

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Probiotika a laktózová intolerance

Bakalářská práce

**Denisa Hruzová
Výživa a potraviny**

doc. Ing. Šárka Musilová, Ph.D.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Probiotika a laktózová intolerance" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21. 4. 2023

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala paní doc. Ing. Šárce Musilové, Ph.D. za vstřícnost a celkový odborný dohled nad mou závěrečnou prací, a především za trpělivost při vypracování praktické části této práce. Děkuji i Katedře mikrobiologie, výživy a dietetiky za poskytnutí prostorů a materiálu pro tuto bakalářskou práci. Na závěr bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za velikou podporu a pomoc v průběhu celého studia.

Probiotika a laktózová intolerance

Souhrn

Probiotika jsou stále více populární a jsou považována za klíčová při udržování zdravého trávení a celkového zdraví. Jedná se o živé mikroorganismy, které se přirozeně vyskytují v lidském trávicím traktu, ale mohou být také přidávány do potravin jako doplňky stravy. Příznivé účinky probiotik jsou podporovány řadou výzkumů, které ukazují, že mohou mít pozitivní vliv na imunitu, střevní mikrobiotu, trávení, snižování zánětu a mnoho dalších zdravotních stavů.

Bifidobacterium a *Lactobacillus* jsou nejčastěji používané rody probiotických mikroorganismů v potravinářském průmyslu. Tyto mikroorganismy se využívají v různých potravinách jako jsou jogurty, sýry nebo kefír, a to kvůli jejich schopnosti fermentovat laktózu. To znamená, že dokážou rozkládat mléčný cukr a přeměňovat ho na kyselinu mléčnou. To je velmi významné pro osoby s laktózovou intolerancí, protože nedokážou trávit mléčné výrobky. Přidávání probiotik do mléčných výrobků může lidem s laktózovou intolerancí pomoci konzumovat tyto potraviny bez nežádoucích vedlejších účinků.

Laktóza neboli mléčný cukr se vyskytuje především v mléčných výrobcích a mléce. Za normálních okolností je štěpena v tenkém střevě enzymem laktázou na glukózu a galaktózu. Pokud však dojde k selhání trávení a/nebo k selhání štěpení laktózy v tenkém střevě (malabsorpce laktózy), dochází k nežádoucím příznakům, jako jsou bolesti břicha, nadýmání a průjem, které se souhrnně označují jako laktózová intolerance.

Cílem této práce bylo porovnání specifické růstové rychlosti probiotických kmenů na laktóze a určení kmenů s nejvyšší specifickou růstovou rychlostí, jež by mohly být vhodným probiotikem při laktózové intoleranci.

Z výsledků experimentu vyplývá, že všechny testované kmeny *B. bifidum* a *Lactobacillus* měly rychlejší specifickou růstovou rychlost v médiu obohaceném o laktózu a kratší generační dobu než v médiu bez laktózy. Z toho lze odvodit, že bifidobakterie jsou schopny efektivně využívat laktózu jako zdroj uhlíku a přidání laktózy má pozitivní vliv na růst těchto bakterií; to se projevilo výrazně vyšší specifickou růstovou rychlostí a kratší generační dobou.

Klíčová slova: probiotika; laktózová intolerance; laktóza; specifická růstová rychlost; růstová křivka bakterií

Probiotics and lactose intolerance

Summary

Probiotics are becoming increasingly popular and are considered to be crucial in maintaining digestion and overall health. Probiotics are live microorganisms that occur naturally in the human digestive tract but can also be added to foods as dietary supplements. The beneficial effects of probiotics are supported by several studies that show their positive effect on immunity, gut microbiota, digestion, reducing inflammation, as well as many other health benefits.

Bifidobacterium and *Lactobacillus* are the most commonly used genera of probiotic microorganisms in the food industry. These microorganisms are used in various foods such as yogurt, cheese, and kefir for their ability to utilize lactose. This means that they can break down milk sugar and convert it into lactic acid. This is very significant for people with lactose intolerance because they cannot digest dairy products. Adding probiotics to dairy products can help people with lactose intolerance to consume these foods without adverse side effects.

Lactose is mainly found in dairy products and milk. It is normally broken down in the small intestine by the enzyme lactase into glucose and galactose. However, when digestion fails and/or lactose is not broken down in the small intestine (lactose malabsorption), undesirable symptoms such as abdominal pain, bloating and diarrhoea occur, which are collectively referred to as lactose intolerance.

The aim of this study was to compare the specific growth rate of probiotic strains on lactose and to identify the strains with the highest specific growth rate that could be suitable probiotics for lactose intolerance.

The results of the experiment showed that all examined *B. bifidum* and *Lactobacillus* strains had a faster specific growth rate in a lactose-enriched medium and a shorter generation time than in a lactose-free medium. This suggests that bifidobacteria are able to utilize lactose as a sole carbon source and that the addition of lactose has a positive effect on the growth of these bacteria; this was reflected in a significantly higher specific growth rate and shorter generation time.

Keywords: probiotics; lactose intolerance; lactose; specific growth rate; bacterial growth curve

Obsah

1	Úvod	7
2	Vědecká hypotéza a cíl práce	8
3	Literární rešerše	9
3.1	Výskyt a význam probiotik	9
3.1.1	Mechanismus účinku probiotik	9
3.2	Užití probiotik při laktózové intoleranci	10
3.3	Charakteristika nejvýznamnějších rodů probiotických bakterií	13
3.3.1	Rod <i>Bifidobacterium</i>	13
3.3.2	Rod <i>Lactobacillus</i>	14
3.3.3	Rod <i>Escherichia</i>	15
3.3.4	Rod <i>Saccharomyces</i>	16
3.4	Vlastnosti laktózy a její trávení	16
3.4.1	Laktóza v potravinách	17
3.4.2	Hypolaktázie	17
3.4.3	Malabsorpce a intolerance laktózy	18
3.4.3.1	Projevy laktózové intolerance	19
3.4.3.2	Diagnostika malabsorpce laktózy	21
4	Metodika	23
4.1	Materiál	23
4.1.1	Příprava kultur probiotik k zaočkování	23
4.1.2	Příprava média bez uhlíkového zdroje a roztoku laktózy	24
4.2	Měření optické hustoty	25
5	Výsledky	27
5.1	Naměřené hodnoty optické hustoty	27
5.2	Růstová křivka bakterií	32
5.3	Specifická růstová rychlost a generační doba	38
6	Diskuze	40
7	Závěr	43
8	Citovaná literatura	44

1 Úvod

Lidské tělo je osídleno vysokým počtem organismů. Společenství těchto mikroorganismů je nazýváno mikrobiota. Ta se v posledních letech stala předmětem mnoha odborných studií, neboť v ní vědci vidí značný potenciál a šanci najít odpověď na řadu otázek souvisejících s lidským zdravím.

Formování střevní mikrobioty začíná již od narození a její složení lze upravit podáváním probiotik. Probiotika jsou živé mikroorganismy, které mají v adekvátním množství pro hostitele příznivé zdravotní účinky. Jejich hlavním přínosem je rozvoj příznivějšího střevního prostředí a zdravého trávicího a imunitního systému (Hill, 2014). Probiotika mohou být využita ke zlepšení trávení laktózy ve střevech (Ibrahim, 2013), což může příznivě ovlivnit a zmírnit příznaky laktózové intolerance (De Vrese, 2001).

Jakákoliv příčina selhání trávení a/nebo vstřebávání laktózy v tenkém střevě se označuje jako malabsorpce laktózy. Intolerance laktózy značí výskyt příznaků, jako jsou bolesti břicha, nadýmání nebo průjem, u pacientů s malabsorpcí laktózy po požití laktózy (Misselwitz, 2019).

Při diagnostice malabsorpce laktózy se využívá laktózový toleranční test, kdy se pacientovi podává perorální nálož laktózy a poté se v předem stanovených časových intervalech měří hladina glukózy v krvi (Pimentel, 2003). Jednodušší a častěji využívanou metodou je dechový test na laktózový vodík, který je při bakteriální fermentaci laktózy produkován spolu s oxidem uhličitým a metanem, a který způsobuje bolesti břicha a nadýmání (Misselwitz, 2017).

2 Vědecká hypotéza a cíl práce

Hypotéza předpokládá, že existuje znatelný rozdíl mezi specifickou rychlostí růstu různých druhů bakterií v závislosti na laktóze v kultivačním médiu.

Cílem této práce bylo sestavit přehlednou literární rešerši o laktózové intoleranci, možností jejího ovlivnění pomocí dostupných probiotik a porovnání specifické růstové rychlosti probiotických bakterií na laktóze.

3 Literární rešerše

3.1 Výskyt a význam probiotik

Termínem probiotika označujeme bakterie, které mají příznivé funkce na mikrobiotu. Jsou to živé mikroorganismy, které mají v adekvátním množství pro hostitele příznivé zdravotní účinky (Hill, 2014).

Koncept probiotik navrhl kolem roku 1900 nositel Nobelovy ceny, Élie Metchnikoff, který zjistil, že konzumace živých mikroorganismů (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) v zakysaném mléce nebo jogurtu zlepšují některé vlastnosti gastrointestinálního traktu (GIT) (De Simone, 2019).

Hlavním přínosem probiotik je rozvoj příznivějšího střevního prostředí a zdravého trávicího a imunitního systému. Společnými vlastnostmi různých probiotických rodů jsou odolnost vůči kolonizaci, produkce mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFA) a bakteriocinů, regulace střevního tranzitu, normalizace střevní sekrece, regulace střevní sekrece, regulace střevní mikrobioty, modulace imunitního systému a kompetitivní působení na organismus. Mechanismy účinku probiotik jsou však různorodé, heterogenní a specifické pro jednotlivé kmeny (Hill, 2014).

Využití probiotik ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu je poměrně univerzální, protože mohou být podávána ve formě léků, potravin, léčivých přípravků a doplňků, doplňků stravy, kojenecké výživy nebo krmiv pro zvířata (Télessy, 2019).

Mezi nejvýznamnějších probiotické mikroorganismy používané v potravinářském průmyslu patří rod *Bifidobacterium* (např. *B. lactis*, *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. animalis*, *B. longum*), *Lactobacillus* (např. *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. paracasei*) a některé druhy *Enterococcus* a kvasinky (např. *Kluyveromyces marxianus* a *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*) (Nami, 2019).

Použití probiotik v potravinách nebo jako doplňků stravy se specifickým zdravotním tvrzením vyžaduje předchozí potvrzení prostřednictvím studií na lidech, např. pozitivní metaanalýzy, randomizované klinické studie nebo důkazy z pozorovacích studií (Hill, 2014). Je třeba poznamenat, že každá výroba probiotických potravin musí být v souladu s pokyny pracovní skupiny FAO/WHO.

3.1.1 Mechanismus účinku probiotik

Mezi hlavní mechanismy účinku probiotik patří posílení epiteliální bariéry, zvýšení adheze ke střevní sliznici a současná inhibice adheze patogenů, kompetitivní vyloučení patogenních mikroorganismů, produkce látek proti mikroorganismům a modulace imunitního systému (Ohland, 2010).

Střevní bariéra je hlavním obranným mechanismem sloužícím k udržení integrity epitelu a k ochraně organismu před okolním prostředím. Obranný systém střevní bariéry tvoří slizniční vrstva, antimikrobiální peptidy, sekreční IgA a adhezivní komplex epiteliálního spojení

(Ohland, 2010). Při narušení této bariérové funkce se bakteriální a potravinové antigeny mohou dostat do podslizniční vrstvy a vyvolat zde zánětlivé reakce, které mohou vyústit ve střevní poruchy. Konzumace nepatogenních bakterií může přispívat k funkci střevní bariéry a z důvodu jejich podílu na udržování této bariéry byly podrobně zkoumány (Anderson, 2010).

Mechanismy, kterými probiotika zlepšují funkci střevní bariéry, však nejsou zcela objasněny. Několik studií naznačilo, že zvýšení exprese genů zapojených do signalizace těsných spojů je možným mechanismem posilování integrity střevní bariéry (Anderson, 2010). Probiotické bakterie jsou schopny adherovat k epiteliálním buňkám, a tím blokovat patogeny. Tento mechanismus má významný vliv na zdravotní stav hostitele. Adheze probiotických mikroorganismů k epiteliálním buňkám může navíc spustit signální kaskádu, která vede k imunologické modulaci. Případně může dojít k přímé nebo nepřímé (prostřednictvím epiteliálních buněk) aktivaci imunologických buněk uvolněním některých rozpustných složek. Tento účinek hraje důležitou roli v prevenci a léčbě infekčních onemocnění, stejně jako při chronickém zánětu trávicího traktu nebo jeho části (Oelschlaeger, 2010).

