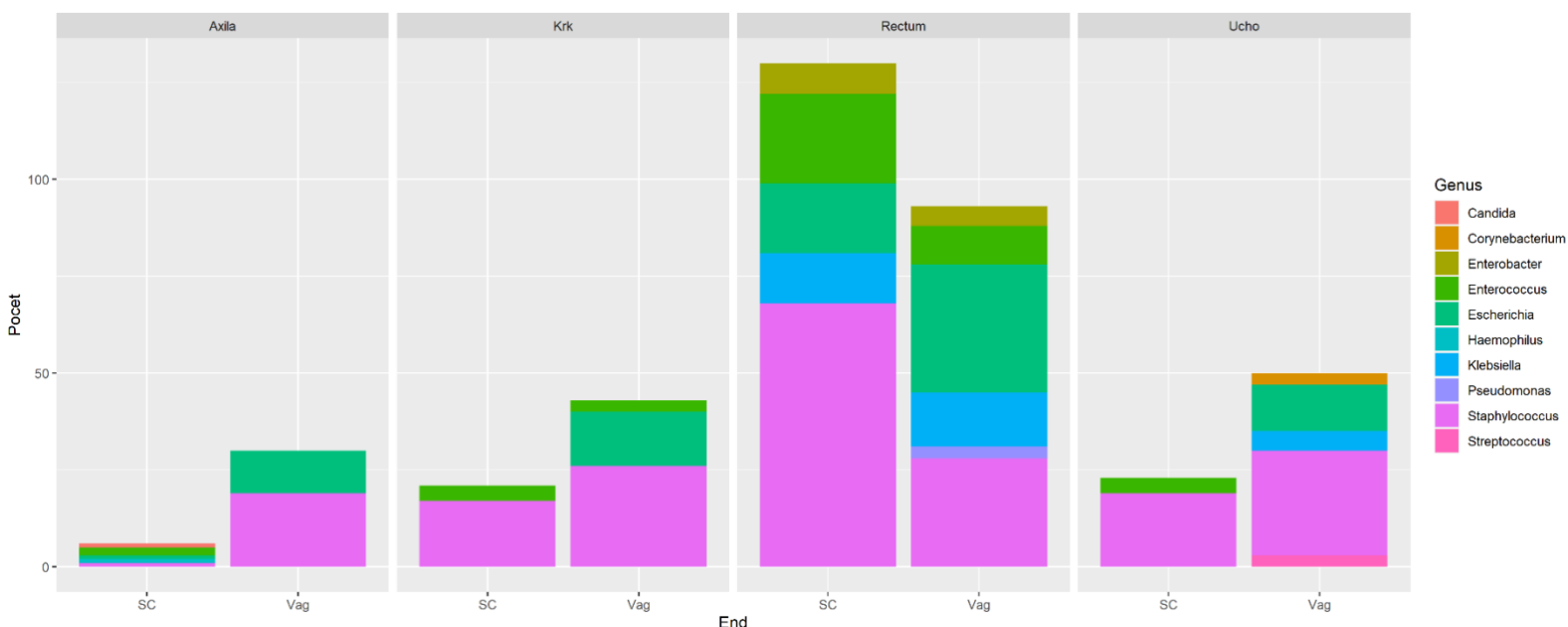
Tabulka č. 8 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti rekta na úrovni rodů

Rectum – bakteriální rod	SC (n=130)		Vaginální porod (n=77)	
	n	%	n	%
Staphylococcus	68	52,31 %	28	36,36 %
Enterococcus	23	17,69 %	10	12,99 %
Streptococcus	1	0,77 %	1	1,30 %
Bacillus	1	0,77 %	0	0,00 %
Escherichia	18	13,85 %	33	42,86 %
Enterobacter	8	6,15 %	5	6,49 %
Klebsiella	13	10,00 %	14	18,18 %
Pseudomonas	0	0,00 %	3	3,90 %
Serratia	2	1,54 %	2	2,60 %
Citrobacter	1	0,77 %	2	2,60 %
Candida	0	0,00 %	1	1,30 %
Corynebacterium	0	0,00 %	2	2,60 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

Rectum bylo nejosídlenější a nejrozmanitější oblastí u obou skupin. Nejhojnějším rodem u novorozenců po SC byl *Staphylococcus* (52,31 %), jež byl následován rodem *Enterococcus* (17,69 %). U dětí po VP dominoval na prvním místě rod *Escherichia* (42,86 %), na druhém *Staphylococcus* (36,36 %). U obou rodů byl popsán statisticky významný rozdíl ($p=0,038$ pro *Staphylococcus*, $p < 0,001$ pro *Escherichia*).

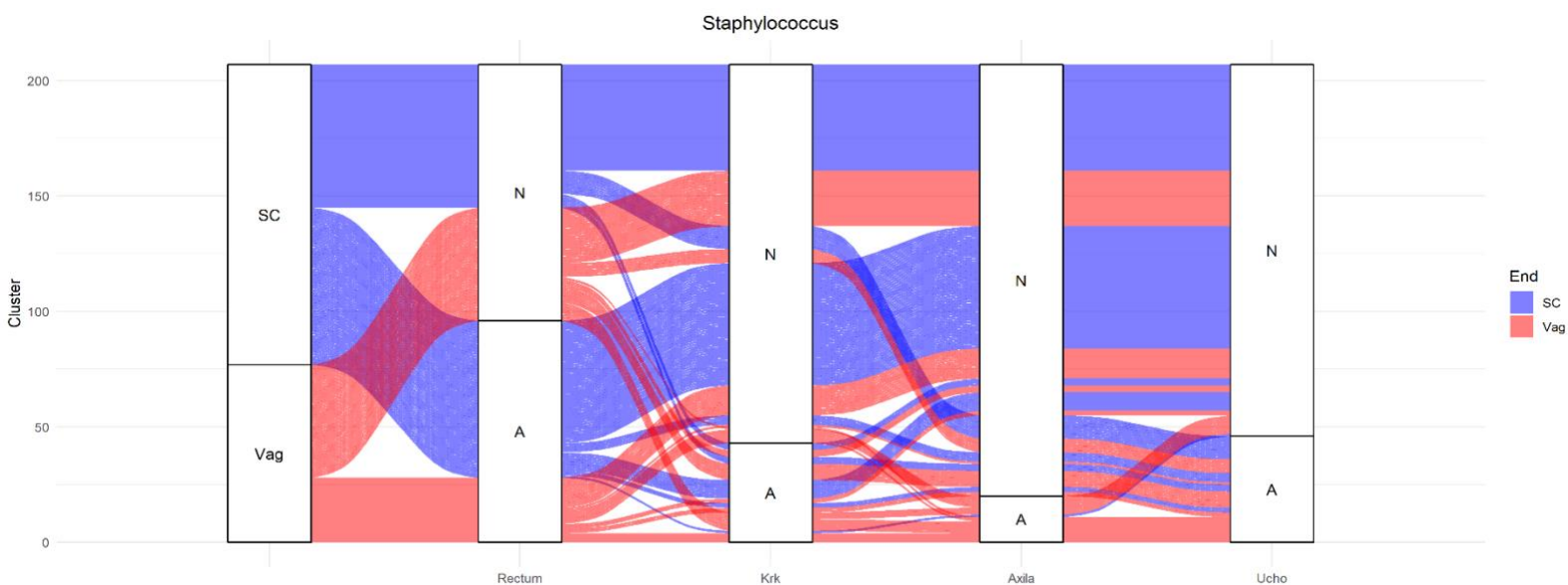
Graf č. 3 - Srovnání pozitivních nálezů vstupních stěrů novorozenců rozdělených dle způsobu porodu na úrovni rodů



Vysvětlivky: číselná hodnota – počet pozitivních nálezů, SC – císařský řez, Vag – vaginální porod, % - procenta

Graf prezentuje komparaci identifikovaných pozitivních nálezů ve vstupních stěrech na úrovni rodů. Vyšší četnost nálezů byla ve stěrech z ucha, krk-nos a axily identifikována u skupiny dětí po VP i přes nižší počet participantů této skupiny. Ve většině vzorků převažoval rod *Staphylococcus*.

Graf č. 4 - Zobrazení výskytu bakteriálního rodu *Staphylococcus* ve vstupních stěrech novorozenců rozdělených dle způsobu porodu



Vysvětlivky: SC – porod císařským řezem, Vag – vaginální porod, N – kmen v daném odběru nepřítomen, A – kmen v daném odběru přítomen, 24 h – první den života, 7d – první týden života, 1 m – první měsíc života, číselná hodnota – počet vzorků

Graf informuje o nálezech nejhojněji zastoupeného rodu ve vstupních stěrech.

Závěr

Z uvedených dat vyplývá, že mikrobiální osídlení novorozence v rámci daných výzkumných skupin bezprostředně po porodu na úrovni rodů je odlišné. V kožních kultivačních stěrech byl hlášen vyšší podíl pozitivních nálezů u novorozenců po VP, z čehož plyne, že pokožka nezralých novorozenců po VP porodu je časně po porodu více osídlena mikroby než pokožka dětí po SC. Stejný trend byl pozorován také ve stěrech z rekta a krk-nos.

Staphylococcus byl nejhojněji zastoupeným rodem ve všech odběrech, kromě stěru z rekta u dětí po VP. V tomto odběru byl na druhém místě ihned za bakteriálním rodem Escherichia. Na základě výše uvedených informací zamítáme hypotézu H02 ve prospěch HA2.

Statistická hypotéza č. 3:

H03 Neexistuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence během prvního měsíce života na úrovni kmenů.

HA3 Existuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence během prvního měsíce života na úrovni kmenů.

Ověření platnosti hypotézy

Vývoj mikrobiálního osídlení rekta během prvního měsíce života byl zkoumán celkem na 139 novorozencích. Předčasně narozené děti byly rozděleny na dvě skupiny dle způsobu porodu. Skupinu dětí po VP tvořilo 57 (41,01 %) novorozenců, po SC 82 (58,99 %). Během prvních 4 týdnů života byly předmětem zkoumání celkem 3 kultivační stěry. První byl odebrán během prvních 24 hodin života, druhý cca 7. den života a třetí v době 4 týdnů postnatálního stáří. Komparace získaných dat proběhla v rámci této hypotézy na úrovni kmenů.

Tabulka č. 9 - Mikrobiální osídlení rekta v průběhu prvního měsíce života u novorozenců po VP na úrovni kmenů

VP – bakteriální kmen	24h (n= 57)		1. týden(n=57)		4. týden (n=57)	
	n	%	n	%	n	%
Firmicutes	29	50,88 %	34	59,65 %	33	57,89 %
Proteobacteria	35	61,40 %	44	77,19 %	52	91,23 %
Actinobacteria	1	1,75 %	0	0,00 %	0	0,00 %
Ascomycota	0	0,00 %	1	1,75 %	0	0,00 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

Přítomnost alespoň jednoho ze zkoumaných kmenů byla u předčasně narozených dětí po VP hlášena v prvním zkoumaném odběru celkem 65x, v druhém 79x a ve třetím 85x. Nejhojněji zastoupeným kmenem ve všech odběrech byl bakteriální kmen Proteobacteria, jež měl v průběhu celého zkoumání rostoucí tendenci. Druhým nejpočetnějším kmenem byl Firmicutes, jehož množství bylo po celou dobu relativně stabilní a vyskytoval se v průměru u 56,14 % novorozenců. Ojedinele byly identifikované také kmeny Actinobacteria a Ascomycota.

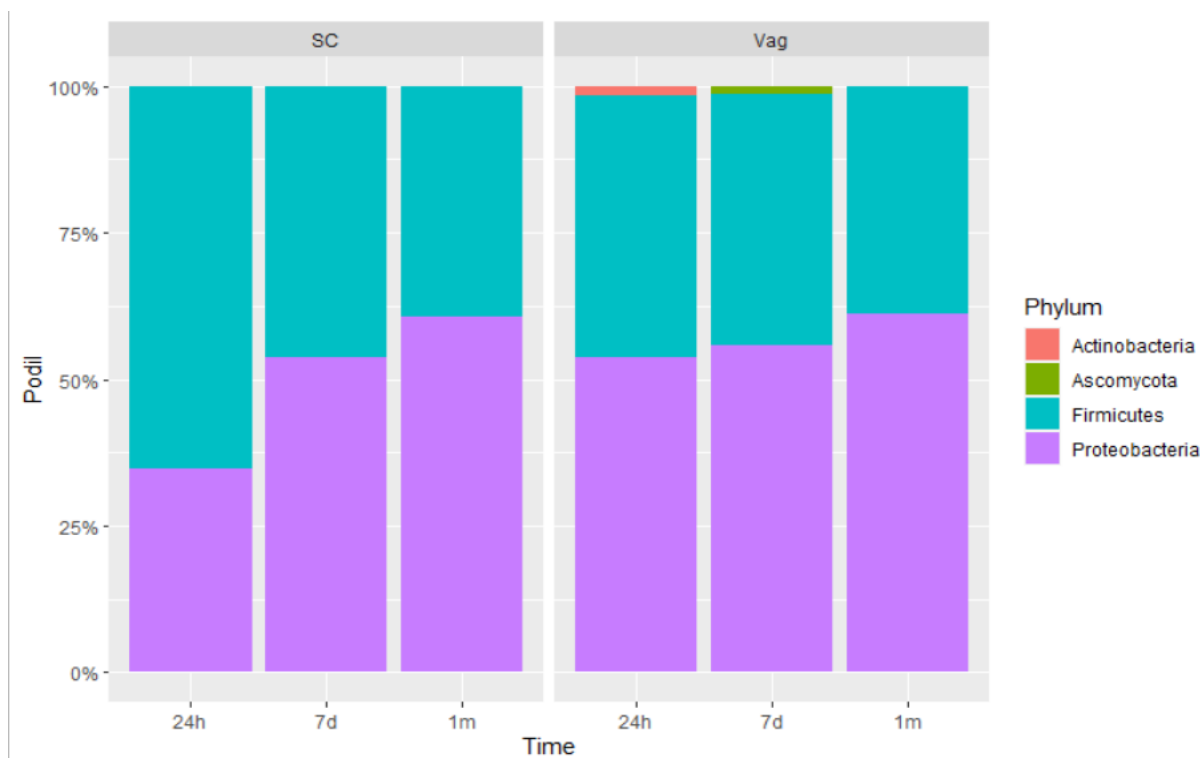
Tabulka č. 10 - Mikrobiální osídlení rekta v průběhu prvního měsíce života u novorozenců po SC na úrovni kmenů

SC – bakteriální kmen	24h (n= 82)		1. týden(n=82)		4. týden (n=82)	
	n	%	n	%	n	%
Firmicutes	49	59,76 %	44	53,66 %	44	53,66 %
Proteobacteria	26	31,71 %	51	62,20 %	68	82,93 %
Actinobacteria	0	0,00 %	0	0,00 %	0	0,00 %
Ascomycota	0	0,00 %	0	0,00 %	0	0,00 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

Celkový souhrn pozitivních nálezů na úrovni kmenů činil v prvních 24 hodinách života 75, první týden 95 a na konci prvního měsíce 112 u nezralých dětí po SC. V prvním odběru dominoval kmen Firmicutes, v následujícím první místo přebíral kmen Proteobacteria. Obdobně jako u předchozí skupiny vykazoval kmen Proteobacteria rostoucí tendenci po celou dobu prvního měsíce života. Firmicutes si opět držel relativně stálou hodnotu a vyskytoval se průměrně u více než poloviny novorozenců. Jiné kmeny v odebraných vzorcích popsány nebyly.