3.2 Užití probiotik při laktóзовé intoleranci

Fermentované potraviny a doplňky stravy, jako jsou probiotika, prebiotika a synbiotika, mohou být použity ke změně složení a metabolismu střevní mikrobioty za účelem zlepšení trávení laktózy (Awaisheh, 2005; Awaisheh, 2012; Ibrahim, 2013). Předchozí studie ukázaly, že trávení laktózy a příznaky laktóзовé intolerance lze zlepšit pomocí probiotik, která upravují pH ve střevě, exprimují β -galaktosidázou (laktázu), a mají pozitivní vliv na střevní aktivitu a celkovou mikrobiotu tlustého střeva (De Vrese, 2001).

Bylo prokázáno, že bakterie mléčného kvašení fermentují laktózu za vzniku laktátu, vodíku, metanu, oxidu uhličitého a mastných kyselin s krátkým řetězcem (Hove, 1999; Ibrahim, 2013). Během fermentace laktáza přítomná v bakteriích mléčného kvašení štěpí nevstřebanou laktózu na glukózu a galaktózu a ta se pak vstřebává do těla. V tenkém střevě je při pH 6-8 aktivita laktázy optimální, ale v tlustém střevě se pH sníží na 4 a laktóza zůstává nezkašená kvůli poklesu aktivity bakteriální laktázy. Nestrávenou laktózu lze tedy považovat za prebiotikum, které stimuluje růst prospěšné mikrobiotě fermentací mléka obsahujícího méně laktózy (Ibrahim, 2013).

Stupeň intolerance laktózy u různých jedinců je způsoben variabilitou mikrobioty tlustého střeva při fermentaci laktózy (Arola, 2009). V důsledku toho lze ke zmírnění příznaků intolerance laktózy použít mléčné potraviny, které obsahují aktivní kultury. Konzumace aktivních a živých kultur spolu s užíváním enzymu β -galaktosidázy (laktázy), který štěpí laktózu, a konzumace probiotik by mohla být pro jedince s intolerancí laktózy prospěšná (Awaisheh, 2012).

Ibrahim a Gyawali (2013) studovali vliv laktázy z kvasinek a plísní požitých ve formě kapslí a zjistili výsledné významné zvýšení trávení laktózy. *Streptococcus thermophilus* produkuje β -galaktosidázu během svého průchodu trávicím traktem a tento enzym snižuje obsah laktózy. Tato studie byla provedena na myších a ukázala, že produkovaný enzym je aktivní a je schopen

hydrolyzovat laktózu, což vede k celkovému snížení laktózy ve výkalech (Ibrahim, 2013). Probiotika vykazují přímé účinky ve střevě při léčbě trávení laktózy. Bylo například prokázáno, že podávání probiotického kmene *L. planatarum* zlepšuje trávení laktózy, snižuje průjem a omezuje nadýmání, plynatost a bolesti při syndromu dráždivého tračníku (Marteau, 2001).

V klinické intervenční studii laktózové intolerance, kterou provedli Ibrahim a Gyawali (2013), bylo mléko obsahující *L. acidophilus* srovnáváno s běžným mlékem, ale neprokázalo se, že by došlo ke snížení gastrointestinálních příznaků. Existují také přesvědčivé důkazy o tom, že některá probiotika mohou zlepšit trávení laktózy, ale nezmiřňují příznaky laktózové intolerance. Příjem jogurtu způsobuje méně příznaků než příjem mléka, a to především díky vysoké aktivitě β -galaktosidázy v jogurtu, částečné hydrolýze laktózy a pomalejšímu střevnímu tranzitu, který je důsledkem trávení laktózy v jogurtu (Rabot, 2010). To může souviset s konkrétními bakteriálními kmeny použitými v těchto jogurtových výrobcích a životaschopností bakteriálních kmenů v konečných výrobcích (Ibrahim, 2006).

Systematický přehled jedné kontrolované studie ukázal příznivý vliv suplementace probiotiky na výsledky vodíkového dechového testu a na příznaky laktózové intolerance. Pacienti vykazovali snížení množství vydechaného vodíku a zlepšení křečí v břiše, průjmu, zvracení, nadýmání a/nebo plynatosti (Leis, 2020). Podobně Gingold-Belfer et al. (2020) hodnotili účinnost probiotik s β -galaktosidázovou aktivitou na příznaky malabsorpce laktózy a na dechový test na laktózový vodík. Autoři zjistili, že probiotický přípravek s β -galaktosidázovou aktivitou může sloužit jako volitelná léčba v případě malabsorpce laktózy. Ibrahim a Gyawali (2013) uvádějí snížení obsahu laktózy přibližně o 20-40 % během fermentace bakteriemi mléčného kvašení. Jejich studie ukázala, že suplementace *B. longum* a jogurtu *B. animalis* změnila počet bakterií a zvýšila aktivitu β -galaktosidázy ve výkalech jedinců s intolerancí laktózy.

Bakterie mléčného kvašení obsažené ve fermentovaném mléce zvyšují aktivitu laktázy v tenkém střevě, a tím zajišťují příznivé účinky. Stále však není jasné, zda je to jogurt, který dodává laktázu, nebo zda jsou to bakterie, které laktázu produkují, když se dostanou do střeva (Ibrahim, 2013).

Ibrahim a Gyawali (2013) studovali vliv nefermentovaného mléka obsahujícího *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* na využití laktózy. V této studii bylo připraveno nefermentované mléko se sníženým obsahem tuku (2 %) obsahující *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* s konečnou bakteriální populací 8 Log CFU/ml. Maldigesce laktózy pak byla sledována měřením hladiny vodíku v dechu v hodinových intervalech po dobu 8 hodin po konzumaci 400 ml vzorků mléka. Tato studie prokázala, že příznaky maldigesce laktózy se výrazně zlepšily. Výsledky naznačují, že *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* je účinnou volbou pro výrobu nefermentovaného mléka pro osoby trpící maldigescí laktózy. Tato studie mimo jiné také ukazuje jasný důkaz, že konzumace fermentovaných mléčných výrobků obsahujících specifické probiotické kmeny ve vhodném množství by měla být zařazena do jídelníčku osob s intolerancí laktózy.

Účinnost probiotik závisí kromě hladiny laktázy nebo transportu laktózy také na toleranci kmene vůči žluči a kyselinám (Ibrahim, 2013; Mustapha, 1997).

Bylo provedeno několik studií za účelem stanovení alternativních přístupů ke zvýšení aktivity mikrobiální laktázy (β -galaktosidázy) a výběru probiotických kmenů schopných produkovat velké množství β -galaktosidázy (Ibrahim, 2013). Tento klasický potravinářský přístup tak může mírně zvýšit koncentraci β -galaktosidázy v probiotických kulturách a zlepšit tak potenciál probiotických bakterií pro léčbu příznaků malabsorpce laktózy u lidí.

Ibrahim a O'Sullivan (2000) vyvinuli protokol klasické chemické mutagenese pro zlepšení potenciálu pro léčbu příznaků malabsorpce laktózy u lidí, který má velký potenciál pro hodnocení funkčnosti probiotik. V této studii bylo testováno několik kmenů rodu *Bifidobacterium* (*B. breve* a *B. longum*) a po jednom kmeni *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus* jednorázovým vystavením dvěma chemickým mutagenům, ethylmethanesulfonátu (EMS) a N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidinu (MNNG). Mutanti vykazovali zvýšenou aktivitu β -galaktosidázy ve srovnání s divokými kmeny.

Alazzeh et al. (2011), Ibrahim a Gyawali (2013) uvedli podobné výsledky a prokázali, že chemická mutagenese *L. reuteri* vedla ke zvýšení β -galaktosidázy, což ukázalo, že chemické mutageny lze použít jako praktický přístup ke zvýšení enzymatické aktivity (Donkor, 2007; Hsu, 2005; Ibrahim, 2000). Alazzeh et al. (2011), Ibrahim a Gyawali (2013) prokázali vliv různých zdrojů sacharidů a bílkovin na zvýšení produkce α - a β -galaktosidázy u šesti kmenů *L. reuteri*. Na základě této studie byly rafinóza a laktóza nejlepšími zdroji sacharidů pro produkci α -, resp. β -galaktosidázy. Kvasnicový extrakt byl nejlepším zdrojem bílkovin pro produkci obou enzymů a kmen *L. reuteri* CF2-7F byl nejlépe produkujícím kmenem za všech experimentálních podmínek. Tyto kmeny by proto mohly být potravinářskou přísadou, která by poskytovala výhody osobám s intolerancí laktózy.

Ibrahim et al. (2010), Ibrahim a Gyawali (2013) také prokázali zvýšení aktivity α - a β -galaktosidázy, když byly do růstového média kmene *L. reuteri* CF2-7F přidány ionty Mn^{2+} . Bhowmik et al. (1987), Ibrahim a Gyawali (2013) hodnotili vliv různých růstových podmínek na aktivitu β -galaktosidázy u *L. acidophilus* a zjistili, že aktivita enzymu byla stimulována hořčíkem.

Ibrahim and Gyawali (2013) uvedli vyšší produkci β -galaktosidázy z jogurtu fermentovaného *L. acidophilus* a *L. plantarum* obohaceného různými druhy bylin. Zvýšení aktivity β -galaktosidázy lze přičíst antioxidantům obsaženým v bylinách. Tato metabolická dráha by mohla zvýšit produkci specifických metabolitů probiotik, které v konečném důsledku vedou k produkci funkčních sloučenin. Některé z těchto sloučenin by také mohly ovlivnit metabolismus laktózy (Gyawali, 2012).

Podobně bylo prokázáno, že několik minerálních živin, jako jsou Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} a Ca^{2+} , má vliv na růst, produkci kyseliny mléčné a funkčnost probiotik (Gyawali, 2012). V důsledku toho bylo prokázáno, že přítomnost těchto minerálních látek vytváří prostředí, které indukuje novou metabolickou dráhu. Jedním z limitujících faktorů při studiu vlivu fermentovaných mléčných výrobků na intoleranci laktózy byl nedostatek komplexního testu pro měření aktivity enzymu (laktázy). Je třeba hledat účinnou techniku, která by získala enzym z bakteriálních buněk (Ibrahim, 2013) a je třeba vyhodnotit účinnost takové extrakční metody.

V jedné nedávné studii byly vyhodnoceny chemické (rozpuštědla) a mechanické (sonikace) metody pro získání enzymu (Gyawali, 2020). Studie prokázala, že mechanická extrakce pomocí sonikace poskytuje nejlepší nástroj pro získání nejvyšší výtěžnosti enzymu v mléčných výrobcích. Problém intolerance laktózy vedl potravinářský průmysl k odstranění mléčných potravin nebo jejich složek z různých potravinářských výrobků. To by však mohlo vést k nedostatečnému příjmu živin, zejména vápníku (Ibrahim, 2013).

Mnoho jedinců s laktózovou intolerancí by mohlo konzumovat mléčné výrobky bez výsledných příznaků prostou konzumací fermentovaných mléčných výrobků namísto nefermentovaných. Jiným jedincům omezení laktózy skutečně výrazně prospívá, je však třeba dbát na zajištění příjmu vápníku. Lepší pochopení složitosti intolerance laktózy, nedostatku laktázy a vzniku symptomů by lékařům pomohlo účinněji léčit pacienty (Ibrahim, 2013).

3.3 Charakteristika nejvýznamnějších rodů probiotických bakterií

3.3.1 Rod *Bifidobacterium*

Bifidobakterie představují velmi hojné a rozšířené zástupce ve střevech savců (Devika, 2019). Řada studií prokázala, že různé metabolické, imunitní a střevní onemocnění se shoduje s úbytkem bifidobakterií ve střevní mikrobiotě lidského organismu (Marchesi, 2017). Jejich pozitivní souvislost se zdravím a pohodou v průběhu celého lidského života podnítilo řadu výzkumů zaměřených na hodnocení prospěšných aktivit vyvolávaných bifidobakteriemi (Hidalgo-Cantabrana, 2018), přičemž se hojně využívají kmeny *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Sarkar, 2016).

V posledním desetiletí bylo několik výzkumů zaměřeno na identifikaci izolátů z lidského střeva jako potenciálních probiotik nové generace nebo živých bioterapeutik (O'Toole, 2017).