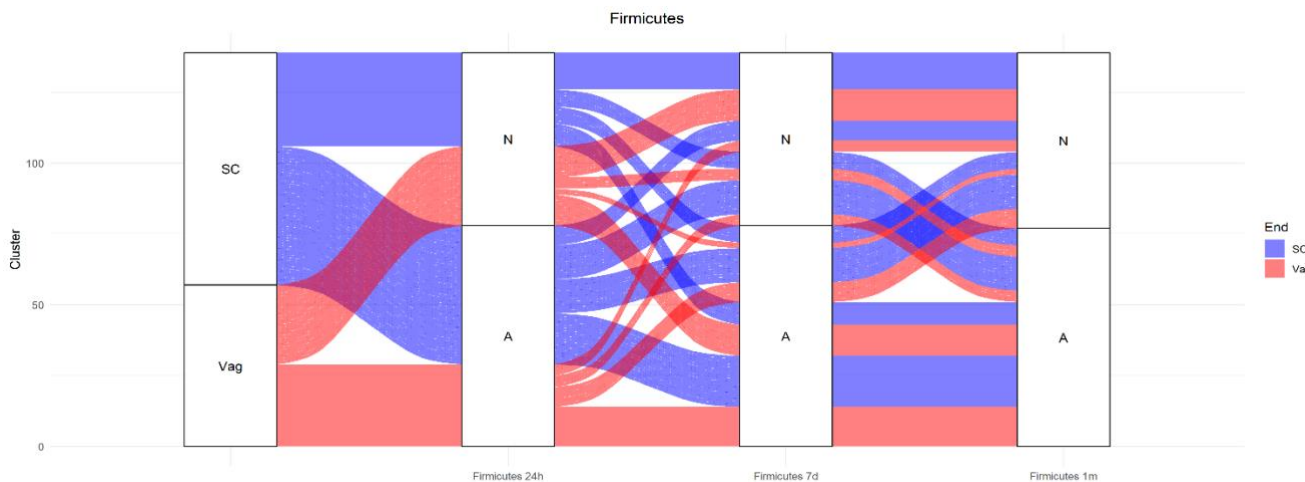
Graf č.4 - Podíly jednotlivých kmenů na celkovém počtu pozitivních nálezů v daném čase a způsobu porodu



Vysvětlivky: SC – porod císařským řezem, Vag – vaginální porod, 24 h – odběr z prvního dne života, 7 d – odběr ze cca 7. dne života, 1m – odběr z 1 měsíce života, % - procentuální podíl pozitivních nálezů

Graf představuje komparaci pozitivních nálezů v daném čase a způsobu porodu na úrovni kmenů. Statisticky významný rozdíl byl identifikován pouze v prvním odběru, kde došlo k rozdílnému množství kmene Proteobacteria ($p < 0,001$).

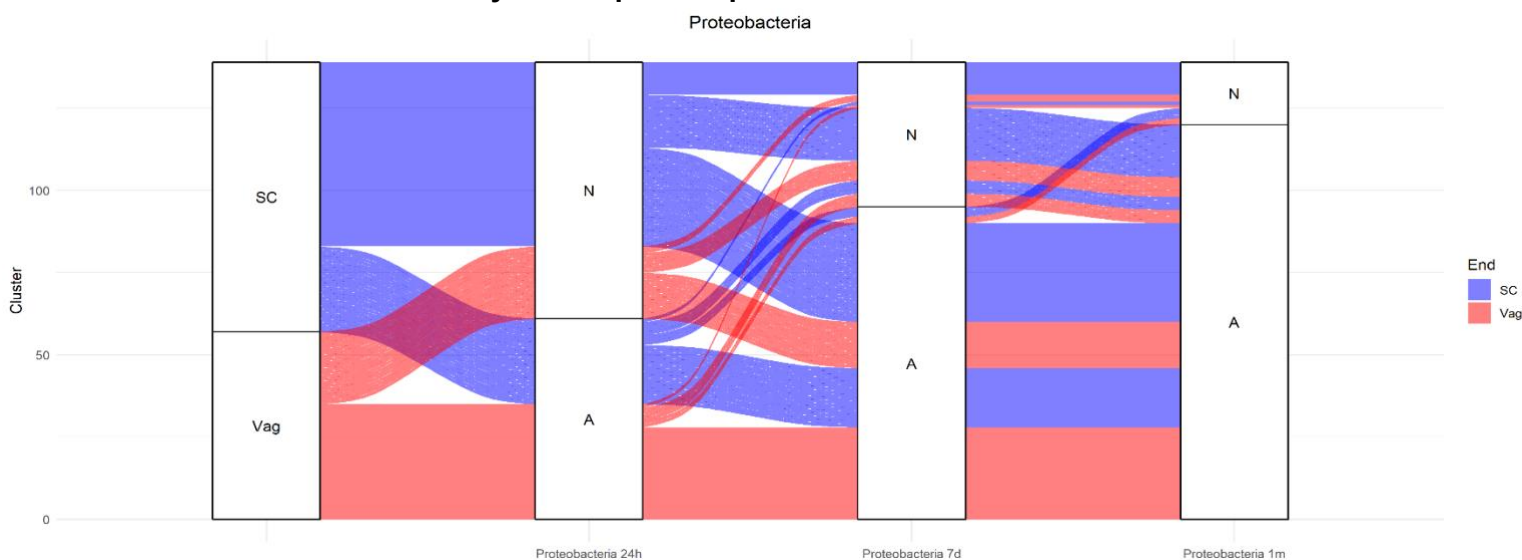
Graf č. 5 - Zobrazení vývoje kmene Firmicutes v průběhu prvního měsíce života novorozenců rozdělených dle způsobu porodu



Vysvětlivky: SC – porod císařským řezem, Vag – vaginální porod, N – kmen v daném odběru nepřítomen, A – kmen v daném odběru přítomen, 24 h – první den života, 7 d – první týden života, 1 m – první měsíc života, číselná hodnota – počet vzorků

Mikrobiální kmen Firmicutes byl u dětí po VP zastoupen v prvním zkoumaném odběru v 50,88 %, ve druhém v 59,65 % a ve třetím 57,89 %. U druhé skupiny nezralých novorozenců bylo zastoupení tohoto kmene následující: 1. den života - 59,76 %, 1. týden - 53,66 %, 4. týden - 53,66 %. Procentuální zastoupení tohoto kmene bylo tak u obou skupin obdobné po celou dobu výzkumného šetření.

Graf č. 6 - Zobrazení vývoje kmene Proteobacteria v průběhu prvního měsíce života novorozenců rozdělených dle způsobu porodu



Vysvětlivky: SC – porod císařským řezem, Vag – vaginální porod, N – kmen v daném odběru nepřítomen, A – kmen v daném odběru přítomen, 24 h – první den života, 7 d – první týden života, 1 m – první měsíc života, číselná hodnota – počet vzorků

Kmen Proteobacteria byl první den života přítomen u 61,40 % nezralých novorozenců po VP, dále u 77,19 % a na konci prvního měsíce u 91,23 % novorozenců dané skupiny. Ve skupině dětí po SC byl v prvním odběru popsán u 31,71 % novorozenců, v druhém u 62,20 % a ve třetím u 82,93 %. Z uvedených dat vyplývá, že u obou výzkumných skupin vykazoval daný rod rostoucí tendenci v čase.

Závěr

Během zkoumání vývoje mikrobiálního osídlení rekta novorozenců po rozdílných způsobech porodu byl nalezen statisticky významný rozdíl pouze v odběru provedeném první den života, tedy bezprostředně po porodu. V následujících odběrech další významné rozdíly detekované nebyly. U obou výzkumných skupin byla popsána relativně stabilní hodnota kmene Firmicutes. U kmene Proteobacteria byl v obou případech pozorován rostoucí trend. Na základě zjištěných dat, kdy byl zkoumán vývoj během celého prvního měsíce života zamítáme hypotézu HA3 ve prospěch H03.

Statistická hypotéza č. 4:

H04 Neexistuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence během prvního měsíce života na úrovni rodů.

HA4 Existuje signifikantní vztah mezi způsobem porodu a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence během prvního měsíce života na úrovni rodů.

Ověření platnosti hypotézy

Hypotéza vychází z předchozí hypotézy č. 3. Deskripce a komparace proběhla na úrovni rodů.

Tabulka č. 11 - Mikrobiální osídlení rekta v průběhu prvního měsíce života u novorozenců po VP na úrovni rodů

VP – bakteriální rod	24h (n= 57)		1. Týden (n=57)		4. týden (n= 57)	
	n	%	n	%	n	%
Staphylococcus	23	40,35 %	16	28,07 %	6	10,53 %
Enterococcus	8	14,04 %	21	36,84 %	30	52,63 %
Streptococcus	0	0,00 %	0	0,00 %	1	1,75 %
Escherichia	23	40,35 %	28	49,12 %	36	63,16 %
Enterobacter	0	0,00 %	8	14,04 %	7	12,28 %
Klebsiella	10	17,54 %	7	12,28 %	21	36,84 %
Pseudomonas	2	3,51 %	2	3,51 %	4	7,02 %
Serratia	2	3,51 %	0	0,00 %	0	0,00 %
Citrobacter	1	1,75 %	1	1,75 %	1	1,75 %
Corynebacterium	1	1,75 %	0	0,00 %	0	0,00 %
Candida	0	0,00 %	1	1,75 %	0	0,00 %
Acinetobacter	0	0,00 %	1	1,75 %	0	0,00 %
Raoultella	0	0,00 %	2	3,51 %	1	1,75 %
Proteus	0	0,00 %	0	0,00 %	1	1,75 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

Na úrovni rodů bylo u výzkumné skupiny dětí po VP hlášeno v prvním odběru celkem 70 pozitivních nálezů, v druhém 87 a třetím 108. První den života byly dominantními rody *Staphylococcus* a *Escherichia*, kdy byly oba popsány u 40,35 % novorozenců. Zhruba 7. den života nadále převažoval rod *Escherichia* (49,12 %) spolu s rodem *Enterococcus* (36,84 %). Na konci prvního měsíce života dále dominoval rod *Escherichia* (63,16 %), na druhém místě byl *Enterococcus* (52,63 %), na třetím

Klebsiella (36,84 %). Se zvyšujícím se stářím novorozence se zvyšovalo nejen množství přítomných mikroorganismů, ale také jejich rodová různorodost.

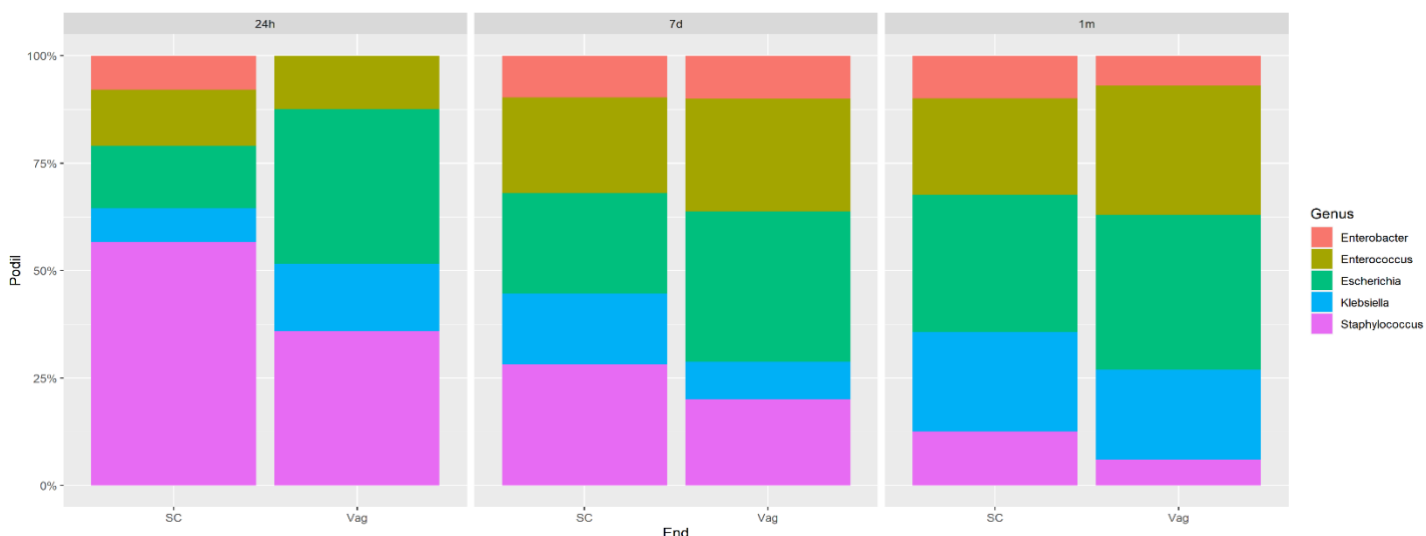
Tabulka č. 12 - Mikrobiální osídlení rektu v průběhu prvního měsíce života u novorozenců po SC na úrovni rodů

SC – bakteriální rod	24h (n= 82)		1. týden (n=82)		4. týden (n= 82)	
	n	%	n	%	n	%
Staphylococcus	43	52,44 %	29	35,37 %	19	23,17 %
Enterococcus	10	12,20 %	23	28,05 %	34	41,46 %
Streptococcus	1	1,22 %	4	4,88 %	0	0,00 %
Bacillus	1	1,22 %	0	0,00 %	0	0,00 %
Escherichia	11	13,41 %	24	29,27 %	48	58,54 %
Enterobacter	6	7,32 %	10	12,20 %	15	18,29 %
Klebsiella	6	7,32 %	17	20,73 %	35	42,68 %
Pseudomonas	0	0,00 %	2	2,44 %	0	0,00 %
Serratia	2	2,44 %	4	4,88 %	4	4,88 %
Citrobacter	1	1,22 %	0	0,00 %	2	2,44 %
Acinetobacter	0	0,00 %	1	1,22 %	0	0,00 %
Raoultella	0	0,00 %	1	1,22 %	1	1,22 %
Pluralibacter	0	0,00 %	0	0,00 %	1	1,22 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

První den života bylo identifikováno celkem 81 pozitivních nálezů na úrovni rodů u dětí po SC. První týden života 115 pozitivních nálezů, 4. týden 159. V prvním odběru dominoval rod *Staphylococcus*, jež byl přítomen u 52,44 % novorozenců. V druhém odběru jeho množství pokleslo na 35,37 %, ale i přesto byl nadále převažujícím rodem. Ve třetím odběru byl za dominantní rod popsán *Escherichia* (58,54 %), za ním následoval *Klebsiella* (42,68 %) a *Enterococcus* (41,46 %). Množství *Staphylococcus* pokleslo na 23,17 %. Obdobně jako u druhé výzkumné skupiny, také u dětí po SC je pozorován rostoucí trend pozitivních nálezů v závislosti v čase. Zvyšuje se také rozmanitost detekovaných rodů.

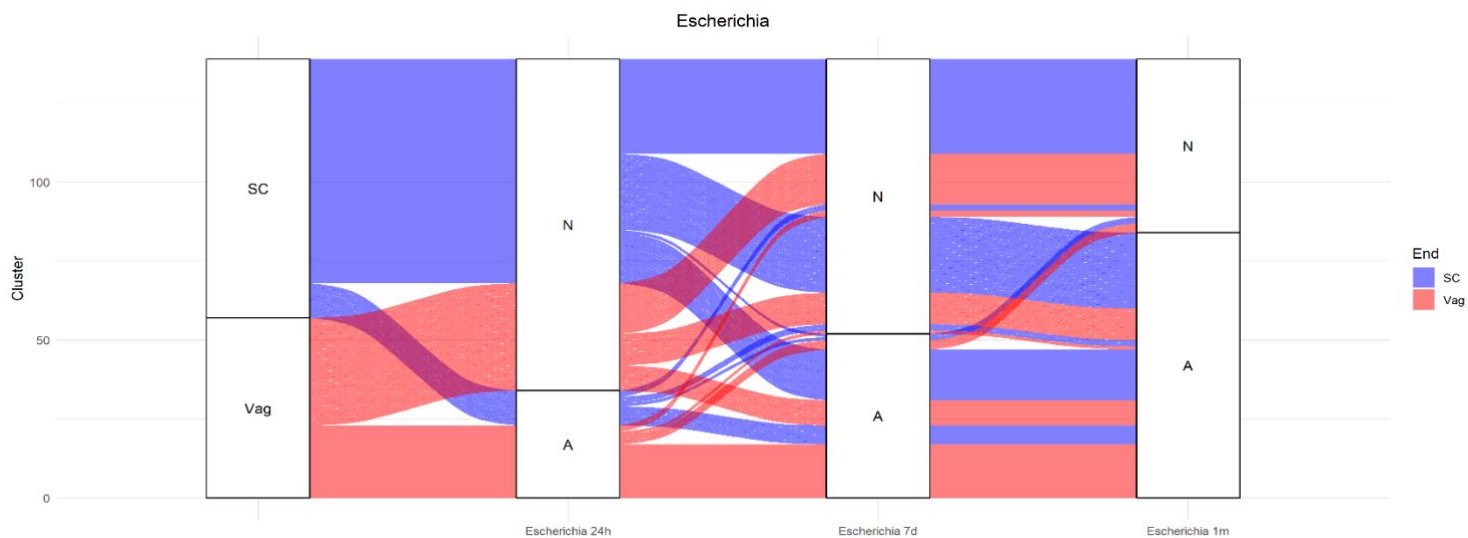
Graf č. 7 - Komparace pozitivních nálezů 5 nejčastěji nalezených bakteriálních rodů u výzkumných skupin rozdělených dle způsobu porodu v daném čase



Vysvětlivky: SC – porod císařským řezem, Vag – vaginální porod, 24 h – odběr z prvního dne života, 7 d – odběr ze cca 7. dne života, 1m – odběr z 1 měsíce života, % -procentuální podíl pozitivních nálezů

První den života byl popsán statistický významný rozdíl v množství rodu *Escherichia* ($p < 0,001$). Rozdíl u daného rodu přetrvával také v prvním týdnu života ($p = 0,028$). V kultivačních stěrech odebraných na konci prvního měsíce života nebyl nalezen žádný statisticky významný rozdíl mezi výzkumnými skupinami.

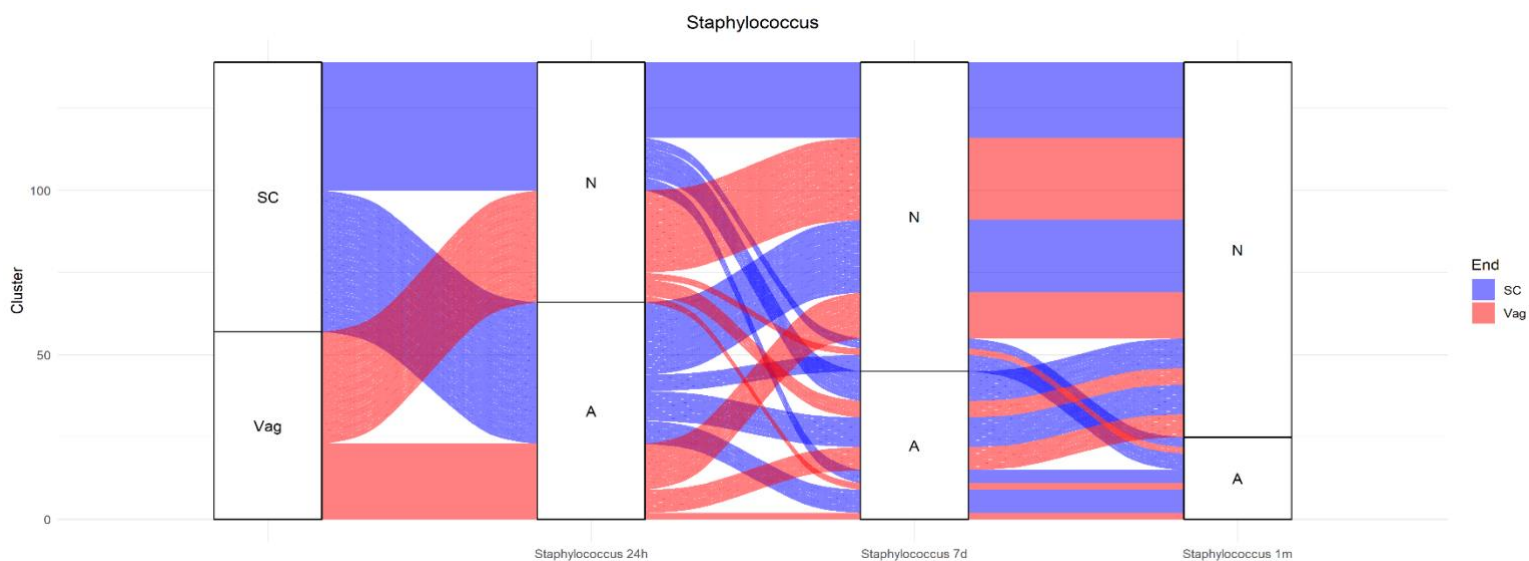
Graf č. 8 - Zobrazení vývoje rodu *Escherichia* v průběhu prvního měsíce života novorozenců rozdělených dle způsobu porodu



Vysvětlivky: SC – porod císařským řezem, Vag – vaginální porod, N – kmen v daném odběru nepřítomen, A – kmen v daném odběru přítomen, 24 h – první den života, 7 d – první týden života, 1 m – první měsíc života, číselná hodnota – počet vzorků

Pozitivní nálezy rodu *Escherichia* byly ve skupině dětí po VP následující: 1. den života - 40,35 %, 7. den života - 49,12 %, 1. měsíc života - 63,16 %. U dětí po SC byly pozitivní nálezy v jednotlivých odběrech s rostoucím stářím novorozence v následujícím pořadí: 13,41 %; 29,27 %; 58,54 %. Opět je u obou skupin novorozenců pozorován vzestupný trend.

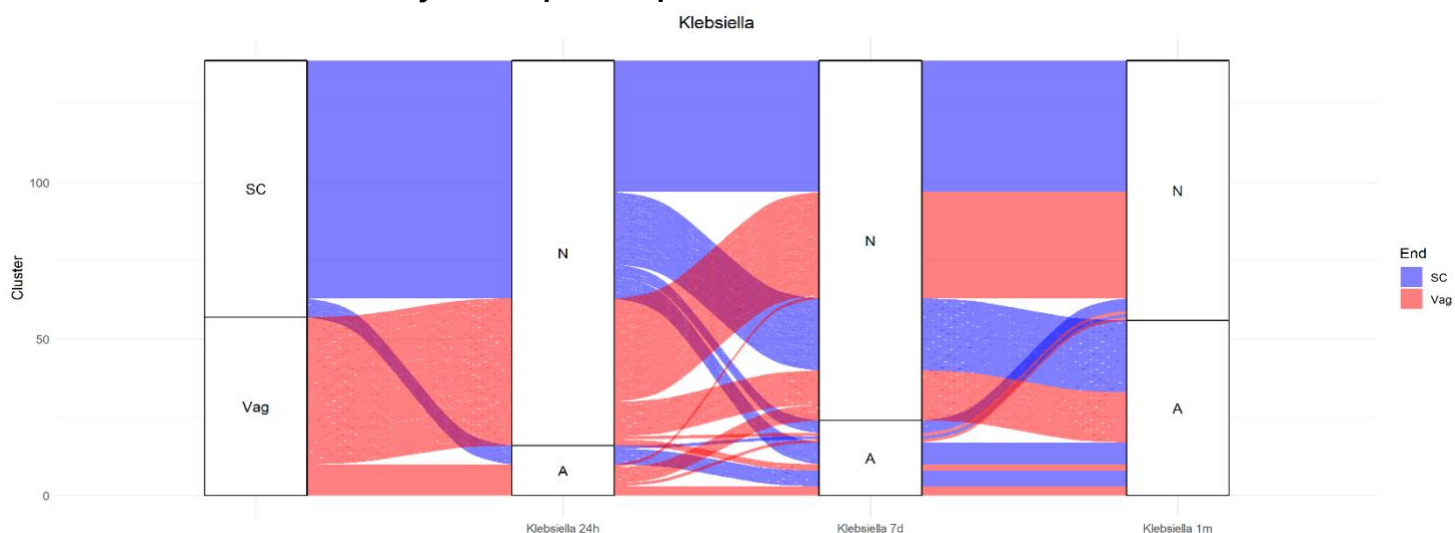
Graf č. 9 - Zobrazení vývoje rodu *Staphylococcus* v průběhu prvního měsíce života novorozenců rozdělených dle způsobu porodu



Vysvětlivky: SC – porod císařským řezem, Vag – vaginální porod, N – kmen v daném odběru nepřítomen, A – kmen v daném odběru přítomen, 24 h – první den života, 7 d – první týden života, 1 m – první měsíc života, číselná hodnota – počet vzorků

Bakteriální rod *Staphylococcus* byl u výzkumných skupin identifikován následovně: 1. den života – SC - 52,44 %, VP - 40,35 %; 7. den života – SC - 35,37 %, VP - 28,07 %; 4. týden života – SC - 23,17 %, VP - 10,53 %. U daného rodu byl v obou výzkumných skupinách pozorován klesající trend se zvyšujícím se postnatálním stářím novorozence.

Graf č. 10 - Zobrazení vývoje rodu *Klebsiella* v průběhu prvního měsíce života novorozenců rozdělených dle způsobu porodu



Vysvětlivky: SC – porod císařským řezem, Vag – vaginální porod, N – kmen v daném odběru nepřítomen, A – kmen v daném odběru přítomen, 24 h – první den života, 7d – první týden života, 1 m – první měsíc života, číselná hodnota – počet vzorků

U novorozenců po vaginálním porodu sice došlo v druhém odběru k poklesu množství rodu *Klebsiella*, nicméně poté došlo k opětovnému růstu. Pokud odhlédneme od první sedmi dnů po porodu, nelze říci, že by byl trend počtu pozitivních nálezů mezi skupinami významně odlišný.

Závěr

V rámci vývoje mikrobiální osídlení rekta na úrovni rodů byl u obou výzkumných skupin pozorován rostoucí trend nejen v množství přítomných mikroorganismů, ale také v rodové rozmanitosti. Byly identifikovány drobné variace v jednotlivých rodech, vývoj mikrobiálního osídlení rekta u obou skupin byl velmi podobný a vykazoval obdobný trend. Hypotézu H04 tedy nemůžeme zamítnout.

Dílčí cíl 2: Zjistit, zda existuje souvislost mezi gestačním věkem a mikrobiálním osídlením potenciálními patogeny nezralého novorozence s porodní hmotností pod 1500 g bezprostředně po porodu a během prvního měsíce života

Statistická hypotéza č. 5:

H05 Neexistuje signifikantní vztah mezi GA a složením mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni kmenů.

HA5 Existuje signifikantní vztah mezi GA a složením mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni kmenů.

Ověření platnosti hypotézy

Byl zvolen soubor 207 novorozenců, kteří byli rozděleni do dvou skupin dle gestačního týdne:

1. Výzkumná skupina novorozenců s gestačním týdnem <29+0: celkem 97 novorozenců (58 = 59,8 % dětí po SC, 39 = 40,2 % dětí po VP).
2. Výzkumná skupina novorozenců s gestačním týdnem ≥29+0: celkem 110 novorozenců (72 = 65,5 % dětí po SC, 38 = 34,5 % dětí po VP).

Opticky sice vypadá, že je ve výzkumných skupinách rozdílný poměr SC:VP, nicméně ze statistického pohledu není tento poměr významný (p=0,486). Dále byly vstupní stěry zkoumány obdobně jako v hypotéze č. 1.

Tabulka č. 13 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA z oblasti axily na úrovni kmenů

Axila – bakteriální kmen	<29+0 (n= 97)		≥ 29+0 (n= 110)	
	n	%	n	%
Firmicutes	16	16,49 %	7	6,36 %
Proteobacteria	8	8,25 %	8	7,27 %
Actinobacteria	1	1,03 %	1	0,91 %
Ascomycota	1	1,03 %	0	0,00 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

Ve vstupním stěru z axily byl identifikován statisticky významný rozdíl v množství pozitivních nálezů kmene Firmicutes. U skupiny s GA <29+0 jich bylo identifikováno celkem 16 (16,49 %) a u druhé skupiny 7 (6,36 %); p=0,036.

Tabulka č. 14 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA z oblasti krk-nos na úrovni kmenů

Krk – bakteriální kmen	<29+0 (n= 97)		≥ 29+0 (n= 110)	
	n	%	n	%
Firmicutes	22	22,68 %	27	24,55 %
Proteobacteria	11	11,34 %	9	8,18 %
Actinobacteria	0	0,00 %	2	1,82 %
Ascomycota	1	1,03 %	1	0,91 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

V tomto stěru nebyl mezi výzkumnými skupinami identifikován žádný statisticky významný rozdíl. V obou případech dominoval kmen Firmicutes.

Tabulka č. 15 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA z oblasti ucha na úrovni kmenů

Ucho – bakteriální kmen	<29+0 (n= 97)		≥ 29+0 (n= 110)	
	n	%	n	%
Firmicutes	24	24,74 %	30	27,27 %
Proteobacteria	7	7,22 %	12	10,91 %
Actinobacteria	2	2,06 %	2	1,82 %
Ascomycota	2	2,06 %	1	0,91 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

Rovněž v tomto stěru nebyly identifikovány statisticky významné rozdíly v množství pozitivních nálezů. Obdobně jako v ostatních stěrech i zde dominoval kmen Firmicutes u obou výzkumných skupin.

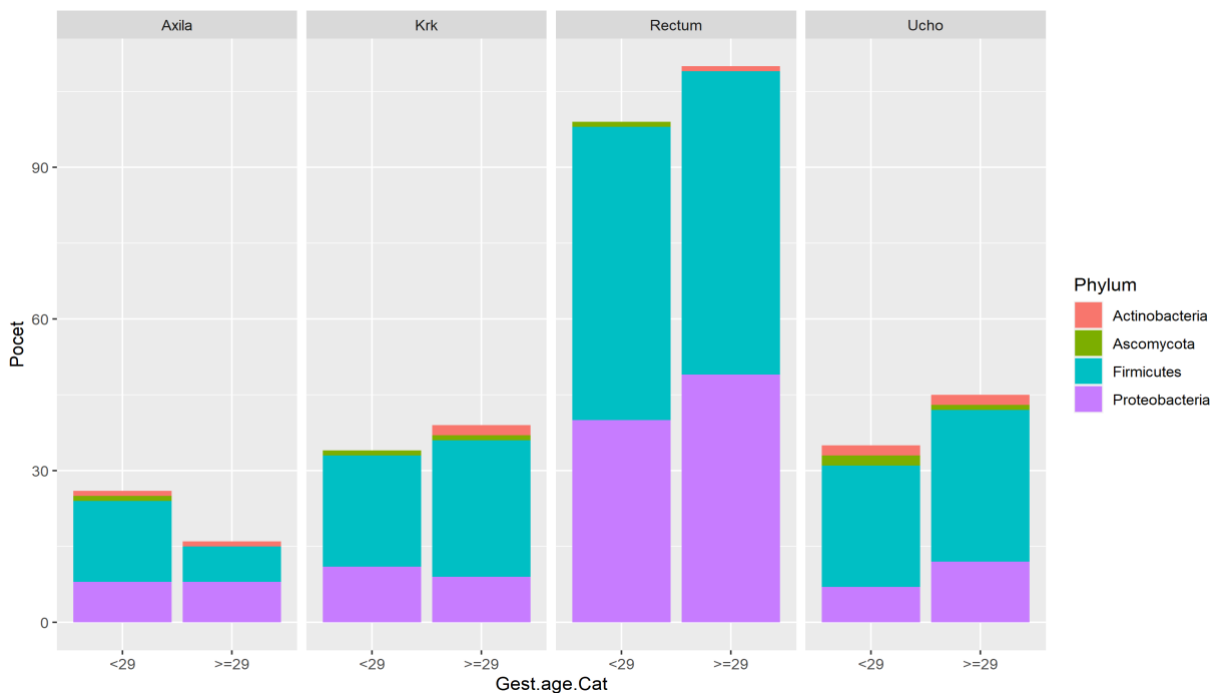
Tabulka č. 16 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA z oblasti rekta na úrovni kmenů

Rektum – bakteriální kmen	<29+0 (n= 97)		≥ 29+0 (n= 110)	
	n	%	n	%
Firmicutes	58	59,79 %	60	54,55 %
Proteobacteria	40	41,24 %	49	44,55 %
Actinobacteria	0	0,00 %	1	0,91 %
Ascomycota	1	1,03 %	0	0,00 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

Vstupní stěry z rekta byly velmi podobné u obou skupin a nebyly tak identifikované žádné statisticky významné rozdíly. U obou skupin dominovaly kmeny Firmicutes a Proteobacteria.