Co se týče relativního zastoupení *Bifidobacterium* ve střevní mikrobiotě, může u dospělého člověka dosahovat až 15 % (Arboleya, 2016), přičemž vyšší průměrné množství bylo zjištěno u Japonců ($17,9 \pm 15,2$ %) (Nishijima, 2016). Tato variabilita může být způsobena analytickými parametry, genetickými faktory (Kurilshikov, 2021) a faktory prostředí, jako je např. strava (Bolte, 2021).

Bifidobakteriální společenstva přítomná v lidském střevě jsou v zásadě zastoupena 12 bifidobakteriálními (pod)druhy, jejichž detekce, abundance a prevalence se liší podle věku. Předchozí studie to označovaly jako (bifido)bakteriální taxony dospělého a dětského typu (Turroni, 2012), přičemž tyto druhy nejsou výhradně vázány na určitý věk hostitele, ale spíše se liší prevalencí a/nebo abundancí. Například střevní mikrobiota kojenců obvykle obsahuje vyšší množství a prevalenci *B. bifidum*, *B. breve* a *B. longum* subsp. *infantis* ve srovnání s dospělými nebo staršími lidmi (Oliver, 2021). Nejpočetnější a nejrozšířenější druhy představují podle všeho *B. adolescentis* a *B. longum* subsp. *longum* (Ramirez-Farias, 2009), přičemž v některých asijských populacích byla zjištěna vysoká prevalence a početnost *B. pseudocatenulatum* (Nishijima, 2016).

3.3.2 Rod *Lactobacillus*

Laktobacily jsou grampozitivní, tyčinkovité, fakultativně anaerobní nebo mikroaerofilní, nesporelující, acidotolerantní a katalázově negativní bakterie (Salvetti, 2012).

Lactobacillus je největší rod čeledi *Lactobacillaceae*. V květnu 2018 jej tvořilo 196 platně publikovaných druhů (Parte, 2020) a tyto druhy jsou běžně izolovány nejen z prostředí spojeného s fermentovanými potravinami, jako je ovoce, maso, kvásek, zelenina a víno, ale také z gastrointestinálního a vaginálního traktu lidí a zvířat (Tamang, 2016)

V současné době probíhá reklasifikace čeledi *Lactobacillaceae*, rodů *Lactobacillus*, *Paralactobacillus* a *Pediococcus*. V původním rodu *Lactobacillus* bylo ponecháno pouze 38 druhů ze skupiny *Lactobacillus delbrueckii*. Tyto změny se již objevují v oficiálních databázích (např. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature). Snahou autorů bylo lépe zařadit a zdokumentovat jednotlivé druhy tak, aby se heterogenita genomu projevila v taxonomii a bylo možno odlišit jednotlivé zástupce z hlediska ekologických a funkčních vlastností a adaptace na hostitele. Příklady změn zařazení ostatních druhů, které se nejčastěji používají v potravinářských technologiích či v probiotických doplňcích stravy, jsou uvedeny v Tabulka 1 (Horáčková, 2020).

Tabulka 1 - Nové zařazení některých druhů rodu *Lactobacillus*.

Basonyma (původní názvy)	Nové zařazení
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Limosilactobacillus reuteri</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i>
<i>Lactobacillus kefir</i>	<i>Lentibacillus kefir</i>
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	<i>Fructilactobacillus sanfranciscensis</i>

(Horáčková, 2020)

Mezi skupinami probiotických bakterií jsou laktobacily nejrozšířenějším rodem a jejich protinádorové vlastnosti byly prokázány několika studiemi (Zhong, 2014). Tyto kmeny vykazují své protinádorové aktivity různými mechanismy, včetně modifikace střevní bariéry, modulace imunitních reakcí hostitele, indukce apoptózy a produkce metabolitů s antiproliferativními a protizánětlivými vlastnostmi (Sharma, 2019).

Díky svým rozmanitým účinkům na lidské zdraví patří laktobacily neboli bakterie mléčného kvašení (LAB) mezi nejrozšířenější probiotika. Laktobacily fermentují sacharidy za vzniku kyseliny mléčné jako hlavního konečného produktu (Wang, 2016).

V současné době se laktobacily široce uplatňují v oblastech souvisejících s potravinami, krmivem, léčivem a biotechnologiemi; používají se například jako mléčné zákysy, probiotika, nosiče vakcín a silážní inokulanty (Giraffa, 2010), což patří mezi ekonomicky nejzajímavější aplikace bakterií mléčného kvašení. Všeobecně známé probiotické kmeny, které patří do této

skupiny, se celosvětově používají ve fermentovaných mléčných výrobcích nebo doplňcích stravy a jako probiotika pro zlepšení zdraví hostitele (Ashraf, 2014; Orlando, 2016; Reid, 2015).

3.3.3 Rod *Escherichia*

Escherichia coli je komenzál ve střevní mikrobiotě obratlovců (Tenailon, 2010) a oportunní patogen (Croxen, 2010). *Escherichia coli* je převládající aerobní bakterií střevní mikrobioty, ačkoli je v poměru 100:1-10 000:1 převyšována anaerobními bakteriemi. U člověka je její prevalence více než 90 % s koncentrací na gram stolice 10^7 až 10^9 kolonie tvořících jednotek (Tenailon, 2010).

Escherichia coli Nissle byla jedním z prvních kmenů používaných jako probiotikum. Byl izolován v roce 1917 od německého vojáka, který zůstal zdravý, zatímco jeho kamarádi podleli infekcím způsobeným *Shigellou*. Nissle je aktivním kmenem v přípravku Mutaflor, licencovaném léčivém přípravku běžně dostupném v Evropě, Kanadě a Austrálii. Nissle má imunomodulační účinky, včetně potlačení imunitně zprostředkovaného poškození i regulace prospěšných reakcí, a může zlepšit funkci střevní bariéry. Kromě toho může produkovat baktericidní sloučeniny, které snižují růst a produkci toxinů patogenními bakteriemi (Behnsen, 2013). Bezpečnost a účinnost Nissle byla podrobně studována. Četné dvojitě zaslepené placebem kontrolované studie prokázaly, že přípravek Mutaflor je účinný při léčbě a prevenci gastrointestinálních poruch, včetně ulcerózní kolitidy, chronické zácpy, Crohnovy choroby a syndromu dráždivého tračníku. Bylo prokázáno, že při podávání kojencům je bezpečný (Henker, 2008; Lodinová-Žádníková, 2004), ačkoli na zvířecích modelech může dojít k diseminaci, pokud dojde k dysbióze nebo je poškozena adaptivní imunita hostitele (Gronbach, 2010).

Colinfant je probiotikum obsahující kmen *E. coli* (AO 34/86), který se používá jako prevence u kojenců při alergiích, nozokomiálních infekcích a průjmech (Micenková, 2020). Kromě toho je účinný i v pozdějším věku při prevenci infekcí a vzniku alergií. Některé kmeny *Klebsiella oxytoca* se podílejí na průjmech spojených s podáváním antibiotik, které by se podáváním přípravku Colinfant u kojenců mohly snížit. Colinfant rovněž zabraňuje infekci patogenní *E. coli* (Naresh Kumar, 2021).



Obrázek 1 - Přípravek Mutaflor
(<https://mutaflor.com.au>, 2021)



Obrázek 2 - Přípravek Colinfant Newborn
(<https://referanscorp.com>, 2023)

3.3.4 Rod *Saccharomyces*

Saccharomyces boulardii je zatím jedinou probiotickou kvasinkou dostupnou na trhu, která má mnoho probiotických vlastností (Tomicic, 2016). Poptávka po doplňcích stravy s obsahem *S. boulardii* na trhu s probiotiky roste díky různým terapeutickým účinkům (Venugopalan, 2010).

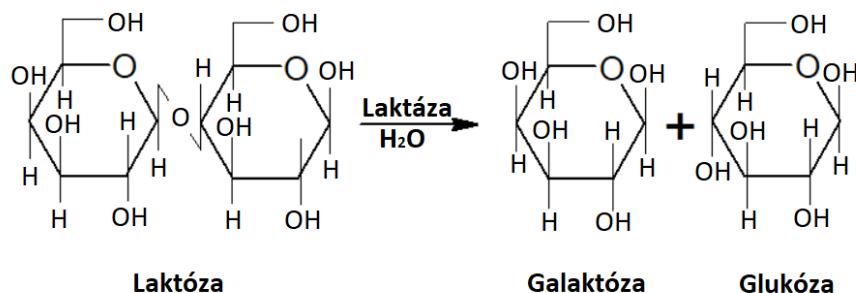
S. boulardii má oválnou nebo kulovitou buňku o šířce 2-3 μm a délce 2,5-10,5 μm (Niamah, 2017) a má silnější buněčnou stěnu než ostatní kvasinky (Lazo-Vélez, 2018). Tato kvasinka se rozmnožuje pohlavně i nepohlavně, a to buněčným pučením, respektive konjugací (Niamah, 2017). Původně byla *S. boulardii* považována za samostatný druh hemiascomycet rodu *Saccharomyces* (Edwards-Ingram, 2007). Edwards-Ingram (2007) dospěl k závěru, že *S. cerevisiae* a *S. boulardii* patří do jednoho druhu. Následující taxonomická zkoumání *S. boulardii* ukázala, že kvasinka by měla být považována za kmen *S. cerevisiae*. V důsledku toho by měla být označována jako *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* (Tomicic, 2016).

V posledních několika letech byly nepatogenní sérotypy *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* uznávané jako probiotika předepisovány zdravotníky k léčbě různých střevních onemocnění (Offei, 2019). Vliv *S. boulardii* na střevní mikrobiotu a na střevní patogeny byl popsán v různých studiích (Peng, 2019). Kontrolované klinické studie odhalily, že perorální konzumace *S. boulardii* by mohla léčit nebo předcházet onemocněním trávicího traktu, jako je periodický syndrom spojený s *Clostridium difficile* (Carstensen, 2018), Crohnova choroba (Guslandi, 2015), cestovatelský průjem (Bisson, 2010), akutní průjem u dětí (Wang, 2019), průjem spojený s antibiotiky (Ehrhardt, 2016) a syndrom dráždivého tračníku (Leventogiannis, 2019).

3.4 Vlastnosti laktózy a její trávení

Laktóza nemá žádný zvláštní nutriční význam pro lidský organismus dospělé osoby. Je ale nejdůležitějším zdrojem energie během prvního roku lidského života, kdy poskytuje téměř polovinu celkové potřeby energie kojenců (Mustapha, 1997).

Laktóza je sacharid, který se nachází především v mléčných výrobcích. Aby se vstřebala, musí být laktóza ve střevě hydrolyzována β -galaktosidázou, laktáza-phlorizin hydrolázou, jinak známou jako laktáza (Vesa, 2000).



Obrázek 3 - Štěpení laktózy enzymem laktázou (vytvořeno v programu ChemSketch autorkou bakalářské práce)

Tento enzym se nejhojněji vyskytuje v organismu v jejunu na konci střevních klků a činí ji tak zranitelnou vůči střevním onemocněním, které způsobují poškození buněk (Vesa, 2000). Z důvodu nedostatku tohoto enzymu u lidí je laktóza ze své podstaty těžko stravitelná, očekává se tedy, že část laktózy se dostane do distálního tenkého střeva, než se vstřebá. Dokonce i u zdravých osob se může až 8 % laktózy dostat do ilea, aniž by byla strávena (Bond, 1976). Nevstřebaná laktóza, která se dostane do tlustého střeva, je obvykle fermentována bakteriální mikrobiotou tlustého střeva, což pak způsobuje příznaky intolerance laktózy (Brummer, 1993).

3.4.1 Laktóza v potravinách

Laktóza má v potravinářském průmyslu několik využití. Používá se například ve sladkostech, cukrovinkách, chlebu a uzeninách, protože díky svým fyziologickým vlastnostem váže vodu a barviva (Mustapha, 1997).

Aktuálně patří mléčné výrobky mezi nejoblíbenější formu konzumace probiotik, přesto však existuje značně zvýšená poptávka po nemléčných probiotických výrobcích, protože mají nízký obsah laktózy a cholesterolu a nemusí se uchovávat v chladu.

Mezi hlavní novinky v této oblasti trhu s probiotickými výrobky patří šťávy, nemléčné nápoje (např. Kombucha), cereální a čokoládové výrobky (B Haffner, 2016). Z tohoto důvodu se v současné době na trhu s probiotickými produkty objevuje velký tržní potenciál v oblasti vývoje nových vegetariánských probiotických výrobků. V tomto smyslu je zajímavým požadavkem identifikace nových probiotických mikroorganismů z fermentace vegetariánských potravin, jako kmenů se specifickými probiotickými vlastnostmi (např. produkce vitamínu B₁₂), které je třeba prozkoumat (Kwak, 2014).

Aby bylo dosaženo mnohostranných zdravotních účinků probiotik, měly by potraviny obsahující probiotické mikroorganismy zahrnovat alespoň 10⁷ CFU/g probiotik a být přijímány v množství vyšším než 100 g/den, aby měly podpůrný vliv na zdraví (Tang, 2019).

Mezi hlavní problémy při používání probiotických mikroorganismů v potravinářských výrobcích patří životaschopnost těchto mikroorganismů v matrici potraviny a během průchodu gastrointestinálním traktem (GI). Chladové napětí, působení žluči, kyselin, osmotický a oxidační stres mohou snížit počet probiotických bakterií a snížit jejich účinný práh (De Oliveira Ribeiro, 2020).

3.4.2 Hypolaktázie

Hypolaktázie může být primární (tj. genetická) nebo sekundární. Ke geneticky podmíněnému snížení aktivity laktázy dochází brzy po odstavení téměř u všech zvířat a u mnoha lidí (Onwulata, 1989). Aktivita klesne přibližně na desetinu i méně než při kojení a tato situace se označuje jako hypolaktázie, nedostatek laktázy (dospělého typu) nebo nepersistence laktázy. Vrozený nedostatek laktázy (CLD) je velmi vzácný (Savilahti, 1983). Na celém světě bylo zdokumentováno pouze několik desítek případů, většina z nich ve Finsku.

Sekundární hypolaktázie nebo maldigesce mohou být důsledkem resekce tenkého střeva a gastrektomie (Welsh, 1980) a onemocnění, která poškozují střevní epitel, např. neléčená

celiakie nebo střevní záněty (Bodé, 2009). Když se epitel zahojí, aktivita laktázy se obnoví. Sekundární maldigesce však nevede automaticky k závažným příznakům intolerance (Arrigoni, 1994).

V populacích s vysokou prevalencí primární hypolaktázie začíná pokles aktivity laktázy ve věku dvou až tří let. Naproti tomu u Finů dochází k nástupu nejčastěji v období dospívání (Sahi, 2010). Hypolaktázie vede k maldigesci laktózy, která pak může vést a v naprosté většině případů také vede k příznakům laktóзовé intolerance, pokud je laktóza přijímána v množství desítek gramů najednou, např. 50 gramů používaných v testu laktóзовé tolerance. Pokud jde o příjem menšího množství laktózy, je nástup příznaků velmi individuální.

Selektivní hypolaktázie dospělého typu se dědí prostřednictvím jediného autozomálně recesivního genu (Sahi, 1977).

3.4.3 Malabsorpce a intolerance laktózy

Malabsorpce laktózy (LM) označuje jakoukoli příčinu selhání trávení a/nebo vstřebávání laktózy v tenkém střevě. Intolerance laktózy (LI) značí výskyt příznaků, jako jsou bolesti břicha, nadýmání nebo průjem, u pacientů s LM po požití laktózy (Misselwitz, 2019).

Vrozený nedostatek laktázy je velmi vzácné dětské onemocnění, které způsobuje závažné příznaky a neprospívání u kojenců (Enattah, 2005). Nejčastější příčinou malabsorpce laktózy u dospívajících a dospělých je primární (genetická) neperzistence laktázy (LNP). Aktivita laktázy v tenkém střevě dosahuje vrcholu v době narození, ale v průběhu dětství se u většiny populace snižuje, což je proces, o kterém se předpokládá, že usnadňuje odstavení. U některých jedinců však vysoká aktivita laktázy přetrvává, což umožňuje konzumaci velkého množství laktózy i v dospělosti (Misselwitz, 2017). Tato vlastnost se označuje jako laktázová perzistence (LP) a je zvláště častá u potomků populací, které tradičně praktikovaly domestikaci skotu (Séguel, 2017).

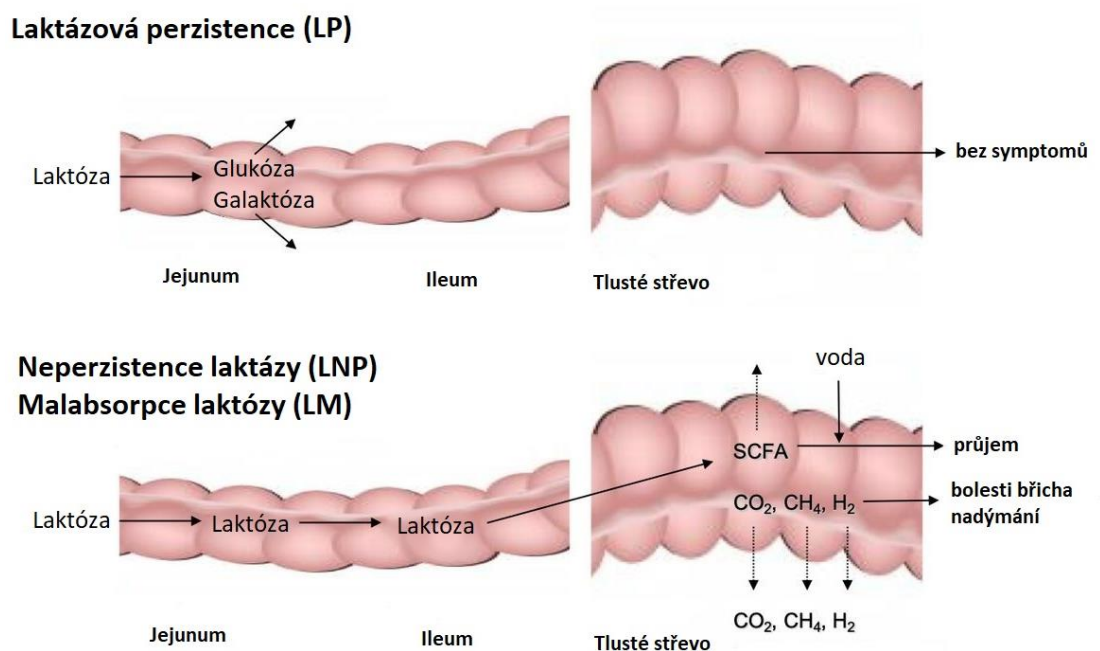
V současné době existují dobré funkční důkazy o tom, že znak LP má genetický základ a řídí se dominantním vzorcem dědičnosti (Liebert, 2017). Zejména se předpokládá, že LP může být nezávisle způsobena nejméně pěti nebo více jednonukleotidovými polymorfismy (SNP) v regulační oblasti (transkripčním enhanceru) zvané MCM6 (minichromosome maintenance complex component 6), která se nachází před genem LCT (Liebert, 2017).

Frekvence LP je vysoká u severoevropských populací, klesá v jižní Evropě a na Blízkém východě a je nízká u nepasteveckých asijských a afrických komunit (Bayless, 2017; Itan, 2010; Storhaug, 2017). Pozoruhodné je, že LP je běžná také u pasteveckých populací z Afriky. Předpokládá se, že přirozený výběr vyvolal hlavní roli při určování současných frekvencí laktázové perzistence v různých lidských společenstvích od rozvoje domestikace skotu na Blízkém východě a v severní Africe přibližně před ~7500-9000 lety (Zadro, 2017).

V případě LM (primární nebo sekundární) se nestrávená laktóza dostává do kontaktu se střevní mikrobiotou. Bakteriální fermentace laktózy vede k produkci plynů včetně vodíku (H_2), oxidu uhličitého (CO_2), metanu (CH_4) a mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFA), které mají vliv na funkci trávicího traktu (Misselwitz, 2019).

Je třeba zdůraznit, že LNP, LD a LM tedy nejsou onemocnění, ale normální varianty lidského metabolismu (Misselwitz, 2017). Mezi další příčiny malabsorpce laktózy patří sekundární (získaná) LD, rychlý tranzit tenkým střevem a bakteriální přerůstání tenkého střeva (Misselwitz, 2019).

Malabsorpce laktózy je nezbytným předpokladem laktózové intolerance. Mnoho jedinců s LM nemá po požití standardní porce mléčných výrobků žádné příznaky, zatímco u jiných se po požití laktózy objeví příznaky (intolerance), jako jsou bolesti břicha, borborygmi (kručení v břiše) a nadýmání. Výskyt těchto příznaků silně koreluje s výskytem plynného vodíku při dechových testech (Zhao, 2010). Dále nestrávená laktóza v tenkém střevě vede k osmotickému zachycení vody a osmotická zátěž v tlustém střevě se zvyšuje asi osminásobně fermentací laktózy na SCFA (Murray, 2014; Suarez, 1997b). Průjem nastane, pokud příslušná zátěž laktózy překročí kapacitu tlustého střeva pro fermentaci nebo zátěž SCFA překročí kapacitu tlustého střeva pro resorpci (Binder, 2010).



Obrázek 4 – Trávení laktózy v případě LP, LNP a LM (Misselwitz, 2019)

3.4.3.1 Projevy laktózové intolerance

Mezi příznaky intolerance laktózy patří řídká stolice, nadýmání a bolest břicha, plynatost, nevolnost a borborygmi. Mechanismus řídké stolice vyvolané nevstřebanými sacharidy je dobře zdokumentován. Osmotická zátěž sacharidů způsobuje vylučování tekutin a elektrolytů, dokud není dosaženo osmotické rovnováhy (Christopher, 1971). Dilatace střeva způsobená osmózou vyvolává zrychlení tranzitu tenkým střevem, které se zvyšuje se stupněm maldigesce (Ladas, 1982). Zrychlený tranzit dále snižuje hydrolýzu laktózy, protože se zkracuje doba kontaktu mezi laktózou a zbytkovým enzymem (Christopher, 1971).

O původu břišní distenze a křečí je toho známo méně. Předpokládá se, že tyto příznaky pocházejí z tenkého střeva a nejsou způsobeny fermentací tlustého střeva (Christopher, 1971).

U osob s chronickým břišním diskomfortem (funkční střevní poruchy) mohly být stížnosti spíše důsledkem poruchy střevní motility a abnormální reakce na bolest při distenzi střeva než zvýšeného objemu plynu, protože objem nebo míra akumulace plynu vpraveného do střevního traktu se u osob s příznaky a u kontrolních osob nelišily (Lasser, 1975).

Produkce vodíku závisí na kyselosti tlustého střeva. Snížené vylučování vodíku bylo pozorováno po kontinuálním příjmu nestravitelného cukru, laktulózy, což mělo za následek zvýšenou kyselost tlustého střeva (Flourié, 1993). Snížené vylučování vodíku a symptomy byly zaznamenány po nepřetržité konzumaci. Je možné, že příznaky vycházejí jak z tenkého, tak z tlustého střeva, a modifikace podmínek v tenkém a tlustém střevě, jako je tranzitní čas a složení mikrobioty, mohou mít také vliv na vyvolání a závažnost příznaků (Briet, 1997).

V mnoha studiích požití hydrolyzovaného mléka s laktózou snížilo příznaky lépe než běžné mléko (SUAREZ, 1995). Většina studií prokázala, že mléko s nízkým obsahem laktózy nebo bezlaktózové mléko je lépe tolerováno než mléko obsahující laktózu, ale kontroverzní výsledky nejnovějších dobře kontrolovaných prací, které neodhalily žádný rozdíl v toleranci těchto mlék (Vesa, 1996; SUAREZ, 1995; Suarez, 1997a) ani neprokázaly možnost placebo efektu (Briet, 1997).

Jussila et al. (1970) zjistili, že průměrný věk symptomatických maldigestorů laktózy je vyšší (46 let) než věk nesymptomatických maldigestorů laktózy (31 let), zatímco Suarez et al. (1997a) nezaznamenali žádný rozdíl v symptomech mezi věkovými skupinami nad 65 let a od 20 do 40 let. Je možné, že subjekty ve studii byly speciálně vybrány, protože byly rekrutovány na základě oznámení v určitých čtvrtích. Dosavadní počet subjektů je však pravděpodobně příliš malý na to, aby bylo možné vyvodit definitivní závěry ohledně vlivu věku na prožívání symptomů. Je možné, že existují rozdíly v produkci vodíku po požití laktózy v závislosti na věku, ale výsledky nejsou zcela konzistentní (Suarez, 1997a).

Bylo prokázáno, že množství dechového vodíku se zvyšuje s věkem až do věku 64 až 70 let (Rao, 1994). Rao (1994) však ve studii uvádí, že bylo vylučování vodíku nižší ve věkové skupině nad 70 let než ve skupině mezi 60 a 69 lety. Není známo, zda jsou tyto rozdíly způsobeny rozdíly v trávení laktózy nebo v mikrobiotě tlustého střeva.