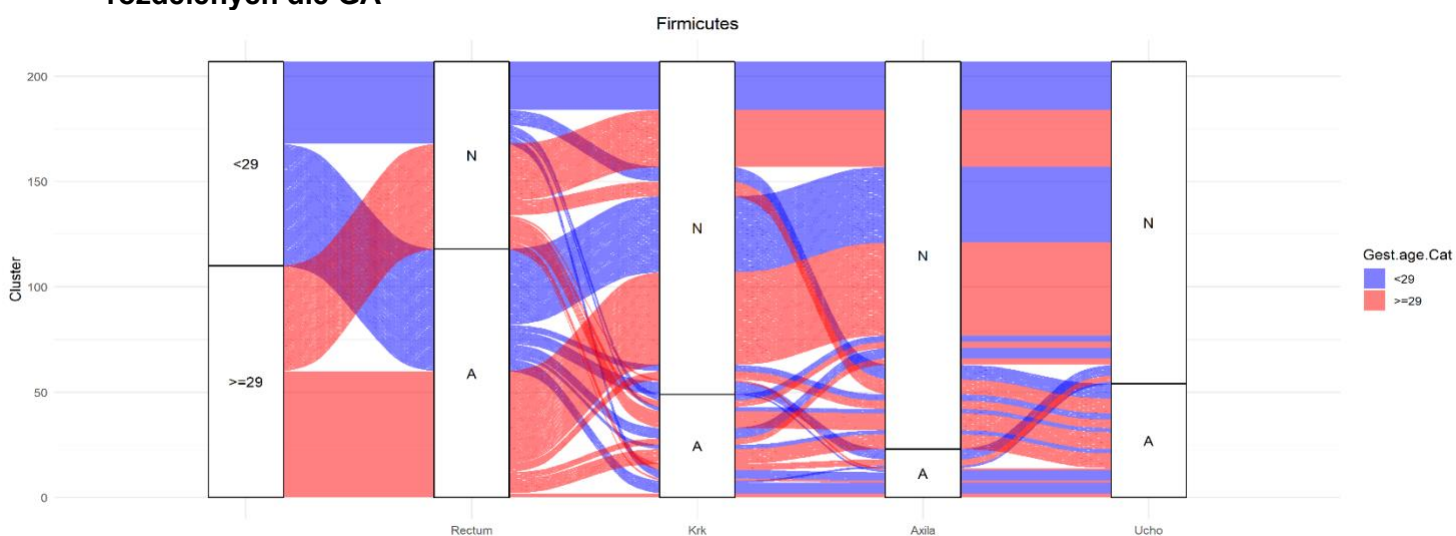
Graf č. 11 - Komparace pozitivních nálezů ve vstupních stěrech u výzkumných skupin rozdělených dle GA na úrovni kmenů



Vysvětlivky: <29 – skupina novorozenců pod 29. týden gestace, >= 29 – skupina novorozenců nad 29. týden gestace, % - procenta

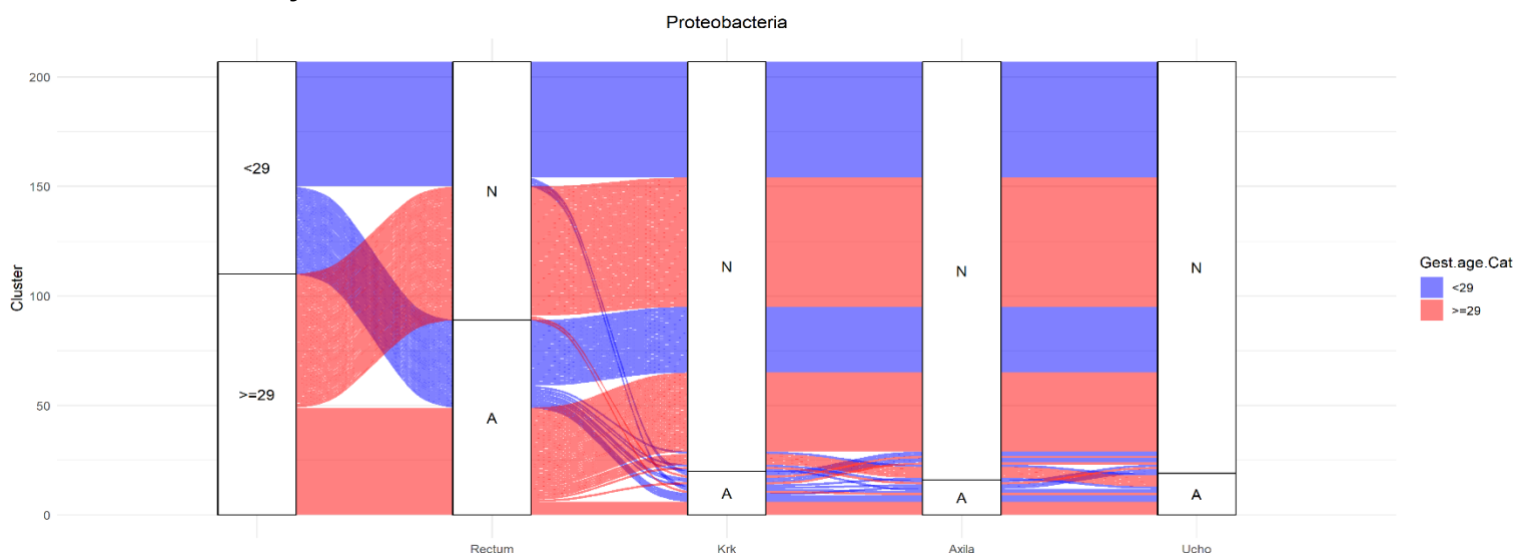
Graf zobrazuje porovnání pozitivních nálezů v rámci jednotlivých výzkumných skupin. Nálezy byly velmi podobné a statisticky významný rozdíl byl popsán pouze u kmene Firmicutes ve stěrech z axily.

Graf č. 12 - Zobrazení nálezů kmene Firmicutes ve vstupních stěrech u novorozenců rozdělených dle GA



Vysvětlivky: <29 – skupina novorozenců s GA <29+0, >= 29 – skupina novorozenců s GA ≥ 29+0, N – kmen v daném odběru nepřítomen, A – kmen v daném odběru přítomen, 24 h – první den života, 7 d – první týden života, 1 m – první měsíc života, číselná hodnota – počet vzorků

Graf č. 13 - Zobrazení nálezů kmene Proteobacteria ve vstupních stěrech u novorozenců rozdělených dle GA



Vysvětlivky: <29 – skupina novorozenců s GA <29+0, >= 29 – skupina novorozenců s GA ≥ 29+0, N – kmen v daném odběru nepřítomen, A – kmen v daném odběru přítomen, 24 h – první den života, 7 d – první týden života, 1 m – první měsíc života, číselná hodnota – počet vzorků

Výše uvedené grafy zobrazují množství pozitivních a negativních nálezů dvou nejhojněji zastoupených kmenů v rámci obou výzkumných skupin.

Závěr

U obou výzkumných skupin obecně dominovaly kmen Firmicutes a Proteobacteria. Pozitivní nálezy kultivačních stěrů byly velmi podobné, statisticky signifikantní rozdíl byl nalezen pouze u jednoho kmene ve stěrech z axily. Na základě těchto informací zamítáme hypotézu H05 ve prospěch HA5.

Statistická hypotéza č. 6:

H06 Neexistuje signifikantní vztah mezi GA a složením mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni rodů.

HA6 Existuje signifikantní vztah mezi GA a složením mikrobiálního osídlení nezralého novorozence bezprostředně po porodu na úrovni rodů.

Ověření platnosti hypotézy

Ověření platnosti této hypotézy vychází z hypotézy č. 5 s tím rozdílem, že její deskripce a komparace proběhla na úrovni rodů.

Tabulka č. 17 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA věku z oblasti axily na úrovni rodů

Axila – bakteriální rod	<29+0 (n= 97)		≥ 29+0 (n= 110)	
	n	%	n	%
Staphylococcus	14	14,43 %	6	5,45 %
Streptococcus	1	1,03 %	1	0,91 %
Enterobacter	0	0,00 %	1	0,91 %
Klebsiella	0	0,00 %	2	1,82 %
Escherichia	7	7,22 %	5	4,55 %
Corynebacterium	1	1,03 %	1	0,91 %
Enterococcus	2	2,06 %	0	0,00 %
Haemophilus	1	1,03 %	0	0,00 %
Candida	1	1,03 %	0	0,00 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

V tomto stěru dominoval u dětí s gestačním týdnem <29+0 bakteriální rod *Staphylococcus* (14,43 %). U druhé skupiny bylo množství detekovaných mikroorganismů nižší, ale nebylo shledáno statisticky významným.

Tabulka č. 18 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA z oblasti krk-nos na úrovni rodů

Krk – bakteriální rod	<29+0 (n= 97)		≥ 29+0 (n= 110)	
	n	%	n	%
Staphylococcus	19	19,59 %	24	21,82 %
Enterococcus	4	4,12 %	3	2,73 %
Streptococcus	0	0,00 %	1	0,91 %
Klebsiella	1	1,03 %	2	1,82 %
Escherichia	7	7,22 %	7	6,36 %
Candida	1	1,03 %	1	0,91 %
Corynebacterium	0	0,00 %	2	1,82 %
Haemophilus	1	1,03 %	0	0,00 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

Ve stěru z místa krk-nos byly pozitivní nálezy u obou skupin obdobné a dominoval opět rod *Staphylococcus*.

Tabulka č. 19 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA z oblasti ucha na úrovni rodů

Ucho – bakteriální rod	<29+0 (n= 97)		≥ 29+0 (n= 110)	
	n	%	n	%
Lactobacillus	1	1,03 %	0	0,00 %
Staphylococcus	18	18,56 %	28	25,45 %
Enterococcus	4	4,12 %	0	0,00 %
Streptococcus	1	1,03 %	2	1,82 %
Klebsiella	0	0,00 %	5	4,55 %
Escherichia	6	6,19 %	6	5,45 %
Enterobacter	0	0,00 %	1	0,91 %
Candida	2	2,06 %	0	0,00 %
Corynebacterium	1	1,03 %	2	1,82 %
Haemophilus	1	1,03 %	0	0,00 %
Micrococcus	1	1,03 %	0	0,00 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

V uchu byl u obou skupin za nejpočetnější rod popsán *Staphylococcus*. Významný rozdíl v podílu pozitivních nálezů byl prokázán pouze u *Enterococcus* ($p=0,047$).

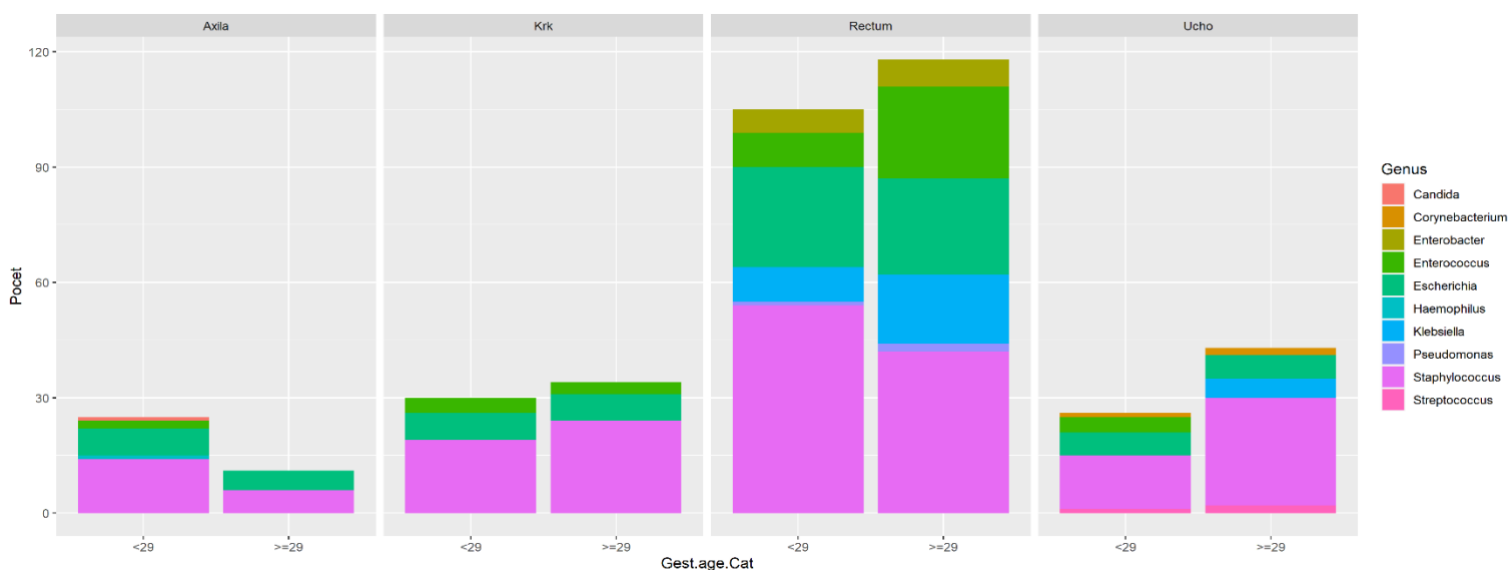
Tabulka č. 20 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA z oblasti rektu na úrovni rodů

Rektum – bakteriální rod	<29+0 (n= 97)		≥ 29+0 (n= 110)	
	n	%	n	%
Staphylococcus	54	55,67 %	42	38,18 %
Enterococcus	9	9,28 %	24	21,82 %
Streptococcus	0	0,00 %	2	1,82 %
Bacillus	0	0,00 %	1	0,91 %
Escherichia	26	26,80 %	25	22,73 %
Enterobacter	6	6,19 %	7	6,36 %
Klebsiella	9	9,28 %	18	16,36 %
Pseudomonas	1	1,03 %	2	1,82 %
Serratia	1	1,03 %	3	2,73 %
Citrobacter	1	1,03 %	2	1,82 %
Candida	1	1,03 %	0	0,00 %
Corynebacterium	0	0,00 %	1	0,91 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

I přes to, že v rektu obou skupin dominoval Staphylococcus, byl u něj zjištěn statisticky významný rozdíl ($p=0,017$) mezi výzkumnými skupinami. Statisticky významný rozdíl byl prokázán také u Enterococcus ($p=0,023$), který převažoval u dětí s vyšším GA.

Graf č.14 - Komparace pozitivních nálezů ve vstupních stěrech u výzkumných skupin rozdělených dle GA na úrovni rodů



Vysvětlivky: <29 – skupina novorozenců pod 29. týden gestace, >= 29 – skupina novorozenců nad 29. týden gestace, % - procenta

Z přiloženého grafu vyplývá, že ve většině odběrů dominoval rod *Staphylococcus*. Mezi další hojně zastoupené rody patří *Escherichia*, *Enterococcus* a *Klebsiella*. V axile bylo hlášeno více pozitivních nálezů u dětí s GA <29+0 (celkem 27), než ve druhé skupině novorozenců (celkem 16), i přesto, že skupina s nižším GA byla tvořena menším souborem novorozenců.

Závěr

Dominantní rod byl ve většině odběrů stejný u obou výzkumných skupin. I přes to však byly identifikovány některé statisticky významné rozdíly v množství a složení pozitivních nálezů mezi výzkumnými skupinami. Na základě těchto dat zamítáme hypotézu H06 ve prospěch HA6.

Statistická hypotéza č. 7:

H07 Neexistuje signifikantní vztah mezi GA a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence v průběhu prvního měsíce života na úrovni kmenů.

HA7 Existuje signifikantní vztah mezi GA a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence v průběhu prvního měsíce života na úrovni kmenů.

Ověření platnosti hypotézy

V rámci této hypotézy byl zkoumán vzorek, který tvořilo celkem 139 nezralých novorozenců. Novorozenci byly rozděleny do dvou výzkumných skupin dle GA:

1. Výzkumná skupina novorozenců s GA <29+0: celkem 80 novorozenců (48 = 60 % dětí po SC, 25 = 40 % dětí po VP).
2. Výzkumná skupina novorozenců s GA ≥ 29+0: celkem 59 novorozenců (34 = 57,63 % dětí po SC, 38 = 42,37 % dětí po VP).

Dané hodnoty GA byly zvoleny tak, aby byl v obou skupinách dostatečný počet participantů pro statistické zpracování dat a zároveň se ve výsledných datech minimalizovat vliv způsobu porodu. Dále byl vývoj mikrobiálního osídlení rekta zkoumán obdobně jako v hypotéze č. 3.

Tabulka č. 21 - Mikrobiální osídlení rekta v průběhu prvního měsíce života u novorozenců s GA <29+0 na úrovni kmenů

<29+0 Bakteriální kmen	24h (n= 80)		1. týden(n=80)		4. týden (n= 80)	
	n	%	n	%	n	%
Firmicutes	45	56,25 %	41	51,25 %	43	53,75 %
Proteobacteria	31	38,75 %	52	65,00 %	64	80,00 %
Actinobacteria	0	0,00 %	0	0,00 %	0	0,00 %
Ascomycota	0	0,00 %	1	1,25 %	0	0,00 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

U výzkumné skupiny dětí s GA <29+0 bezprostředně po porodu jednoznačně dominoval kmen Firmicutes (56,25 %). Během prvního měsíce života si tento kmen udržoval relativně stálou hodnotu. Druhým nejpočetnějším kmene v prvních hodinách po porodu byl Proteobacteria (38,75 %), jehož množství se postupně zvyšovalo a stal se tak dominantním kmenem na konci sledovaného období (80,00 %). Množství pozitivních nálezů v jednotlivých odběrech bylo postupně 76, 94 a 107.