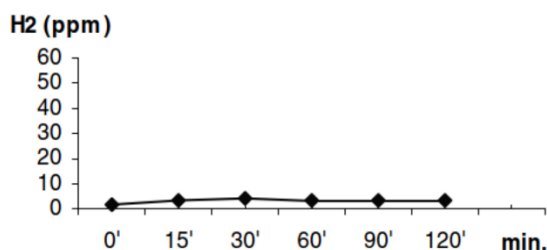
V náhodně vybrané populaci nemělo pohlaví žádný vliv na výskyt hypolaktázie (Rao, 1994; Sahi, 2009). Téměř žádné studie neporovnávaly toleranci laktózy mezi pohlavími. Jussila (1970) uvedl, že mezi 504 hospitalizovanými pacienty pociťovaly ženy gastrointestinální příznaky a nevolnost po požití mléka častěji než muži. Na základě výsledků studií se zdá, že ženy pociťují silnější gastrointestinální potíže než muži, ale není možné vyvodit žádný závěr o možných rozdílech ve vylučování vodíku mezi pohlavími.

3.4.3.2 Diagnostika malabsorpce laktózy

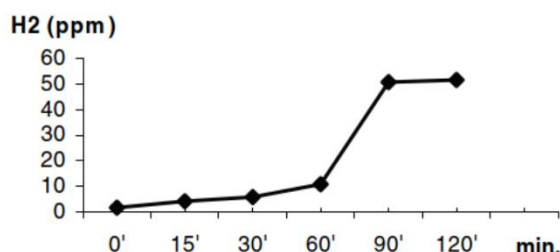
Ideál pro diagnostiku malabsorpce laktózy u jinak zdravých osob by byl takový, který by určil úroveň aktivity laktázy přímo v krevním řečišti tenkého střeva (Brummer, 1993; Vernia, 2001). To je však invazivní a těžkopádné. Proto byly vyvinuty dva neinvazivní testy (Metz, 1975; Pimentel, 2003).

Dlouhodobě používanou metodou je laktózový toleranční test, při kterém se pacientovi podává perorální nálož laktózy a poté se v předem stanovených časových intervalech měří hladina glukózy v krvi. Pokud nedojde k vzestupu glykémie o více než 20 mg/dl během 3 hodin, znamená to, že se sacharid nevstřebal, a výsledek testu je tedy abnormální (Metz, 1975; Pimentel, 2003). Tento test, ačkoli stále nepřímý, zkoumá schopnost laktózy vstoupit do systémové cirkulace, což předpokládá úspěšnou aktivitu laktázy. Problém s testem tolerance laktózy, jak zjistili předchozí badatelé, spočívá v tom, že vrcholový vzestup glukózy v krvi může být ovlivněn jinými faktory než vstřebáváním cukru, jako je rychlost vyprazdňování žaludku a hormonální interakce (Arvanitakis, 1977).

Při hledání jednodušší metody diagnostiky intolerance laktózy byl vyvinut dechový test na laktózový vodík (Metz, 1975). Tento test se nyní v praxi používá nejčastěji a několik studií naznačuje, že je lepší než test na laktózu (Arvanitakis, 1977; Douwes, 1978; Hovde, 2009; Newcomer, 1975). Dechový test na laktózu vystavuje pacienty perorálnímu podání laktózy (obvykle 25 g) po změření základního vzorku dechu. Každých 15-20 minut po požití sacharidů se odeberou vzorky dechu a analyzují se na přítomnost vodíku v částech na milion (ppm) pomocí plynové chromatografie. Absolutní nárůst vodíku se liší, ale výsledek testu se považuje za abnormální, pokud je nárůst vodíku vyšší než 20 ppm nad základní hodnotu.



Obrázek 5 - Negativní dechový test na laktózový vodík (Eisenmann, 2008)



Obrázek 6 - Pozitivní dechový test na laktózový vodík (Eisenmann, 2008)

Tento závěr je učiněn za předpokladu, že pokud je veškerá laktóza vstřebána, nemělo by dojít k jejímu úniku do tlustého střeva (BEYERLEIN, 2008; Brummer, 2009; Metz, 1975). U osob s deficitem laktázy metabolizuje střevní mikrobiota laktózu na vodík (H₂) a mastné kyseliny s krátkým řetězcem. Plynný vodík může procházet střevní sliznicí a vstřebávat se do systémového oběhu, z něhož se pak vylučuje plícemi (BEYERLEIN, 2008; Hovde, 2009; Metz, 1975).

Pro diagnostiku skutečného nedostatku laktázy jako příčiny intolerance laktózy by bylo nejlepší provést test tolerance laktózy, přímé bioptické vyšetření nebo genetické vyšetření. Všechna vyšetření jsou tedy objektivní. Pro diagnostiku intolerance laktózy bez ohledu

na příčinu by bylo zapotřebí provést test, který by identifikoval genezi primárního příznaku (nadýmání). Tím bude pravděpodobněji dechový test (Law, 2010).

S intolerancí laktózy je spojen náročnější problém. Bez ohledu na příčinu, k intoleranci laktózy dochází, když se dosud nestrávená laktóza dostane do oblasti střeva, kde sídlí bakterie. Při bakteriálním přerůstání v tenkém střevě mohou mít osoby intoleranci laktózy nikoli na základě nedostatku enzymů, ale v důsledku předčasného vystavení laktózy bakteriím v tenkém střevě dříve, než je čas na vstřebání tohoto substrátu. Na tento poslední problém upozorňují nálezy u funkčních střevních onemocnění. Studie prokázaly vysoký výskyt abnormálních dechových testů na laktózu a laktulózu u syndromu dráždivého tračníku (IBS), což naznačuje, že příčinou abnormálního dechového testu na laktózu může být přerůstání bakterií v tenkém střevě (Goldstein, 2000; Parker, 2001; Pimentel, 2003; Vernia, 2001). V nedávné studii výzkumníci provedli dechový test na laktulózu, po kterém následoval dechový test na laktózu a toleranční test o týden později (Pimentel, 2003). Shoda mezi laktózovým tolerančním testem a laktózovým dechovým testem byla špatná a většina subjektů s abnormálním laktózovým dechovým testem neměla abnormální laktózový toleranční test. U těchto subjektů s IBS dechový test na laktózu lépe koreloval s výsledky dechového testu na laktulózu (Pimentel, 2003). Tuto skutečnost dále potvrdili Nucera et al. (2005) a u 98 subjektů s IBS prokázali, že eradikace bakteriálního přerůstání tenkého střeva, potvrzená negativními laktulózovými dechovými testy, způsobila významné snížení pozitivitu laktózových dechových testů. Tito autoři navrhli, aby se testování na bakteriální přerůstání v tenkém střevě provádělo před ostatními dechovými testy na cukry, aby se předešlo chybné diagnóze malabsorpce cukrů (Hermans, 1997).

Hermans et al. (1997) uvádějí, že v jejich studii produkce vodíku při dechovém testu na laktózu předpovídala příznaky intolerance, ale nikoli skutečnou malabsorpci. Produkce plynu je tedy to, co pacienti popisují jako příznaky.

Důvod, proč je dechový test tak výhodný, souvisí s definicí laktózové intolerance. Pacienti s intolerancí laktózy si stěžují na nadýmání po konzumaci mléčných výrobků. Produkce střevního plynu při dechovém testu na laktózu potvrzuje, že požití laktózy může u pacienta vyvolat příznaky. Dechový test však neukazuje, proč pacient nesnáší laktózu. Závěrem lze říci, že při vyšetřování intolerance laktózy je možná lepší označovat tyto stavy jako "příznaky související s laktózou", vzhledem k tomu, že v mnoha případech nemusí být diagnózou nedostatek laktázy. Pokud má subjekt intoleranci laktózy a úplné vyhýbání se laktóze nevede k nápravě celkových gastrointestinálních obtíží, je třeba zvážit alternativní diagnózy. Mezi ně může patřit IBS, bakteriální přerůstání tenkého střeva a rychlý tranzit. Všechny tyto otázky by však závisely na tom, jak se definuje intolerance laktózy. Pokud je cílem určit toleranci, ale ne etiologii, je ideální a vhodný dechový test na laktózu. Pokud je cílem určit patofyziologii intolerance, bylo by nutné provést jiné testy (Law, 2010).

4 Metodika

Praktická část mé bakalářské práce se zabývala testováním schopnosti bakterií fermentovat laktózu. Schopnost fermentace laktózy byla sledována pomocí specifických růstových křivek, kdy laktóza byla přidána do média jako jediný zdroj uhlíku a byla porovnána specifická růstová rychlost různých izolátů bakterií. Kmeny s nejvyšší specifickou růstovou rychlostí by mohly být vhodným probiotikem při laktózové intoleranci.

4.1 Materiál

Nejprve bylo vybráno šest kmenů používaných jako probiotikum při laktózové intoleranci dle literatury:

- *B. bifidum* DSM 20215
- *B. bifidum* DSM 20239
- *B. bifidum* ATCC 29521
- *B. bifidum* DSM 20082
- *L. acidophilus* DSM 20079
- *L. reuteri* CCM 3625

Dále bylo zapotřebí připravit médium, aby bylo možné sledovat růst bakterií. Jako jediný zdroj uhlíku byl použit roztok laktózy.

4.1.1 Příprava kultur probiotik k zaočkování

K přípravě zaočkování čerstvé kultury bylo připraveno médium obohaceného Wilkins-Chalgren (Oxoid, UK) do penicilínek, které byly předem vysterilizovány. Tabulka 2 ukazuje přesné složení média.

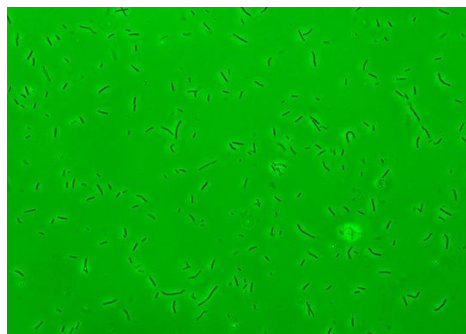
Tabulka 2 - Složení média obohaceného Wilkins-Chalgren (Oxoid, UK)

Složení média obohaceného Wilkins-Chalgren	Množství
Destilovaná voda	1000 ml
Sójový pepton	5 g
Cystein	0,5 g
Tween	1 ml
Wilkins-Chalgren bujón	43 g

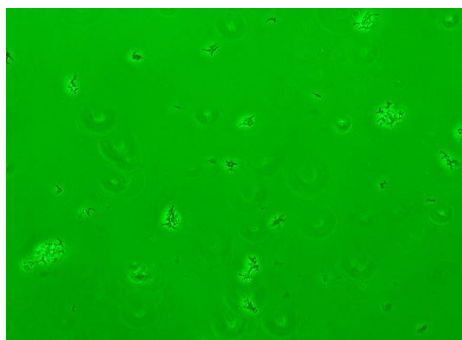
Do připravených vysterilizovaných penicilínek s Wilkins-Chalgren médiem se zaočkovalo 0,5 ml stejného kmene ve dvou kopiích.

Při přípravě čistých kultur bylo třeba pracovat asepticky a s použitím sterilních nástrojů. Následně byly penicilínky kultivovány při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin.

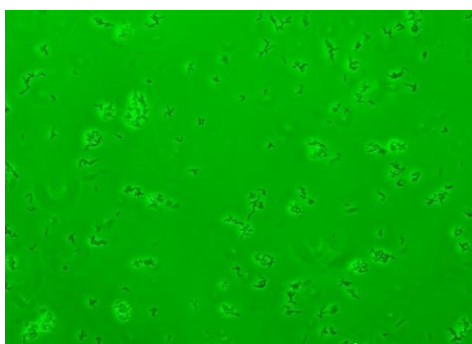
Po kultivaci byla ověřena čistota pomocí fázově kontrastního mikroskopu (Nikon Eclipse E200LED MV RS), viz Obrázek 7, Obrázek 8, Obrázek 9, Obrázek 10 a vyloučena případná kontaminace. Ze dvou kopií byla vždy vybrána jedna a s tou se dále pracovalo.



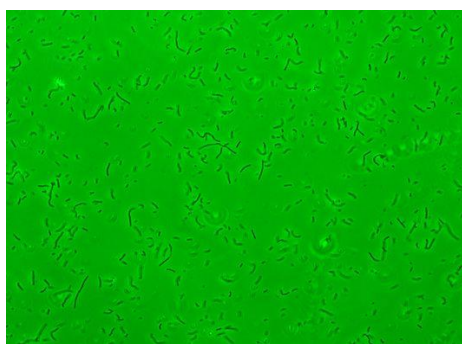
Obrázek 7 - *L. acidophilus* DSM 20079



Obrázek 8 - *B. bifidum* DSM 20082



Obrázek 9 - *L. reuteri* DSM 3625



Obrázek 10 - *B. bifidum* DSM 20215

4.1.2 Příprava média bez uhlíkového zdroje a roztoku laktózy

Pro přípravu média se všechny potřebné složky navážily podle množství uvedeného v Tabulka 3 a rozpustily v 1000 ml destilované vody. Aby se docílilo úplného rozpuštění všech látek, médium bylo zahřáto a následně vařeno po dobu 20 minut. Poté se zkontrolovalo pH použitím pH papírků a médium se rozdělilo do zkumavek po 9 ml. S použitím oxidu uhličitého bylo následně ve zkumavkách s médiem vytvořeno anaerobní prostředí. Takto připravené a uzavřené zkumavky s médiem byly sterilovány v autoklávu (Systec DB-23) na program liquid.

K přípravě roztoku laktózy bylo zapotřebí rozpustit 2 g laktózy (Penta, CZ) ve 100 ml destilované vody a následně vložit ke sterilaci do autoklávu ke zkumavkám s médiem.

Tabulka 3 - Složení média bez uhlíkového zdroje

Složení média	Množství
Destilovaná voda	1000 ml
Trypton (Oxoid, UK)	10 g
Želatinový pepton (Fluka, FR)	10 g
Kvasnicový extrakt (Oxoid, UK)	5 g
Chlorid sodný (Avemar, UK)	5 g
L-arginin (Sigma – Aldrich, J)	1 g
Haemin (Sigma – Aldrich, NL)	0,005 g
Menadion (Sigma – Aldrich, CN)	0,0005 g
Pyruvát sodný (Applichem, DE)	1 g
Cystein (Sigma – Aldrich, J)	0,5 g
Tween (Sigma – Aldrich, UK)	1 g

4.2 Měření optické hustoty

K měření optické hustoty bylo připraveno vždy sedm zkumavek pro každý kmen. Tři zkumavky obsahovaly navařené médium s přidanou laktózou, dvě zkumavky sloužily jako negativní kontrola a obsahovaly pouze navařené médium a poslední dvě zkumavky obsahující pouze Wilkins-Chalgren médium sloužily jako pozitivní kontrola. Tabulka 4 udává přesné složení zkumavek.

Dále, pro kontrolu čistoty všech médií, byly připraveny tři kontrolní zkumavky, kdy jedna obsahovala navařené médium, druhá navařené médium s roztokem laktózy a poslední Wilkins-Chalgren médium. Obsah kontrolních zkumavek je uveden v

Tabulka 5.

Poté u takto připravených čistých zkumavek bez kultur, byla změřena pomocí denzitometru (Biosan typ DEN-1, LV) optická hustota uvedená v McF.

Po změření zkumavek s čistými médii se do každé z nich, kromě tří kontrolních, asepticky naočkovalo 0,3 ml připravených narostlých kultur s probiotiky a byla znovu změřena optická hustota.

Po změření byly všechny zkumavky vloženy do vodní lázně předeřáté na 37 °C a měření optické hustoty se opakovalo každou hodinu po dobu 10 hodin. Kontrolní zkumavky bez kultur byly měřeny pouze první a poslední hodinu.

Pokus byl ještě jednou celý opakován, tentokrát měření optické hustoty probíhalo po dobu 7 hodin.

Tabulka 4 - Složení zkumavek k měření optické hustoty pro jeden kmen

Sada zkumavek pro jeden kmen probiotik	Obsah zkumavky
1. zkumavka	9 ml média 1 ml roztoku laktózy 0,3 ml narostlé kultury
2. zkumavka	9 ml média 1 ml roztoku laktózy 0,3 ml narostlé kultury
3. zkumavka	9 ml média 1 ml roztoku laktózy 0,3 ml narostlé kultury
4. zkumavka – negativní kontrola	10 ml média 0,3 ml narostlé kultury
5. zkumavka – negativní kontrola	10 ml média 0,3 ml narostlé kultury
6. zkumavka – pozitivní kontrola	10 ml Wilkins-Chalgren média 0,3 ml narostlé kultury
7. zkumavka – pozitivní kontrola	10 ml Wilkins-Chalgren média 0,3 ml narostlé kultury

Tabulka 5 - Složení čistých kontrolních zkumavek s médii

Kontrolní zkumavky – negativní kontroly	Složení
1. zkumavka	10 ml média
2. zkumavka	9 ml média 1 ml roztoku laktózy
3. zkumavka	10 ml Wilkins-Chalgren média

5 Výsledky

5.1 Naměřené hodnoty optické hustoty

Tabulka 6 - *B. bifidum* DSM 20215 měření optické hustoty po dobu 10 hodin v McF

Zkumavka	1	2	3	4	5	6	7
Vzorek	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Negativní kontrola	Negativní kontrola	Pozitivní kontrola	Pozitivní kontrola
Čisté	0,18	0,25	0,15	0,14	0,19	0,46	0,52
0 h	0,28	0,34	0,27	0,33	0,38	0,71	0,73
1 h	0,28	0,35	0,29	0,33	0,38	0,73	0,93
2 h	0,41	0,39	0,44	0,33	0,38	0,98	0,95
3 h	0,53	0,50	0,47	0,33	0,38	1,03	1,02
4 h	0,97	0,91	0,92	0,34	0,38	1,33	1,37
5 h	1,86	1,72	1,88	0,37	0,39	1,64	1,70
6 h	3,56	3,17	3,76	0,38	0,39	2,00	1,96
7 h	4,96	4,20	4,75	0,37	0,39	2,39	2,28
8 h	5,40	4,63	4,97	0,37	0,41	2,95	2,79
9 h	4,46	4,56	4,68	0,36	0,40	3,38	3,25
10 h	3,02	4,35	3,45	0,35	0,38	3,94	3,91

Tabulka 7 - *B. bifidum* DSM 20239 měření optické hustoty po dobu 10 hodin v McF

Zkumavka	8	9	10	11	12	13	14
Vzorek	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Negativní kontrola	Negativní kontrola	Pozitivní kontrola	Pozitivní kontrola
Čisté	0,14	0,13	0,21	0,18	0,14	0,44	0,51
0 h	0,29	0,21	0,32	0,27	0,21	0,53	0,62
1 h	0,33	0,23	0,34	0,29	0,22	0,67	0,63
2 h	0,42	0,29	0,35	0,30	0,24	0,73	0,71
3 h	0,44	0,31	0,35	0,31	0,26	0,73	0,74
4 h	0,44	0,35	0,42	0,31	0,27	0,90	0,98
5 h	0,54	0,46	0,46	0,31	0,28	1,12	1,21
6 h	0,75	0,66	0,75	0,31	0,28	1,70	1,78
7 h	1,30	1,11	1,25	0,32	0,28	2,64	2,57
8 h	2,14	1,83	2,07	0,32	0,29	3,34	3,28
9 h	3,16	3,27	3,35	0,37	0,31	3,71	3,68
10 h	3,54	3,38	3,56	0,42	0,32	4,05	4,05

Tabulka 8 - *B. bifidum* ATCC 29521 měření optické hustoty po dobu 10 hodin v McF

Zkumavka	15	16	17	18	19	20	21
Vzorek	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Negativní kontrola	Negativní kontrola	Pozitivní kontrola	Pozitivní kontrola
Čisté	0,17	0,14	0,27	0,18	0,15	0,63	0,49
0 h	0,18	0,18	0,29	0,23	0,19	0,64	0,52
1 h	0,18	0,19	0,29	0,23	0,24	0,63	0,52
2 h	0,16	0,15	0,19	0,22	0,24	0,70	0,55
3 h	0,13	0,13	0,13	0,16	0,19	0,54	0,45
4 h	0,25	0,21	0,14	0,17	0,19	0,52	0,45
5 h	0,27	0,23	0,19	0,22	0,22	0,52	0,45
6 h	0,23	0,17	0,18	0,18	0,23	0,52	0,43
7 h	0,25	0,16	0,17	0,18	0,22	0,58	0,46
8 h	0,18	0,19	0,16	0,18	0,21	0,56	0,50
9 h	0,16	0,17	0,15	0,21	0,18	0,52	0,42
10 h	0,14	0,17	0,15	0,21	0,16	0,58	0,42

Výsledky měření optické hustoty u kmene *B. bifidum* ATCC 29521 nevyšly dle očekávání, ani pozitivní kontrola nevykázala množení bakterií, a proto byl kmen *B. bifidum* ATCC 29521 vyloučen z dalšího testování. Důvodem těchto výsledků mohla být kontaminace vzorku či špatná devitalizace ze sbírkové kultury. Potvrzení nesprávnosti výsledků ukazuje i Graf 3.

Tabulka 9 - *B. bifidum* DSM 20082 měření optické hustoty po dobu 10 hodin v McF

Zkumavka	22	23	24	25	26	27	28
Vzorek	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Negativní kontrola	Negativní kontrola	Pozitivní kontrola	Pozitivní kontrola
Čisté	0,14	0,13	0,21	0,18	0,14	0,44	0,51
0 h	0,29	0,21	0,32	0,27	0,21	0,53	0,62
1 h	0,33	0,23	0,34	0,29	0,22	0,67	0,63
2 h	0,42	0,29	0,35	0,30	0,24	0,73	0,71
3 h	0,44	0,31	0,35	0,31	0,26	0,73	0,74
4 h	0,44	0,35	0,42	0,31	0,27	0,90	0,98
5 h	0,54	0,46	0,46	0,31	0,28	1,12	1,21
6 h	0,75	0,66	0,75	0,31	0,28	1,70	1,78
7 h	1,30	1,11	1,25	0,32	0,28	2,64	2,57
8 h	2,14	1,83	2,07	0,32	0,29	3,34	3,28
9 h	3,16	3,27	3,35	0,37	0,31	3,71	3,68
10 h	3,54	3,38	3,56	0,42	0,32	4,05	4,05

Tabulka 10 - *L. acidophilus* DSM 20079 měření optické hustoty po dobu 10 hodin v McF

Zkumavka	29	30	31	32	33	34	35
Vzorek	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Negativní kontrola	Negativní kontrola	Pozitivní kontrola	Pozitivní kontrola
Čisté	0,12	0,22	0,13	0,17	0,11	0,48	0,59
0 h	0,44	0,37	0,33	0,35	0,35	0,71	0,77
1 h	0,39	0,37	0,31	0,36	0,30	0,68	0,82
2 h	0,47	0,39	0,46	0,39	0,31	0,71	0,83
3 h	0,52	0,57	0,48	0,39	0,36	0,95	1,04
4 h	0,84	0,73	0,74	0,52	0,48	1,42	1,47
5 h	1,27	1,18	1,01	0,72	0,65	1,89	1,79
6 h	1,53	1,55	1,35	0,78	0,71	2,45	2,47
7 h	1,92	1,71	1,79	1,01	1,03	3,07	3,00
8 h	2,28	2,11	2,03	1,28	1,17	4,36	3,94
9 h	2,78	2,73	2,73	1,22	1,16	5,27	5,09
10 h	3,65	3,52	3,72	1,20	1,12	6,10	5,88

Tabulka 11 - *L. reuteri* CCM 3625 měření optické hustoty po dobu 10 hodin v McF

Zkumavka	36	37	38	39	40	41	42
Vzorek	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Negativní kontrola	Negativní kontrola	Pozitivní kontrola	Pozitivní kontrola
Čisté	0,23	0,15	0,15	0,18	0,21	0,55	0,48
0 h	0,58	0,50	0,55	0,55	0,57	0,94	1,00
1 h	0,58	0,50	0,69	0,59	0,64	1,02	1,03
2 h	1,12	0,99	1,07	1,14	1,06	1,64	1,75
3 h	2,65	2,22	2,39	1,75	1,74	3,60	3,71
4 h	4,57	4,53	4,71	2,97	3,20	6,07	6,33
5 h	6,76	6,80	6,93	4,33	4,25	8,21	8,38
6 h	8,94	9,11	9,16	5,12	5,27	9,84	9,91
7 h	9,20	9,23	9,35	5,70	5,68	10,00	9,98
8 h	9,22	9,23	9,38	6,06	5,96	10,00	10,00
9 h	9,22	9,31	9,40	6,19	6,08	10,00	10,00
10 h	9,30	9,35	9,42	5,93	5,75	10,00	10,00