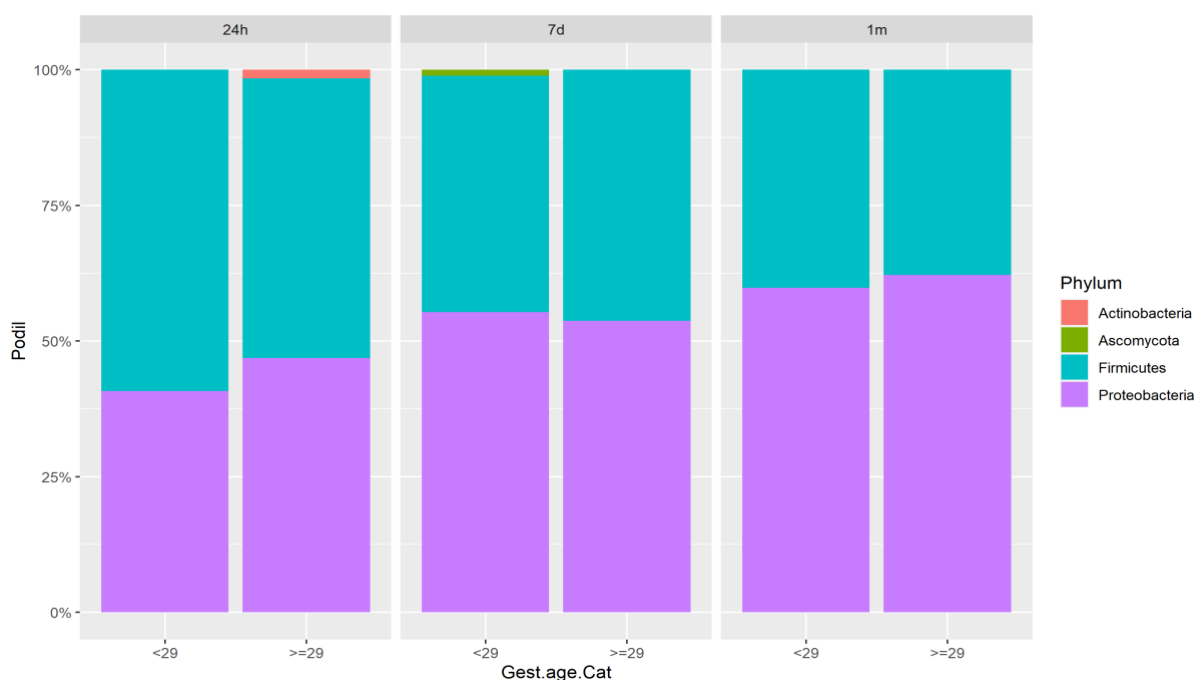
Tabulka č. 22 - Mikrobiální osídlení rekta v průběhu prvního měsíce života u novorozenců s GA \geq 29+0 na úrovni kmenů

\geq 29+0 Bakteriální kmen	24h (n= 59)		1. týden (n=59)		4. týden (n= 59)	
	n	%	n	%	n	%
Firmicutes	33	55,93 %	37	62, 71 %	34	57,63 %
Proteobacteria	30	50,85 %	43	72, 88 %	56	94, 92 %
Actinobacteria	1	1,69 %	0	0,00 %	0	0,00 %
Ascomycota	0	0,00 %	0	0,00 %	0	0,00 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

V mikrobiální osídlení rekta skupiny nezralých novorozenců s GA \geq 29+0 dominovaly rovněž kmeny Firmicutes a Proteobacteria. Proteobacteria vykazoval rostoucí tendenci během celého prvního měsíce života a stal se tak dominantním kmenem (94,92 %). Součet pozitivních nálezů v po sobě jdoucích odběrech byl 64, 80 a 90.

Graf č.15 - Komparace pozitivních nálezů v stěrech z rekta u výzkumných skupin rozdělených dle GA na úrovni kmenů

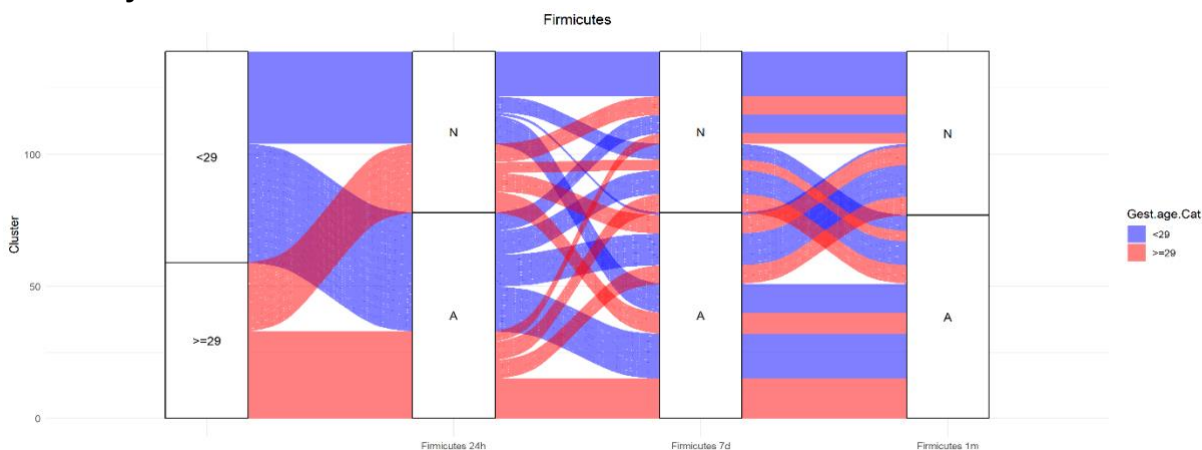


Vysvětlivky: <29 – skupina novorozenců pod 29. týden gestace, \geq 29 – skupina novorozenců nad 29. týden gestace, % - procenta

Z grafického zobrazení pozitivních nálezů v jednotlivých odběrech u obou výzkumných skupin plyne, že byly velmi podobné. Statisticky významný rozdíl

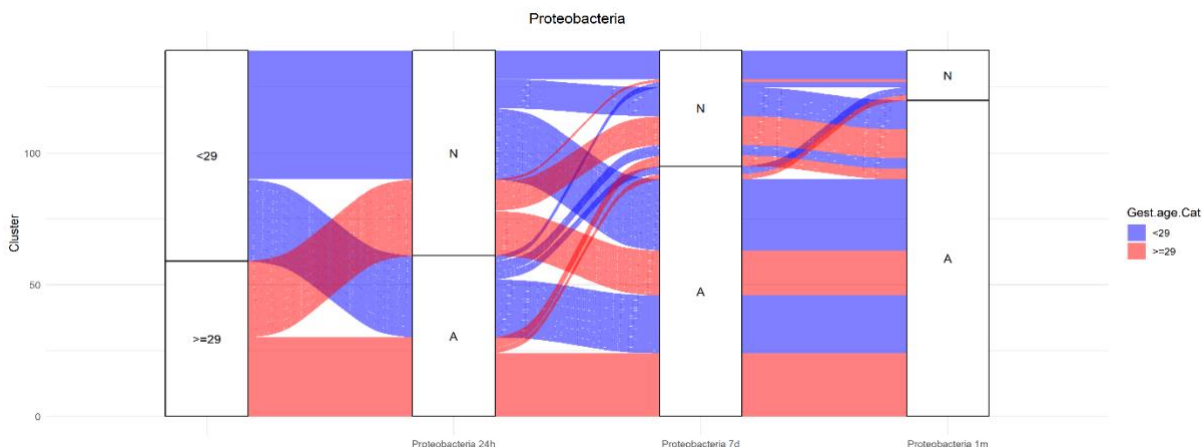
($p=0,023$) byl popsán pouze v posledním sledovaném odběru, kdy byl bakteriální kmen Proteobacteria ve skupině s GA <29+0 identifikován u 80,00% dětí, ve skupině s GA $\geq 29+0$ byl nalezen u 94,92 % dětí.

Graf č. 16 - Zobrazení vývoje kmene Firmicutes ve střevní mikroflóře u novorozenců rozdělených dle GA



Vysvětlivky: <29 – skupina novorozenců s GA <29+0, ≥ 29 – skupina novorozenců s GA $\geq 29+0$, N – kmen v daném odběru nepřítomen, A – kmen v daném odběru přítomen, 24 h – první den života, 7 d – první týden života, 1 m – první měsíc života, číselná hodnota – počet vzorků

Graf č. 17 - Zobrazení vývoje kmene Proteobacteria ve střevní mikroflóře u novorozenců rozdělených dle GA



Vysvětlivky: <29 – skupina novorozenců s GA <29+0, ≥ 29 – skupina novorozenců s GA $\geq 29+0$, N – kmen v daném odběru nepřítomen, A – kmen v daném odběru přítomen, 24 h – první den života, 7 d – první týden života, 1 m – první měsíc života, číselná hodnota – počet vzorků

Výše přiložené grafy zobrazují vývoj dvou dominantních kmenů u výzkumných skupin během prvního měsíce života.

Závěr

U obou výzkumných skupiny byly jako dominantní kmeny ve stěrech z rekta zjištěny Firmicutes a Proteobacteria. V posledním odběru byl sice popsán statisticky významný rozdíl v množství kmene Proteobacteria, u obou výzkumných skupin byly však pozorovány stejné trendy ve vývoji střevní mikroflóry. Na základě těchto informací tedy nemůžeme hypotézu H07 zamítnout.

Statistická hypotéza č. 8:

H08 Neexistuje signifikantní vztah GA a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence v průběhu prvního měsíce života na úrovni rodů.

HA8 Existuje signifikantní vztah mezi GA a složením střevní mikrobiální komunity nezralého novorozence v průběhu prvního měsíce života na úrovni rodů.

Ověření platnosti hypotézy

Data pro ověření této hypotézy vychází z hypotézy č. 7. Jejich deskripce a komparace proběhla na úrovni rodů.

Tabulka č. 23 - Mikrobiální osídlení rektu v průběhu prvního měsíce života u novorozenců s GA <29+0 na úrovni rodů

<29+0 Bakteriální rod	24h (n= 80)		1. týden (n=80)		4. týden (n= 80)	
	n	%	n	%	n	%
Staphylococcus	42	52,50 %	28	35,00 %	17	21,25 %
Streptococcus	0	0,00 %	0	0,00 %	1	1,25 %
Enterobacter	4	5,00 %	12	15,00 %	17	21,25 %
Klebsiella	6	7,50 %	10	12,50 %	29	36,25 %
Escherichia	19	23,75 %	28	35,00 %	38	47,50 %
Enterococcus	6	7,50 %	18	22,50 %	32	40,00 %
Candida	0	0,00 %	1	1,25 %	0	0,00 %
Pseudomonas	0	0,00 %	1	1,25 %	2	2,50 %
Citrobacter	1	1,25 %	1	1,25 %	2	2,50 %
Serratia	1	1,25 %	3	3,75 %	2	2,50 %
Raoultella	0	0,00 %	2	2,50 %	1	1,25 %
Proteus	0	0,00 %	0	0,00 %	1	1,25 %
Acinetobacter	0	0,00 %	2	2,50 %	0	0,00 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

U dětí s GA <29+0 v prvním zkoumaném odběru, tj. krátce po porodu, dominoval bakteriální rod *Staphylococcus* (52,50 %) a dále *Escherichia* (23,75 %). Během dalších týdnů života byl u obou rodů pozorován opačný trend, kdy množství *Staphylococcus* v čase klesalo, naopak množství *Escherichia* se zvyšovalo. Na konci prvního měsíce v rektu dominoval rod *Escherichia* (47,50 %), dále *Enterococcus* (40,00 %) a *Klebsiella* (36,25 %). Celkový počet pozitivních nálezů identifikovaných v jednotlivých odběrech byl –postupně 79, 106 a 142.

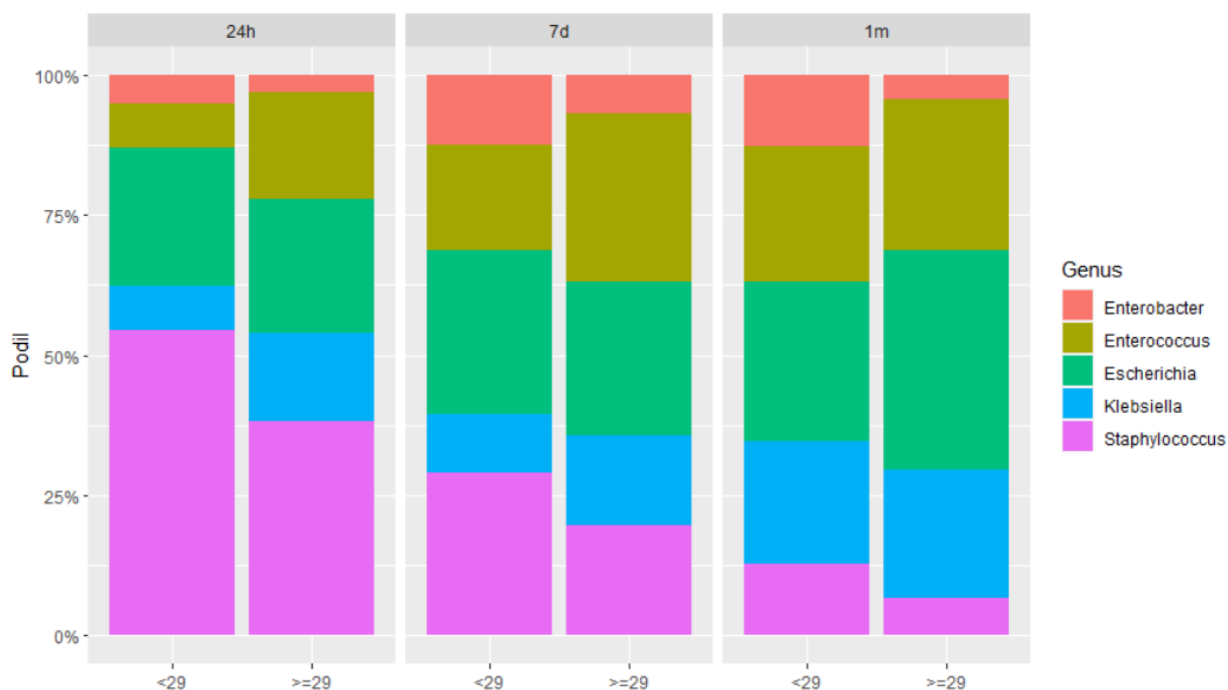
Tabulka č. 24 - Mikrobiální osídlení rektu v průběhu prvního měsíce života u novorozenců s GA \geq 29+0 na úrovni rodů

\geq 29+0 Bakteriální rod	24h (n= 59)		1. týden (n=59)		4. týden (n= 59)	
	n	%	n	%	n	%
Staphylococcus	24	40,68 %	17	28,81 %	8	13,56 %
Streptococcus	1	1,69 %	4	6,78 %	0	0,00 %
Enterobacter	2	3,39 %	6	10,17 %	5	8,57 %
Klebsiella	10	16,95 %	14	23,73 %	27	45,76 %
Escherichia	15	25,42 %	24	40,68 %	46	77,97 %
Corynebacterium	1	1,69 %	0	0,00 %	0	0,00 %
Enterococcus	12	20,34 %	26	44,07 %	32	54,24 %
Candida	0	0,00 %	0	0,00 %	0	0,00 %
Pseudomonas	2	3,39 %	3	5,08 %	2	3,39 %
Serratia	3	5,08 %	2	3,39 %	2	3,39 %
Citrobacter	1	1,69 %	0	0,00 %	1	1,69 %
Raoultella	0	0,00 %	1	1,69 %	1	1,69 %
Bacillus	1	1,69 %	0	0,00 %	0	0,00 %
Pluralibacter	0	0,00 %	0	0,00 %	1	1,69 %

Vysvětlivky: n – četnost, % - procenta

U druhé výzkumné skupiny, tedy novorozenců s GA \geq 29+0, dominoval krátce po porodu v rektu *Staphylococcus* (40,68 %). Kromě něj byly identifikovány i další rody ve vyšším množství, jako jsou *Escherichia* (25,42 %) *Enterococcus* (20,34 %) a *Klebsiella* (16,95 %). Zhruba v době 1 měsíce postnatálního stáří mezi dominantní rody patřily *Escherichia* (77,97 %), *Enterococcus* (54,24 %) a *Klebsiella* (45,76 %). Zpočátku dominantní rod *Staphylococcus* poklesl na 8 (13,56 %) pozitivních nálezů. V kultivačních stěrech byl postupně identifikován následující počet pozitivních nálezů: 72, 97 a 125.

Graf č. 18 – Komparace pozitivních nálezů 5 nejčastěji nalezených bakteriálních rodů u výzkumných skupin rozdělených dle GA v daném čase



Vysvětlivky: <29 – skupina novorozenců pod 29. týden gestace, ≥ 29 – skupina novorozenců nad 29. týden gestace, 24 h – odběr z prvního dne života, 7 d – odběr ze cca 7. dne života, 1 m – odběr z 1 měsíce života, % - procenta

U obou výzkumných skupin byla pozorována klesající tendence rodu *Staphylococcus*. První den života novorozence byl zjištěn významný rozdíl v množství rodu *Enterococcus* ($p=0,046$). Zvýšené množství nálezů *Enterococcus* u skupiny novorozenců s $GA \geq 29+0$ přetrvávalo i v prvním týdnu ($p=0,012$). Kromě toho byl zjištěn rozdíl také v množství rodu *Streptococcus* ($p=0,031$). Tyto rozdíly se ve 4. týdnu života upravily a byl identifikován významný rozdíl pouze v rodu *Escherichia* ($p<0,001$).

Závěr

U obou zkoumaných skupin můžeme pozorovat jisté podobnosti ve vývoji střevního mikrobiální osídlení během prvního měsíce života. Kromě zvyšujícího se množství přítomných mikroorganismů byl u obou skupin zaznamenán pokles rodu *Staphylococcus*, naopak nárůst rodů *Escherichia*, *Enterococcus* a *Klebsiella*. Bakteriální rod *Enterobacter* vykazoval rostoucí tendenci u skupiny dětí s $GA < 29+0$, u dětí s $GA \geq 29+0$ v posledním odběru poklesl, ale nebylo to hodnoceno jako statisticky významné. Na základě těchto informací nelze hypotézu H08 zamítnout.

5 Diskuze

Během prvních 48 měsíců života dochází postupně k vývoji stabilního mikrobiomu. Krátce po narození však existuje řada faktorů, které proces získávání vlastního mikrobiálního osídlení mohou negativně ovlivnit. Předčasně narozený novorozenec je už ve své podstatě díky nezralosti a zdravotní péči s ní spojené náchylnější k získání aberantního mikrobiomu v porovnání s termínovými novorozenci. Vzhledem k tomu, že byla popsána souvislost mezi složením mikrobiomu a patofyziologií některých onemocnění, správné pochopení problematiky vývoje mikrobiomu by mohlo pomoci snížit výskyt řady komplikací a chorob. Výsledky tohoto výzkumu mohou být dalšími podklady pro lepší pochopení dané problematiky.

V prvním cíli byla zkoumána korelace mezi způsobem porodu a mikrobiálním osídlením nezralého novorozence. Souvislosti byly zkoumány jak na úrovni kmenů, tak rodů. Předmětem zkoumání byly nejprve kožní stěry (ucho, axila) a krk-nos. Z výzkumného šetření vyplynulo, že nezralí novorozenci po VP jsou více osídlení mikroorganismy než novorozenci po SC. Když se zaměříme na skladbu mikrobiálního osídlení, tak bylo zjištěno, že u obou skupin nezralých novorozenců bylo detekováno vysoké množství bakterií z kmene Firmicutes, konkrétně rod *Staphylococcus*. Díky obecně vyššímu množství pozitivních nálezů ve skupině VP byly však i u těchto mikroorganismů detekovány signifikantní rozdíly v množství pozitivních nálezů. Další rozdíl byl zjištěn u kmene Proteobacteria (zejména rod *Escherichia*), který byl nalezen ve vyšším množství opět u dětí po VP. Tato zjištění jsou částečně v rozporu s výzkumem Pammi a kol., 2017, s. 1-14, kteří rovněž popisují vysoké množství kmenů Proteobacteria a Firmicutes u nezralých novorozenců, ale neshledávají souvislost mezi složením kožního mikrobiomu a způsobem porodu.

Dále byla věnována pozornost střevní mikroflóře předčasně narozených dětí. Zde bylo množství pozitivních nálezů v obou výzkumných skupinách relativně vyrovnané. Obdobně jako v předchozích stěrech, také ve stěrech z rekta obecně dominovaly dva kmény – Firmicutes a Proteobacteria. Obecně dominanci těchto kmenů u předčasně narozených dětí popisují také další studie: Hiltunen a kol., 2022, s. 1804-1811; Hill a kol., 2017, s. 1-18; Pammi a kol., 2017, s. 1-14; Xiu a kol., 2023, s. 1-8, Healy a kol., 2023, s. 1-8.

Bezprostředně po porodu bylo množství kmene Firmicutes u obou skupin obdobné (SC – 59,76 %, VP – 50,88 %), u kmene Proteobacteria byl však detekován

signifikantní rozdíl (SC – 31,71 %, VP – 61,40 %). To zapříčil zejména rod *Escherichia* (SC – 13,41 %, VP – 40,35 %). Vyšší množství tohoto rodu u dětí po VP popsali také Heida a kol., 2021, s. 1-12.

Hill a kol., 2017, s. 1-18 popisují dominanci kmene *Proteobacteria* během prvního týdne života u obou skupin. Vyšší relativní četnost však byla shodně s tímto výzkumem popsána u dětí po VP. Hill a kol., 2017, s. 1-18 však nesouhlasně popisují vyšší množství rodu *Escherichia* u skupiny SC. Kromě toho popisují také vyšší množství rodu *Enterobacter* u dětí po VP, což v tomto výzkumu nebylo potvrzeno.

Také Xiu a kol., 2023, s. 1-8 ve své studii uvádí odlišné výsledky, kdy popisují výrazně vyšší množství kmene *Proteobacteria* v prvním týdnu života u dětí po SC (93 %) než po VP (55,5 %). V tomto výzkumu nebyl v prvním týdnu života shledán statisticky významný rozdíl v množství kmene *Proteobacteria* mezi výzkumnými skupinami (SC – 62,20 %, VP – 77,19 %).

Během prvního měsíce života další významné rozdíly zjištěny nebyly. Heida a kol., 2021, s. 1-12 rovněž nepopisují vliv způsobu porodu na střevní mikroflóru nezralých dětí po prvním měsíci života. U obou skupin byla pozorována rostoucí tendence pozitivních nálezů a s tím i kmene *Proteobacteria* (zejména rod *Escherichia* a *Klebsiella*). *Firmicutes* si udržoval zhruba stálou hodnotu. V rámci tohoto kmene docházelo postupně k vzestupu rodu *Enterococcus* na úkor *Staphylococcus*. Tyto výsledky nejsou shodné s výzkumem Hill a kol., 2017, s. 1-18, protože popisují postupný pokles množství rodu *Escherichia*.

Kromě vlivu způsobu porodu na mikrobiom nezralého novorozence byla v tomto výzkumu zkoumána také souvislost s GA. Mikroorganismy identifikované ve vstupních stěrech vykazovaly drobné variace. Obecně dominoval kmen *Firmicutes* (zejména rod *Staphylococcus*), který byl ve vyšším množství identifikován ve stěrech z axily u skupiny s GA <29+0. Rozdíly byly zjištěny také v rodu *Enterococcus*, který byl v uchu u dětí s GA <29+0.

Bezprostředně po porodu byl u obou skupin v rektu nejpočetnějším kmenem *Firmicutes* (zejména *Staphylococcus*, *Enterococcus*), následně *Proteobacteria* (obzvláště *Escherichia*, *Klebsiella*). U obou skupin dominoval *Staphylococcus*, u dětí s GA <29+0 bylo však zjištěno vyšší množství *Staphylococcus* na úkor *Enterococcus*. Kmen *Firmicutes* si udržoval relativně stálou hodnotu u všech novorozenců po celou dobu výzkumného šetření, kdy se zvyšovalo množství rodu *Enterococcus* na úkor *Staphylococcus*. U kmene *Proteobacteria* (hlavně u rodů *Escherichia* a *Klebsiella*) byl

pozorován rostoucí trend. Množství pozitivních nálezů v rámci tohoto kmene bylo v posledním odběru shledáno statisticky významným, rostoucí tendence však byla shodně pozorována u obou výzkumných skupin. Odlišnosti byly konkrétně pozorovány ve vývoji rodu *Enterobacter*, který se u skupiny s GA \geq 29+0 postupně zvyšoval, u druhé skupiny v posledním odběru poklesl. Tento pokles nebyl však shledán statisticky významným. Vývoj střevního mikrobiomu tedy vykazoval drobné variace, ale výsledný trend byl stejný.

Hiltunen a kol., 2022, s. 1804-1811 se neztotožňují s žádnými závěry tohoto výzkumu. Demonstrují, že způsob porodu spolu s gestačním věkem nemají vliv na počáteční mikrobiální kolonizaci nezralého novorozence.

Mezi hlavní limitace tohoto výzkumu lze zařadit nedostatečný počet participantů (zejména po VP) a dostupnost informací o pozitivních nálezech pouze potenciálně patogenních mikroorganismů. V této diplomové práci byl popsán také vliv dalších perinatálních faktorů, jako jsou antibiotická terapie, klokánkování, druh podávaného mléka a probiotická suplementace, na složení mikrobiomu nezralých dětí. Zmíněné faktory v tomto výzkumu nebyly zohledněny a mohou tak představovat další významné limitace. Vzhledem k náročnosti problematiky bychom doporučili realizaci dalších studií, kde bude zkoumán vliv nejen způsobu porodu a GA, ale také dalších významných faktorů, které mohou mikrobiální osídlení nezralého novorozence v časně fázi života ovlivnit. Pro komplexní zhodnocení mikrobiomu předčasně narozených dětí je potřeba se zaměřit také na mikroorganismy, jež jsou součástí fyziologické flóry.

Závěr

Ročně se narodí celosvětově přes 2 miliony dětí předčasně a nezralost se řadí mezi jednu z hlavních příčin úmrtí dětí. Na jejich zdravotní stav a přežití mají vliv přidružená onemocnění a jejich tíže např. RDS, BPD, sepse, NEC. V posledních letech je velmi aktuálním tématem mikrobiom, jeho složení a ovlivnění v souvislosti se způsobem porodu, antibiotickou terapií a celou řadou dalších faktorů. Tato diplomová práce se zabývá problematikou mikrobiomu nezralého novorozence a zkoumá do jaké míry perinatální faktory ovlivňují jeho složení.

Kromě skladby mikrobiomu nezralého novorozence je předmětem diskuze počátek jeho vývoje. Stále není jednoznačné, zda dochází k prvnímu kontaktu novorozence s mikroby při porodu nebo již v průběhu nitroděložního vývoje. Řada studií se v tomto ohledu rozchází. Pro správné pochopení problematiky mikrobiomu nezralého novorozence je podstatné zjistit, kdy jeho vývoj začíná, zda lze aberantní mikrobiom získat již během vývoje in utero a případně jak jej ovlivnit. V této souvislosti je nutné zmínit faktory, které mají prokázaný vliv na mikrobiom nezralého novorozence. Sem řadíme způsob porodu, antibiotickou terapii, způsob a druh podávaného mléka, klokánkování a probiotickou suplementaci.

Ve výzkumné části diplomové práci jsem se zaměřila bakteriální osídlení nezralého novorozence ve studijní skupině dětí s hmotností pod 1500 g narozených před 37. týdnem gestace. Do studie bylo zařazeno 207 dětí, narozených mezi 23+2 - 35+2 týdnem gestace bez ohledu na komorbidity s cílem prokázat vztah mezi mikrobiálním osídlením nezralého novorozence, gestačním věkem a způsobem porodu. Byly zkoumány vstupní mikrobiální stěry při přijetí na oddělení Novorozenecké JIRP, které zahrnovaly stěry z oblasti axily, krk-nos, ucha a rekta, které byly provedeny v daných časových intervalech. Kultivační stěry byly prováděny komerčně vyráběnou sterilní odběrovou soupravou s kultivačním médiem a v mikrobiologické laboratoři FNOL následně proběhla kultivace. Kultivace byla provedena na růstových médiích (krevní agar, MacConkeyův agar) do následujícího dne, poté byly mikroorganismy pomnoženy v tekutém médiu (játrový bujón) rovněž do následujícího dne a pak vyočkovány zpět na kultivační média s agarem s následným odečtem, eventuální prodlouženou kultivací a stanovením citlivosti. Z původní výzkumné skupiny byli vybráni novorozenci, u nichž byl odebrán mikrobiální stěr z rekta bezprostředně po narození v prvních 24 hodinách života (většina stěrů byla provedena do 2 hodin po

narození) a dále v 1. a 4. týdnu života a byla tak sestavena druhá výzkumná skupina, kterou tvořilo celkem 139 participantů.

Prvním cílem výzkumu bylo prokázat, zda existuje souvislost mezi způsobem porodu a mikrobiálním osídlením novorozence bezprostředně po porodu a během prvního měsíce života. Výsledky výzkumu ukazují, že novorozenci po vaginálním způsobu porodu jsou více kolonizováni mikroorganismy v oblasti axily, ucha, krk-nos a skladba jejich mikrobiálního profilu je rozmanitější. Jsou osídleni zejména kmeny Firmicutes a Proteobacteria, konkrétně rody *Escherichia*, *Staphylococcus* a *Klebsiella*. U druhé skupiny novorozenců bylo množství pozitivních nálezů signifikantně nižší a převládal kmen Firmicutes, na úrovni rodů *Staphylococcus*.

V mikrobiálních stěrech z rekta byly bezprostředně po porodu rovněž identifikovány rozdíly. Množství pozitivních nálezů se však významně nelišilo, variace byly zpozorovány zejména v dominanci jednotlivých bakteriálních taxonů. U novorozenců po vaginálním způsobu porodu převažovaly proteobakterie, z rodů *Escherichia*, *Staphylococcus* a *Klebsiella*. U dětí po císařském řezu byl dominantním kmenem Firmicutes s nejhojněji zastoupeným rodem *Staphylococcus*, dále *Enterococcus* a *Escherichia*. Během výzkumného období se u obou skupin zvyšovala hojnost a rozmanitost detekovaných mikroorganismů, což značí proces získávání vlastní střevní mikrobiální flóry. Kromě toho došlo k minimalizaci rozdílů ve stěrech z rekta. U kmene Proteobacteria byla shodně pozorována rostoucí tendence se zvyšujícím se stářím novorozence, čímž se stal dominantním kmenem, Firmicutes si udržoval relativně stálou hodnotu a byl přítomen zhruba u 55,9% novorozenců. Shodné výsledky byly identifikovány také na úrovni rodů, kdy množství rodu *Staphylococcus* se postupně snižovalo, naopak četnost rodů *Enterococcus*, *Escherichia* a *Klebsiella* se zvyšovala. V rámci vývoje mikrobiálního osídlení rekta byly pozorovány drobné variace, celkový vývojový trend mikrobiálního profilu obou skupin byl však velmi podobný. Obdobně jako předchozí studie, také tento výzkum nepopisuje signifikantní rozdíly ve střevním mikrobiálním profilu po prvním měsíci života.

Druhý cíl se zabýval možnou souvislostí mezi mikrobiálním osídlením novorozence a jeho gestačním věkem. Participantů tak byli místo způsobu porodu rozděleni na dvě výzkumné skupiny podle gestačního věku (<29+0, ≥29+0). Výsledky stěrů z axily, ucha a krk-nos byly velmi podobné, obecně převažoval kmen Firmicutes, konkrétně rod *Staphylococcus*.

V kultivačních stěrech z rektu bezprostředně po porodu dominoval kmen Firmicutes u obou výzkumných skupiny. Na úrovni rodů byly popsány statisticky významné variace, kdy byl rod *Staphylococcus* identifikován ve vyšším množství u výzkumné skupiny s gestačním týdnem <29+0, vyšší hojnost *Enterococcus* byla naopak nalezena u druhé výzkumné skupiny. Během prvního měsíce života rovněž jako v předchozím zkoumaném cíli došlo k minimalizaci těchto rozdílů a byl pozorován stejný vývojový trend, kdy se zvyšovalo množství kmene *Proteobacteria*. Převažujícími rody v prvním měsíci života u obou výzkumných skupin byly *Escherichia*, *Enterococcus* a *Klebsiella*. V tomto výzkumu tak nebyl prokázán vliv gestačního věku na vývoj střevní mikroflóry během prvního měsíce života.