Tabulka 12 - měření optické hustoty kontrolních zkumavek po dobu 10 hodin v McF

Zkumavka	43	44	45
Vzorek	Médium	Médium s laktózou	Wilkins-Chalgren médium
Začátek	0,17	0,24	0,58
Konec	0,16	0,23	0,56

Tabulka 13 - *B. bifidum* DSM 20215 měření optické hustoty po dobu 7 hodin v McF

Zkumavka	1	2	3	4	5	6	7
Vzorek	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Negativní kontrola	Negativní kontrola	Pozitivní kontrola	Pozitivní kontrola
Čisté	0,21	0,29	0,23	0,15	0,29	0,48	0,48
0 h	0,39	0,37	0,37	0,34	0,44	0,68	0,71
1 h	0,42	0,37	0,41	0,55	0,46	0,81	0,75
2 h	0,52	0,44	0,43	0,55	0,49	0,97	0,92
3 h	0,79	0,61	0,64	0,54	0,55	1,04	1,15
4 h	1,64	1,35	1,39	0,54	0,58	1,58	1,71
5 h	3,43	3,06	3,15	0,58	0,63	2,81	2,68
6 h	5,31	4,71	4,89	0,73	0,84	4,63	4,52
7 h	6,49	6,12	6,33	0,82	0,87	6,04	5,99

Tabulka 14 - *B. bifidum* DSM 20239 měření optické hustoty po dobu 7 hodin v McF

Zkumavka	8	9	10	11	12	13	14
Vzorek	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Negativní kontrola	Negativní kontrola	Pozitivní kontrola	Pozitivní kontrola
Čisté	0,18	0,16	0,10	0,29	0,19	0,50	0,56
0 h	0,25	0,28	0,21	0,34	0,30	0,62	0,75
1 h	0,26	0,28	0,23	0,34	0,28	0,62	0,76
2 h	0,39	0,35	0,28	0,34	0,28	0,64	0,76
3 h	0,39	0,36	0,33	0,32	0,28	0,84	0,81
4 h	0,63	0,52	0,47	0,32	0,27	0,94	0,92
5 h	0,65	0,66	0,58	0,32	0,27	1,07	1,12
6 h	1,53	1,73	1,26	0,33	0,28	2,03	2,00
7 h	3,33	3,37	2,89	0,33	0,27	3,94	4,10

Tabulka 15 - *B. bifidum* DSM 20082 měření optické hustoty po dobu 7 hodin v McF

Zkumavka	15	16	17	18	19	20	21
Vzorek	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Negativní kontrola	Negativní kontrola	Pozitivní kontrola	Pozitivní kontrola
Čisté	0,21	0,24	0,22	0,23	0,23	0,48	0,50
0 h	0,52	0,48	0,50	0,61	0,48	0,90	0,92
1 h	0,76	0,75	0,78	0,74	0,68	1,39	1,45
2 h	1,02	0,95	1,07	1,04	0,92	1,59	1,61
3 h	1,49	1,27	1,48	1,22	1,14	2,03	2,06
4 h	2,11	2,00	2,46	1,67	1,49	2,95	3,00
5 h	3,49	3,37	4,28	1,82	1,62	4,78	4,71
6 h	5,06	5,26	6,24	2,12	2,01	7,00	7,01
7 h	6,80	7,16	7,85	2,45	2,37	8,92	8,94

Tabulka 16 - *L. acidophilus* DSM 20079 měření optické hustoty po dobu 7 hodin v McF

Zkumavka	22	23	24	25	26	27	28
Vzorek	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Negativní kontrola	Negativní kontrola	Pozitivní kontrola	Pozitivní kontrola
Čisté	0,17	0,15	0,16	0,19	0,23	0,48	0,57
0 h	0,43	0,33	0,34	0,34	0,39	0,81	0,82
1 h	0,46	0,33	0,35	0,34	0,36	0,78	0,82
2 h	0,49	0,40	0,43	0,44	0,48	0,86	0,96
3 h	0,55	0,47	0,52	0,49	0,54	1,09	1,14
4 h	0,87	0,85	0,79	0,87	0,80	1,47	1,49
5 h	1,18	1,08	1,07	1,00	0,97	1,93	2,02
6 h	1,43	1,32	1,36	1,12	1,08	2,82	2,81
7 h	1,84	1,65	1,73	1,22	1,13	3,73	3,86

Tabulka 17 - *L. reuteri* CCM 3625 měření optické hustoty po dobu 7 hodin v McF

Zkumavka	29	30	31	32	33	34	35
Vzorek	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Médium s laktózou	Negativní kontrola	Negativní kontrola	Pozitivní kontrola	Pozitivní kontrola
Čisté	0,22	0,19	0,16	0,17	0,20	0,48	0,46
0 h	0,64	0,48	0,47	0,65	0,68	0,92	0,91
1 h	0,73	0,79	0,85	0,91	1,02	1,51	2,05
2 h	2,21	2,29	2,34	2,12	2,34	4,02	4,74
3 h	4,87	4,56	4,32	3,65	3,25	5,95	5,87
4 h	6,38	5,98	5,92	4,43	3,63	7,82	7,64
5 h	9,12	8,69	8,58	5,61	5,34	9,91	9,83
6 h	9,83	9,37	9,34	5,66	5,45	10,00	10,00
7 h	10,00	9,87	9,85	6,55	6,26	10,00	10,00

Tabulka 18 - měření optické hustoty kontrolních zkumavek po dobu 7 hodin v McF

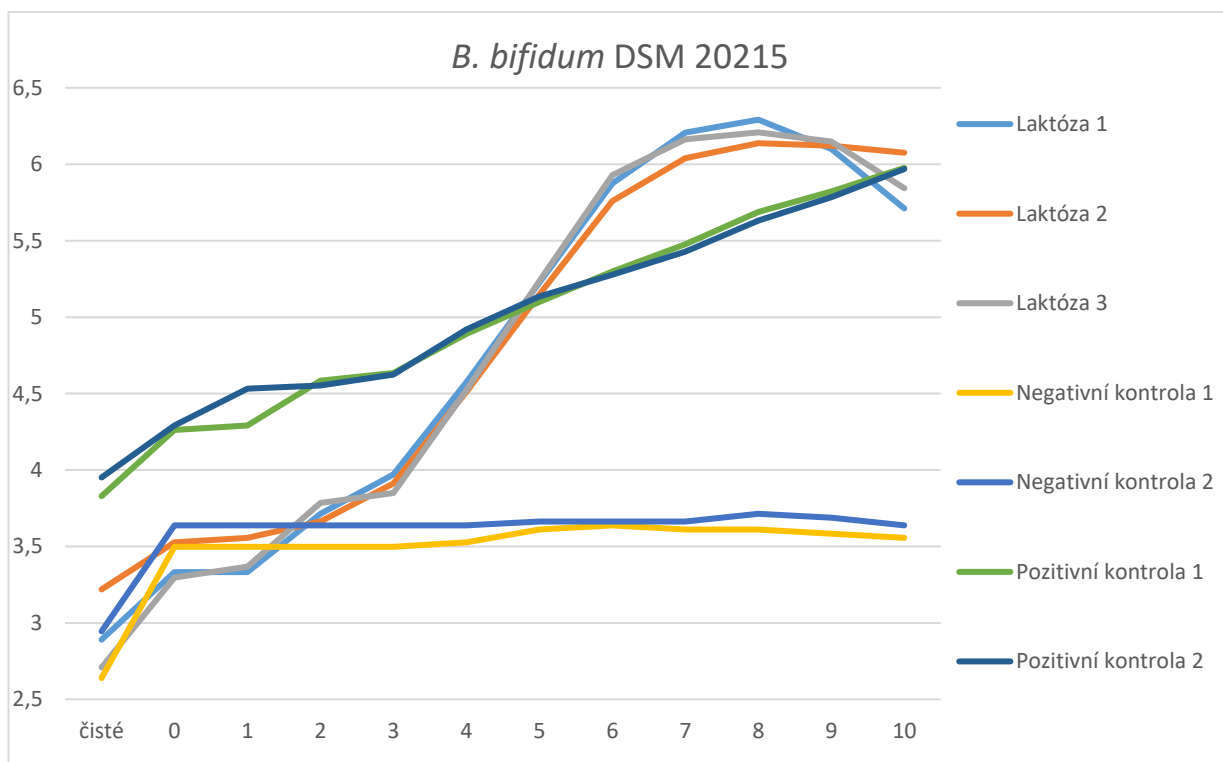
Zkumavka	36	37	38
Vzorek	Médium	Médium s laktózou	Wilkins-Chalgren médium
Začátek	0,21	0,17	0,48
Konec	0,21	0,19	0,47

5.2 Růstová křivka bakterií

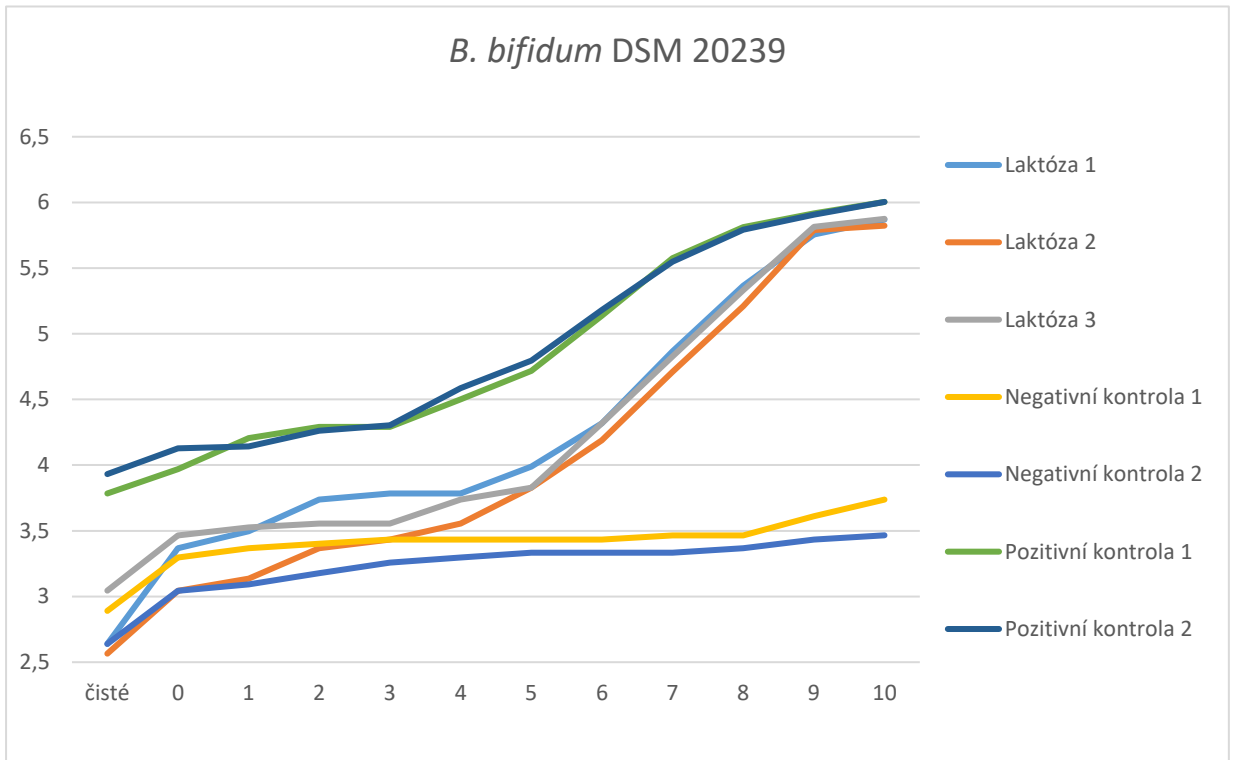
Pro každý kmen, zkumavku a opakování bylo potřeba sestavit graf růstové křivky. Každou hodnotu optické hustoty jsem vynásobila stem a následně udělala přirozený logaritmus a hodnoty zanesla do grafu, přičemž na ose x je čas měření a na ose y je počet buněk v hodnotách přirozeného logaritmu. Hodnota „čisté“ na ose x značí čisté médium bez probiotika a hodnota „0“ je počátek měření po přidání 0,3 ml bakterií.

Takto jsem postupovala u každé zkumavky, abych byla schopná vyčíst z grafu exponenciální (log) fázi růstové křivky a s hodnotami dále počítat pro výpočet specifické růstové rychlosti a generační doby bakterií.