Někteří autoři popisují vliv způsobu porodu na mikrobiom nezralého novorozence, jiní tuto ideu zamítají. Nejdiskutovanější je střevní mikroflóra, kdy dle Xiu a kol. kmen *Proteobacteria* převažuje v prvním týdnu života u dětí po SC, Firmicutes naopak u dětí po vaginálním způsobu porodu. Hill a kol. zase popisují dominanci *Proteobacteria* u obou výzkumných skupin během prvního týdne života. Rovněž jsou v rozporu výsledky dalších výzkumů, kdy Heida a kol. popisují v časném postnatálním období vyšší množství *Escherichia* u dětí po vaginálním porodu, Hill a kol. tuto skutečnost uvádějí u dětí po SC. Většina studií se shoduje na vyšším množství rodu *Bacteroides* u dětí po vaginálním způsobu porodu. Hiltunen a kol. přinesli novou myšlenku, kdy mikrobiální osídlení předčasně narozených novorozenců je pravděpodobně dáno spontánním předtermínovým porodem jako takovým a způsob porodu v tomhle ohledu nehraje hlavní roli. Byly totiž identifikovány rozdíly ve shlukování mikroorganismů u dětí po spontánním a iatrogeně vyvolaném předčasném porodu. Střevní mikroflóra dětí po spontánním předčasném porodu navíc vykazuje vyšší podobnosti s mateřskou střevní mikroflórou, což může naznačovat, že k částečnému přenosu mikrobů z matky na plodu dochází již in utero. Mezi způsobem porodu a mikrobiálním osídlením pokožky nezralého novorozence rovněž není jednoznačně prokázána přímá souvislost všemi autory.

Je podstatné správně interpretovat dopad rizikových faktorů na mikrobiom nezralého novorozence. Následně se můžeme pokusit mikrobiální osídlení novorozence ovlivnit s cílem minimalizovat riziko vývoje aberantního mikrobiomu a tím zvýšené predispozice vzniku některých onemocnění jak v novorozeneckém, tak pozdějším věku.

Referenční seznam

Aceti, A., Maggio, L., Beghetti, I., Gori, D., Barone, G., Callegari, M., Fantini, M., Indrio, F., Meneghin, F., Morelli, L., Zuccotti, G., & Corvaglia, L. (2017). Probiotics Prevent Late-Onset Sepsis in Human Milk-Fed, Very Low Birth Weight Preterm Infants: Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/nu9080904>

Ackerman, D. L., Doster, R. S., Weitkamp, J. -H., Aronoff, D. M., Gaddy, J. A., & Townsend, S. D. (2017). Human Milk Oligosaccharides Exhibit Antimicrobial and Antibiofilm Properties against Group B Streptococcus. *ACS Infectious Diseases*, 3(8), 595-605. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.7b00064>

Adams, M., & Bassler, D. (2019). Practice variations and rates of late onset sepsis and necrotizing enterocolitis in very preterm born infants, a review. *Translational Pediatrics*, 8(3), 212-226. <https://doi.org/10.21037/tp.2019.07.02>

Amandito, R., Malik, A., & Rohsiswatmo, R. (2022). Metagenomic profiles of the early life microbiome of Indonesian inpatient neonates and their influence on clinical characteristics. *Scientific Reports*, 12(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13496-4>

Baker, J. M., Chase, D. M., & Herbst-Kralovetz, M. M. (2018). Uterine Microbiota: Residents, Tourists, or Invaders? *Frontiers in Immunology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00208>

Blaser, M. J., Devkota, S., McCoy, K. D., Relman, D. A., Yassour, M., & Young, V. B. (2021). Lessons learned from the prenatal microbiome controversy. *Microbiome*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00946-2>

Carlson, A. L., Xia, K., Azcarate-Peril, M. A., Goldman, B. D., Ahn, M., Styner, M. A., Thompson, A. L., Geng, X., Gilmore, J. H., & Knickmeyer, R. C. (2018). Infant Gut Microbiome Associated With Cognitive Development. *Biological Psychiatry*, 83(2), 148-159. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.06.021>

Ciochetto, C. R., Bolzan, G. de P., Gonçalves, D. da S., Silveira, F. P. H. da, & Weinmann, A. R. M. (2023). Effects of Kangaroo Care on the development of oral skills and achievement of exclusive oral feeding in preterm infants. *CoDAS*, 35(5). <https://doi.org/10.1590/2317-1782/20232022070>

Cong, X., Wu, J., Vittner, D., Xu, W., Hussain, N., Galvin, S., Fitzsimons, M., McGrath, J. M., & Henderson, W. A. (2017). The impact of cumulative pain/stress on neurobehavioral development of preterm infants in the NICU. *Early Human Development*, 108, 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2017.03.003>

Costa, R. L., Moreira, J., Lorenzo, A., & Lamas, C. C. (2018). Infectious complications following probiotic ingestion: a potentially underestimated problem? A systematic review of reports and case series. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2394-3>

Dahl, C., Stigum, H., Valeur, J., Iszatt, N., Lenters, V., Peddada, S., Bjørnholt, J. V., Midtvedt, T., Mandal, S., & Eggesbø, M. (2018). Preterm infants have distinct microbiomes not explained by mode of delivery, breastfeeding duration or antibiotic exposure. *International Journal of Epidemiology*, 47(5), 1658-1669. <https://doi.org/10.1093/ije/dyy064>

Damaceno, Q. S., Souza, J. P., Nicoli, J. R., Paula, R. L., Assis, G. B., Figueiredo, H. C., Azevedo, V., & Martins, F. S. (2017). Evaluation of Potential Probiotics Isolated from Human Milk and Colostrum. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(4), 371-379. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9270-1>

D'agata, A. L., Wu, J., Welandawe, M. K. V., Dutra, S. V. O., Kane, B., & Groer, M. W. (2019). Effects of early life NICU stress on the developing gut microbiome. *Developmental Psychobiology*, 61(5), 650-660. <https://doi.org/10.1002/dev.21826>

de Goffau, M. C., Lager, S., Sovio, U., Gaccioli, F., Cook, E., Peacock, S. J., Parkhill, J., Charnock-Jones, D. S., & Smith, G. C. S. (2019). Human placenta has no

microbiome but can contain potential pathogens. *Nature*, 572(7769), 329-334.
<https://doi.org/10.1038/s41586-019-1451-5>

Esaiassen, E., Hjerde, E., Cavanagh, J. P., Pedersen, T., Andresen, J. H., Rettedal, S. I., Støen, R., Nakstad, B., Willassen, N. P., & Klingenberg, C. (2018). Effects of Probiotic Supplementation on the Gut Microbiota and Antibiotic Resistome Development in Preterm Infants. *Frontiers in Pediatrics*, 6.
<https://doi.org/10.3389/fped.2018.00347>

Gasaly, N., de Vos, P., & Hermoso, M. A. (2021). Impact of Bacterial Metabolites on Gut Barrier Function and Host Immunity: A Focus on Bacterial Metabolism and Its Relevance for Intestinal Inflammation. *Frontiers in Immunology*, 12.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.658354>

Granger, C. L., Embleton, N. D., Palmer, J. M., Lamb, C. A., Berrington, J. E., & Stewart, C. J. (2021). Maternal breastmilk, infant gut microbiome and the impact on preterm infant health. *Acta Paediatrica*, 110(2), 450-457.
<https://doi.org/10.1111/apa.15534>

Gotoh, A., Katoh, T., Sakanaka, M., Ling, Y., Yamada, C., Asakuma, S., Urashima, T., Tomabechi, Y., Katayama-Ikegami, A., Kurihara, S., Yamamoto, K., Harata, G., He, F., Hirose, J., Kitaoka, M., Okuda, S., & Katayama, T. (2018). Sharing of human milk oligosaccharides degradants within bifidobacterial communities in faecal cultures supplemented with *Bifidobacterium bifidum*. *Scientific Reports*, 8(1).
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-32080-3>

Halkias, J., Rackaityte, E., Hillman, S. L., Aran, D., Mendoza, V. F., Marshall, L. R., MacKenzie, T. C., & Burt, T. D. (2019). CD161 contributes to prenatal immune suppression of IFN- γ -producing PLZF⁺ T cells. *Journal of Clinical Investigation*, 129(9), 3562-3577. <https://doi.org/10.1172/JCI125957>

Healy, D. B., Ryan, C. A., Ross, R. P., Stanton, C., & Dempsey, E. M. (2022). Clinical implications of preterm infant gut microbiome development. *Nature Microbiology*, 7(1), 22-33. <https://doi.org/10.1038/s41564-021-01025-4>

Healy, D., Wang, S., Grimaud, G., Warda, A. K., Ross, P., Stanton, C., & Dempsey, E. M. (2023). Longitudinal observational study protocol – Preterm Infants: Microbiome Establishment, Neuro-CrossTalk and Origins (PIMENTO). *BMJ Open*, 13(9). <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2023-075060>

Heida, F. H., Kooi, E. M. W., Wagner, J., Nguyen, T. -Y., Hulscher, J. B. F., van Zoonen, A. G. J. F., Bos, A. F., Harmsen, H. J. M., & de Goffau, M. C. (2021). Weight shapes the intestinal microbiome in preterm infants: results of a prospective observational study. *BMC Microbiology*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02279-y>

Hill, C. J., Lynch, D. B., Murphy, K., Ulaszewska, M., Jeffery, I. B., O’Shea, C. A., Watkins, C., Dempsey, E., Mattivi, F., Tuohy, K., Ross, R. P., Ryan, C. A., O’Toole, P. W., & Stanton, C. (2017). Evolution of gut microbiota composition from birth to 24 weeks in the INFANTMET Cohort. *Microbiome*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0213-y>

Hiltunen, H., Collado, M. C., Ollila, H., Kolari, T., Tölkö, S., Isolauri, E., Salminen, S., & Rautava, S. (2022). Spontaneous preterm delivery is reflected in both early neonatal and maternal gut microbiota. *Pediatric Research*, 91(7), 1804-1811. <https://doi.org/10.1038/s41390-021-01663-8>

Humberg, A., Fortmann, I., Siller, B., Kopp, M. V., Herting, E., Göpel, W., & Härtel, C. (2020). Preterm birth and sustained inflammation: consequences for the neonate. *Seminars in Immunopathology*, 42(4), 451-468. <https://doi.org/10.1007/s00281-020-00803-2>

Chang, H. -Y., Chiang Chiau, J. -S., Ho, Y. -H., Chang, J. -H., Tsai, K. -N., Liu, C. -Y., Hsu, C. -H., Lin, C. -Y., Ko, M. H. -J., & Lee, H. -C. (2021). Impact of Early Empiric Antibiotic Regimens on the Gut Microbiota in Very Low Birth Weight Preterm Infants: An Observational Study. *Frontiers in Pediatrics*, 9. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.651713>

Chernikova, D. A., Madan, J. C., Housman, M. L., Zain-ul-abideen, M., Lundgren, S. N., Morrison, H. G., Sogin, M. L., Williams, S. M., Moore, J. H., Karagas, M. R., & Hoen, A. G. (2018). The premature infant gut microbiome during the first 6 weeks of life differs based on gestational maturity at birth. *Pediatric Research*, *84*(1), 71-79. <https://doi.org/10.1038/s41390-018-0022-z>

Joseph, R. M., Korzeniewski, S. J., Allred, E. N., O'Shea, T. M., Heeren, T., Frazier, J. A., Ware, J., Hirtz, D., Leviton, A., Kuban, K., Ware, J., Coster, T., Henson, B., Wilson, R., McGhee, K., Lee, P., Asgarian, A., Sadhwani, A., Perrin, E., et al. (2017). Extremely low gestational age and very low birthweight for gestational age are risk factors for autism spectrum disorder in a large cohort study of 10-year-old children born at 23-27 weeks' gestation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *216*(3), 304.e1-304.e16. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.11.1009>

Kennedy, K. M., de Goffau, M. C., Perez-Muñoz, M. E., Arrieta, M. -C., Bäckhed, F., Bork, P., Braun, T., Bushman, F. D., Dore, J., de Vos, W. M., Earl, A. M., Eisen, J. A., Elovitz, M. A., Ganal-Vonarburg, S. C., Gänzle, M. G., Garrett, W. S., Hall, L. J., Hornef, M. W., Huttenhower, C., et al. (2023). Questioning the fetal microbiome illustrates pitfalls of low-biomass microbial studies. *Nature*, *613*(7945), 639-649. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05546-8>

Kennedy, K. M., Gerlach, M. J., Adam, T., Heimesaat, M. M., Rossi, L., Surette, M. G., Sloboda, D. M., & Braun, T. (2021). Fetal meconium does not have a detectable microbiota before birth. *Nature Microbiology*, *6*(7), 865-873. <https://doi.org/10.1038/s41564-021-00904-0>

Lee, J. K. -F., Hern Tan, L. T., Ramadas, A., Ab Mutalib, N. -S., & Lee, L. -H. (2020). Exploring the Role of Gut Bacteria in Health and Disease in Preterm Neonates. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(19). <https://doi.org/10.3390/ijerph17196963>

Leiby, J. S., McCormick, K., Sherrill-mix, S., Clarke, E. L., Kessler, L. R., Taylor, L. J., Hofstaedter, C. E., Roche, A. M., Mattei, L. M., Bittinger, K., Elovitz, M. A., Leite, R., Parry, S., & Bushman, F. D. (2018). Lack of detection of a human placenta microbiome

in samples from preterm and term deliveries. *Microbiome*, 6(1), 196.
<https://doi.org/10.1186/s40168-018-0575-4>

Li, N., van Unen, V., Abdelaal, T., Guo, N., Kasatskaya, S. A., Ladell, K., McLaren, J. E., Egorov, E. S., Izraelson, M., Chuva de Sousa Lopes, S. M., Höllt, T., Britanova, O. V., Eggermont, J., de Miranda, N. F. C. C., Chudakov, D. M., Price, D. A., Lelieveldt, B. P. F., & Koning, F. (2019). Memory CD4+ T cells are generated in the human fetal intestine. *Nature Immunology*, 20(3), 301-312. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0294-9>

Marissen, J., Gomez de Agüero, M., Chandorkar, P., Reichert, L., Glaser, K., Speer, C. P., & Härtel, C. (2023). The Delicate Skin of Preterm Infants: Barrier Function, Immune-Microbiome Interaction, and Clinical Implications. *Neonatology* (16617800), 120(3), 295-307. <https://doi.org/10.1159/000529026>

Masi, A. C., Embleton, N. D., Lamb, C. A., Young, G., Granger, C. L., Najera, J., Smith, D. P., Hoffman, K. L., Petrosino, J. F., Bode, L., Berrington, J. E., & Stewart, C. J. (2021). Human milk oligosaccharide DSLNT and gut microbiome in preterm infants predicts necrotising enterocolitis. *Gut*, 70(12), 2273-2282.
<https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-322771>

Mihi, B., & Good, M. (2019). Impact of Toll-Like Receptor 4 Signaling in Necrotizing Enterocolitis. *Clinics in Perinatology*, 46(1), 145-157.
<https://doi.org/10.1016/j.clp.2018.09.007>

Mishra, A., Lai, G. C., Yao, L. J., Aung, T. T., Shental, N., Rotter-Maskowitz, A., Shepherdson, E., Singh, G. S. N., Pai, R., Shanti, A., Wong, R. M. M., Lee, A., Khyriem, C., Dutertre, C. A., Chakarov, S., Srinivasan, K. G., Shadan, N. B., Zhang, X. -M., Khalilnezhad, S., et al. (2021). Microbial exposure during early human development primes fetal immune cells. *Cell*, 184(13), 3394-3409.e20.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.04.039>

Moossavi, S., Sepehri, S., Robertson, B., Bode, L., Goruk, S., Field, C. J., Lix, L. M., de Souza, R. J., Becker, A. B., Mandhane, P. J., Turvey, S. E., Subbarao, P., Moraes,

T. J., Lefebvre, D. L., Sears, M. R., Khafipour, E., & Azad, M. B. (2019). Composition and Variation of the Human Milk Microbiota Are Influenced by Maternal and Early-Life Factors. *Cell Host & Microbe*, 25(2), 324-335.e4. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.011>

Moossavi, S., Sepehri, S., Robertson, B., Bode, L., Goruk, S., Field, C. J., Lix, L. M., de Souza, R. J., Becker, A. B., Mandhane, P. J., Turvey, S. E., Subbarao, P., Moraes, T. J., Lefebvre, D. L., Sears, M. R., Khafipour, E., & Azad, M. B. (2019). Composition and Variation of the Human Milk Microbiota Are Influenced by Maternal and Early-Life Factors. *Cell Host & Microbe*, 25(2), 324-335.e4. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.011>

Olm, M. R., Bhattacharya, N., Crits-Christoph, A., Firek, B. A., Baker, R., Song, Y. S., Morowitz, M. J., & Banfield, J. F. (2019). Necrotizing enterocolitis is preceded by increased gut bacterial replication, *Klebsiella*, and fimbriae-encoding bacteria. *Science Advances*, 5(12). <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax5727>

Pammi, M., O'Brien, J. L., Ajami, N. J., Wong, M. C., Versalovic, J., Petrosino, J. F., & Wilson, B. A. (2017). Development of the cutaneous microbiome in the preterm infant: A prospective longitudinal study. *PLOS ONE*, 12(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176669>

Parra-Llorca, A., Gormaz, M., Alcántara, C., Cernada, M., Nuñez-Ramiro, A., Vento, M., & Collado, M. C. (2018). Preterm Gut Microbiome Depending on Feeding Type: Significance of Donor Human Milk. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01376>

Plummer, E. L., Bulach, D. M., Murray, G. L., Jacobs, S. E., Tabrizi, S. N., & Garland, S. M. (2018). Gut microbiota of preterm infants supplemented with probiotics: sub-study of the ProPrems trial. *BMC Microbiology*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1326-1>

Rackaityte, E., Halkias, J., Fukui, E. M., Mendoza, V. F., Hayzelden, C., Crawford, E. D., Fujimura, K. E., Burt, T. D., & Lynch, S. V. (2020). Viable bacterial colonization is

highly limited in the human intestine in utero. *Nature Medicine*, 26(4), 599-607.
<https://doi.org/10.1038/s41591-020-0761-3>

Shah, P. A., Govindarajan, V., Rangaiah, A., Diggikar, S., Devadas, S., Chunchanur, S. K., Shankar, S. M., Das, S., & Kariyappa, M. (2022). Mycobacterium Species on the Cutaneous Microbiome of Very Preterm Neonates. *Journal of Tropical Pediatrics*, 68(2). <https://doi.org/10.1093/tropej/fmac020>

Staude, B., Oehmke, F., Lauer, T., Behnke, J., Göpel, W., Schloter, M., Schulz, H., Krauss-Etschmann, S., & Ehrhardt, H. (2018). The Microbiome and Preterm Birth: A Change in Paradigm with Profound Implications for Pathophysiologic Concepts and Novel Therapeutic Strategies. *BioMed Research International*, 2018, 1-12.
<https://doi.org/10.1155/2018/7218187>

Stinson, L., Hallingström, M., Barman, M., Viklund, F., Keelan, J., Kacerovsky, M., Payne, M., & Jacobsson, B. (2020). Comparison of Bacterial DNA Profiles in Mid-Trimester Amniotic Fluid Samples From Preterm and Term Deliveries. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00415>

Underwood, M. A., Davis, J. C. C., Kalanetra, K. M., Gehlot, S., Patole, S., Tancredi, D. J., Mills, D. A., Lebrilla, C. B., & Simmer, K. (2017). Digestion of Human Milk Oligosaccharides by *Bifidobacterium breve* in the Premature Infant. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 65(4), 449-455.
<https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001590>

van den Akker, C. H. P., van Goudoever, J. B., Shamir, R., Domellöf, M., Embleton, N. D., Hojsak, I., Lapillonne, A., Mihatsch, W. A., Berni Canani, R., Bronsky, J., Campoy, C., Fewtrell, M. S., Fidler Mis, N., Guarino, A., Hulst, J. M., Indrio, F., Kolaček, S., Orel, R., Vandenplas, Y., et al. (2020). Probiotics and Preterm Infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 70(5), 664-680.
<https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002655>

Van Lieshout, R. J., Boyle, M. H., Favotto, L., Krzeczkowski, J. E., Savoy, C., Saigal, S., & Schmidt, L. A. (2018). Impact of extremely low-birth-weight status on risk and

resilience for depression and anxiety in adulthood. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 59(5), 596-603. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12826>

Wandro, S., Osborne, S., Enriquez, C., Bixby, C., Arrieta, A., Whiteson, K., & Krajmalnik-Brown, R. (2018). The Microbiome and Metabolome of Preterm Infant Stool Are Personalized and Not Driven by Health Outcomes, Including Necrotizing Enterocolitis and Late-Onset Sepsis. *MSphere*, 3(3), e00104-18. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00104-18>

Westaway, J. A. F., Huerlimann, R., Kandasamy, Y., Miller, C. M., Norton, R., Staunton, K. M., Watson, D., & Rudd, D. (2022). The bacterial gut microbiome of probiotic-treated very-preterm infants: changes from admission to discharge. *Pediatric Research*, 92(1), 142-150. <https://doi.org/10.1038/s41390-021-01738-6>

Wexler, A. G., & Goodman, A. L. (2017). An insider's perspective: Bacteroides as a window into the microbiome. *Nature Microbiology*, 2(5). <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.26>

Wistrand, C., Söderquist, B., & Sundqvist, A. -S. (2021). Time-dependent bacterial air contamination of sterile fields in a controlled operating room environment: an experimental intervention study. *Journal of Hospital Infection*, 110, 97-102. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.01.016>

Wu, R. Y., Li, B., Koike, Y., Määttänen, P., Miyake, H., Cadete, M., Johnson-Henry, K. C., Botts, S. R., Lee, C., Abrahamsson, T. R., Landberg, E., Pierro, A., & Sherman, P. M. (2019). Human Milk Oligosaccharides Increase Mucin Expression in Experimental Necrotizing Enterocolitis. *Molecular Nutrition & Food Research*, 63(3). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201800658>

Xiu, W., Lin, J., Hu, Y., Tang, H., Wu, S., & Yang, C. (2023). Assessing multiple factors affecting the gut microbiome structure of very preterm infants. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 56. <https://doi.org/10.1590/1414-431x2023e13186>

Young, G. R., van der Gast, C. J., Smith, D. L., Berrington, J. E., Embleton, N. D., & Lanyon, C. (2020). Acquisition and Development of the Extremely Preterm Infant Microbiota Across Multiple Anatomical Sites. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, 70(1), 12-19. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002549>

Younge, N., McCann, J. R., Ballard, J., Plunkett, C., Akhtar, S., Araújo-Pérez, F., Murtha, A., Brandon, D., & Seed, P. C. (2019). Fetal exposure to the maternal microbiota in humans and mice. *JCI Insight*, 4(19). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.127806>

Zhang, S., & Dang, Y. (2022). Roles of gut microbiota and metabolites in overweight and obesity of children. *Frontiers in Endocrinology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.994930>

Zheng, D., Liwinski, T., & Elinav, E. (2020). Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research*, 30(6), 492-506. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0332-7>

Zwittink, R. D., Renes, I. B., van Lingen, R. A., van Zoeren-Grobbe, D., Konstanti, P., Norbruis, O. F., Martin, R., Groot Jebbink, L. J. M., Knol, J., & Belzer, C. (2018). Association between duration of intravenous antibiotic administration and early-life microbiota development in late-preterm infants. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 37(3), 475-483. <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3193-y>

Seznam zkratek

APC	antigen prezentující buňky
BPD	bronchopulmonální dysplazie
d	den
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DSLNT	disialyllakto-N-tetraóza
E. coli	Escherichia coli
ELBW	extreme low birth weight, extrémně nízká porodní hmotnost
FNOL	Fakultní nemocnice Olomouc
GA	gestational age, gestační věk
h	hodina
H0	nulová hypotéza
HA	alternativní hypotéza
IL-1	interleukin 1
IL-8	interleukin 8
IUGR	intrauterinní růstová restrikce
JIRP	jednotka intenzivní a resuscitační péče
m	měsíc
MM	mateřské mléko
NEC	nekrotická enterokolitida
p	p-value, signifikance, p-hodnota
PRR receptory	pattern recognition receptory
RNA	ribonukleová kyselina
SC	císařský řez
Sp.	species
Spp.	species pluralis
Tzv.	takzvaně
UM	umělé mléko, umělé mléčné formule
UPV	umělá plicní ventilace
USA	Spojené státy americké
ÚMTM LF UPOL	Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
VLBW	very low birth weigh, velmi nízká porodní hmotnost

VP

vaginální porod

ŽM

ženské mléko

Seznam obrázků

Obrázek 1 - Výskyt nejčastějších bakteriálních taxonů v jednotlivých vzorcích v týdenním měřítku	19
Obrázek 2 – Porovnání střevní mikrobioty nezralých novorozenců na základě způsobu porodu	25
Obrázek 3 – Porovnání střevní mikroflóry nezralých novorozenců dle způsobu porodu na úrovni kmenů	27
Obrázek 4 – Zobrazení střevní mikroflóry nezralých novorozenců po SC	28
Obrázek 5 – Zobrazení střevní mikroflóry nezralých novorozenců po VP	29
Obrázek 6 – Porovnání střevní mikrobioty na základě druhu podávané stravy předčasně narozenému novorozenci.....	32
Obrázek 7 – Porovnání střevní mikroflóry nezralých novorozenců podle expozice antibiotikům během jejich intrauterinního vývoje.....	34
Obrázek 8 – Porovnání střevní mikroflóry nezralých novorozenců podle druhu podávaných antibiotik.....	36
Obrázek 9 – Porovnání střevní mikroflóry nezralých novorozenců podle druhu podávaných antibiotik.....	37
Obrázek 10 – Porovnání střevní mikroflóry nezralých novorozenců podle délky užívání antibiotik.....	38
Obrázek 11 – Zobrazení bakteriálních rodů detekovaných ve střevní mikroflóře nezralých novorozenců se suplementací probiotik a placeba	43
Obrázek 12 – Podobnosti mezi mateřskou a fetální mikroflórou u termínových a předčasně narozených novorozenců.....	47
Obrázek 13 – Srovnání střevní mikroflóry termínových a předtermínových novorozenců dle způsobu porodu.....	50
Obrázek 14 – Srovnání střevní mikroflóry termínových a předtermínových novorozenců dle způsobu porodu.....	51
Obrázek 15 – Srovnání střevní mikroflóry termínových a předtermínových novorozenců na v průběhu prvního roku života	52

Seznam tabulek

Tabulka č. 1 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti axily na úrovni kmenů.....	59
Tabulka č. 2 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti krk-nos na úrovni kmenů.....	59
Tabulka č. 3 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti ucha na úrovni kmenů.....	59
Tabulka č. 4 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti rekta na úrovni kmenů.....	60
Tabulka č. 5 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti axily na úrovni rodů.....	62
Tabulka č. 6 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti krk-nos na úrovni rodů.....	63
Tabulka č. 7 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti ucha na úrovni rodů.....	63
Tabulka č. 8 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle způsobu porodu z oblasti rekta na úrovni rodů.....	64
Tabulka č. 9 - Mikrobiální osídlení rekta v průběhu prvního měsíce života u novorozenců po VP na úrovni kmenů.....	67
Tabulka č. 10 - Mikrobiální osídlení rekta v průběhu prvního měsíce života u novorozenců po SC na úrovni kmenů.....	68
Tabulka č. 11 - Mikrobiální osídlení rekta v průběhu prvního měsíce života u novorozenců po VP na úrovni rodů.....	71
Tabulka č. 12 - Mikrobiální osídlení rekta v průběhu prvního měsíce života u novorozenců po SC na úrovni rodů.....	72
Tabulka č. 13 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA z oblasti axily na úrovni kmenů.....	76
Tabulka č. 14 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA z oblasti krk-nos na úrovni kmenů.....	77
Tabulka č. 15 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA z oblasti ucha na úrovni kmenů.....	77
Tabulka č. 16 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA z oblasti rekta na úrovni kmenů.....	77
Tabulka č. 17 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA věku z oblasti axily na úrovni rodů.....	80

Tabulka č. 18 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA z oblasti krk-nos na úrovni rodů.....	81
Tabulka č. 19 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA z oblasti ucha na úrovni rodů.....	81
Tabulka č. 20 - Vstupní mikrobiální osídlení novorozenců rozdělených dle GA z oblasti rekta na úrovni rodů.....	82
Tabulka č. 21 - Mikrobiální osídlení rekta v průběhu prvního měsíce života u novorozenců s GA <29+0 na úrovni kmenů	84
Tabulka č. 22 - Mikrobiální osídlení rekta v průběhu prvního měsíce života u novorozenců s GA ≥ 29+0 na úrovni kmenů	85
Tabulka č. 23 - Mikrobiální osídlení rekta v průběhu prvního měsíce života u novorozenců s GA <29+0 na úrovni rodů.....	88
Tabulka č. 24 - Mikrobiální osídlení rekta v průběhu prvního měsíce života u novorozenců s GA ≥ 29+0 na úrovni rodů	89

Seznam grafů

Graf č. 1 - Srovnání pozitivních nálezů ve vstupních stěrech na úrovni kmenů.....	60
Graf č. 2 - Zobrazení nálezů kmene Firmicutes ve vstupních stěrech novorozenců rozdělených dle způsobu porodu	61
Graf č. 3 - Srovnání pozitivních nálezů vstupních stěrů novorozenců rozdělených dle způsobu porodu na úrovni rodů	65
Graf č. 4 - Zobrazení výskytu bakteriálního rodu Staphylococcus ve vstupních stěrech novorozenců rozdělených dle způsobu porodu.....	65
Graf č.4 - Podíly jednotlivých kmenů na celkovém počtu pozitivních nálezů v daném čase a způsobu porodu	68
Graf č. 5 - Zobrazení vývoje kmene Firmicutes v průběhu prvního měsíce života novorozenců rozdělených dle způsobu porodu	69
Graf č. 6 - Zobrazení vývoje kmene Proteobacteria v průběhu prvního měsíce života novorozenců rozdělených dle způsobu porodu	70
Graf č. 7 - Komparace pozitivních nálezů 5 nejčastěji nalezených bakteriálních rodů u výzkumných skupin rozdělených dle způsobu porodu v daném čase.....	73
Graf č. 8 - Zobrazení vývoje rodu Escherichia v průběhu prvního měsíce života novorozenců rozdělených dle způsobu porodu	73
Graf č. 9 - Zobrazení vývoje rodu Staphylococcus v průběhu prvního měsíce života novorozenců rozdělených dle způsobu porodu	74
Graf č. 10 - Zobrazení vývoje rodu Klebsiella v průběhu prvního měsíce života novorozenců rozdělených dle způsobu porodu	75
Graf č. 11 - Komparace pozitivních nálezů ve vstupních stěrech u výzkumných skupin rozdělených dle GA na úrovni kmenů	78
Graf č. 12 - Zobrazení nálezů kmene Firmicutes ve vstupních stěrech u novorozenců rozdělených dle GA	78
Graf č. 13 - Zobrazení nálezů kmene Proteobacteria ve vstupních stěrech u novorozenců rozdělených dle GA	79
Graf č.14 - Komparace pozitivních nálezů ve vstupních stěrech u výzkumných skupin rozdělených dle GA na úrovni rodů.....	82
Graf č.15 - Komparace pozitivních nálezů v stěrech z rekta u výzkumných skupin rozdělených dle GA na úrovni kmenů	85
Graf č. 16 - Zobrazení vývoje kmene Firmicutes ve střevní mikroflóře u novorozenců rozdělených dle GA	86

Graf č. 17 - Zobrazení vývoje kmene Proteobacteria ve střevní mikroflóře u novorozenců rozdělených dle GA.....	86
Graf č. 18 – Komparace pozitivních nálezů 5 nejčastěji nalezených bakteriálních rodů u výzkumných skupin rozdělených dle GA v daném čase	90

Seznam příloh

Příloha č. 1 – Souhlasné stanovisko Etické komise Fakulty zdravotnických věd..... 115

Příloha č. 1 – Souhlasné stanovisko Etické komise Fakulty zdravotnických věd



Fakulta
zdravotnických věd

UPOL-34746/1030S-2024

**Vážená paní
Bc. Simona Grulichová**

2024-01-30

Vyjádření Etické komise FZV UP

Vážená paní bakalářko,

na základě Vaší Žádosti o stanovisko Etické komise FZV UP byla Vaše výzkumná část diplomové práce posouzena a po vyhodnocení všech zaslaných dokumentů Vám sdělujeme, že diplomové práci s názvem „**Mikrobiom nezralého novorozence**“, jehož jste hlavní řešitelkou, bylo uděleno

souhlasné stanovisko Etické komise FZV UP .

S pozdravem,

Mgr. Simona Dobešová Cakirpaloglu, Ph.D.
předsedkyně
Etické komise FZV UP

Fakulta zdravotnických věd Univerzity Palackého v Olomouci
Hněvotínská 3 | 775 15 Olomouc | T: 585 632 852
www.fzv.upol.cz