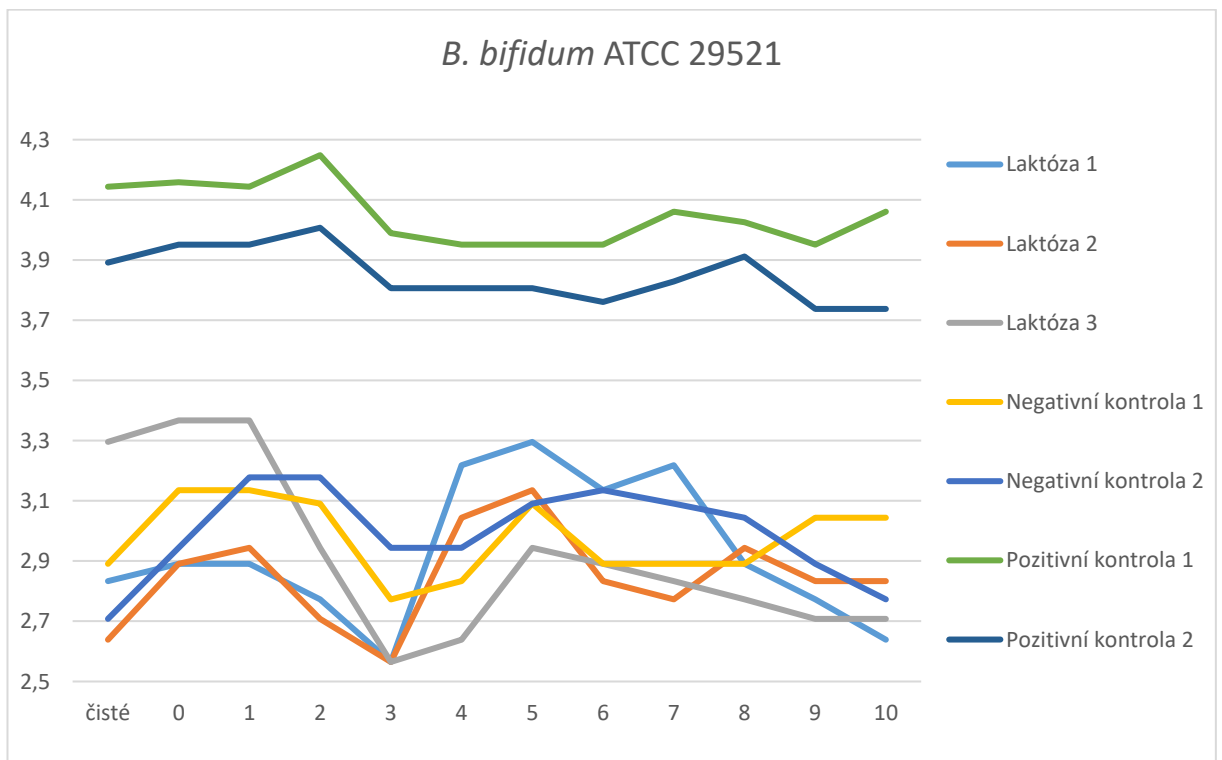
Graf 1 - Růstová křivka *B. bifidum* DSM 20215 po 10 hodinách



Graf 2 - Růstová křivka *B. bifidum* DSM 20239 po 10 hodinách

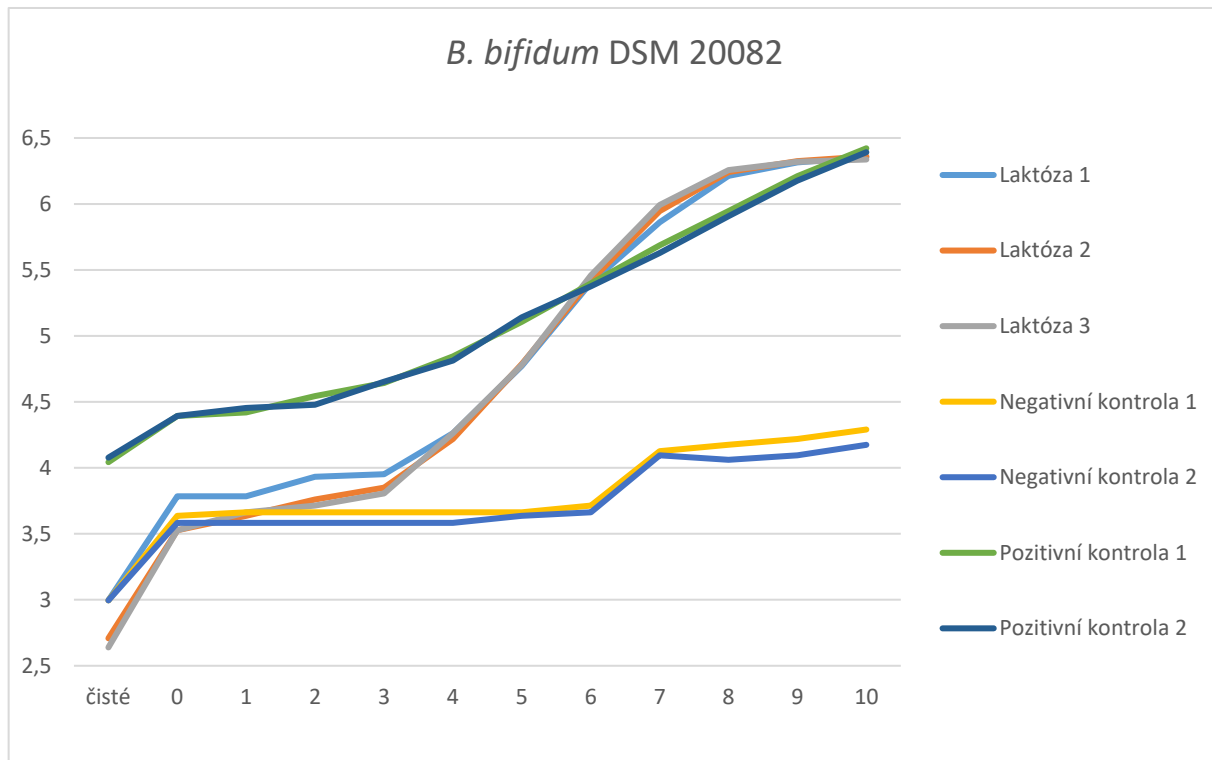


Graf 3 - Růstová křivka *B. bifidum* ATCC 29521 po 10 hodinách

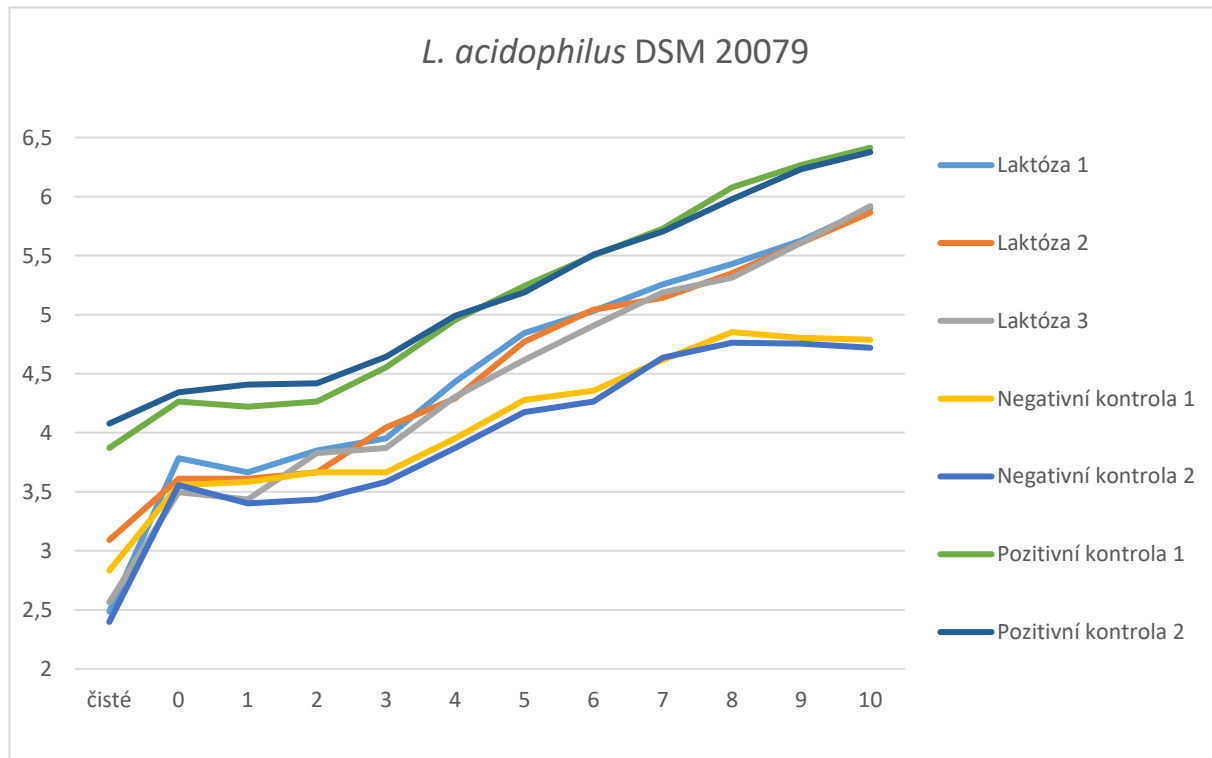


Graf růstové křivky *B. bifidum* ATCC 29521 potvrzuje předpoklad nesprávnosti výsledků viz Tabulka 8.

Graf 4 - Růstová křivka *B. bifidum* DSM 20082 po 10 hodinách

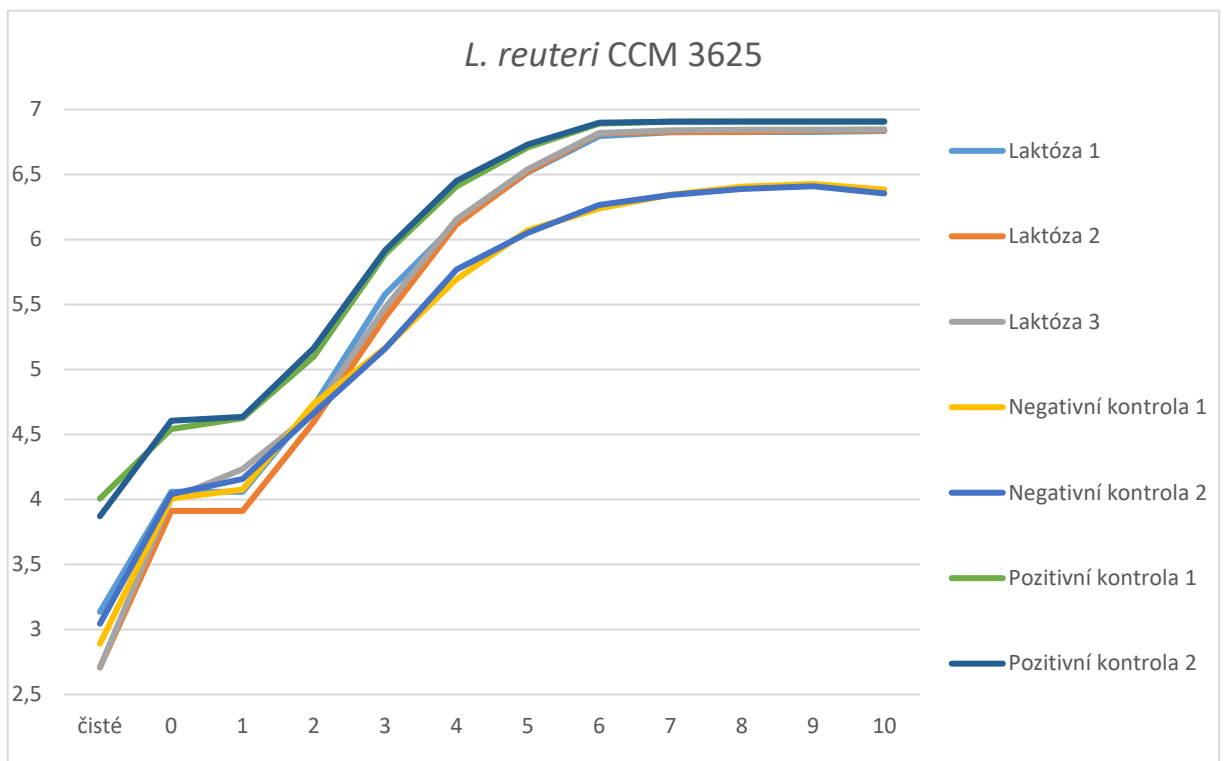


Graf 5 - Růstová křivka *L. acidophilus* DSM 20079 po 10 hodinách



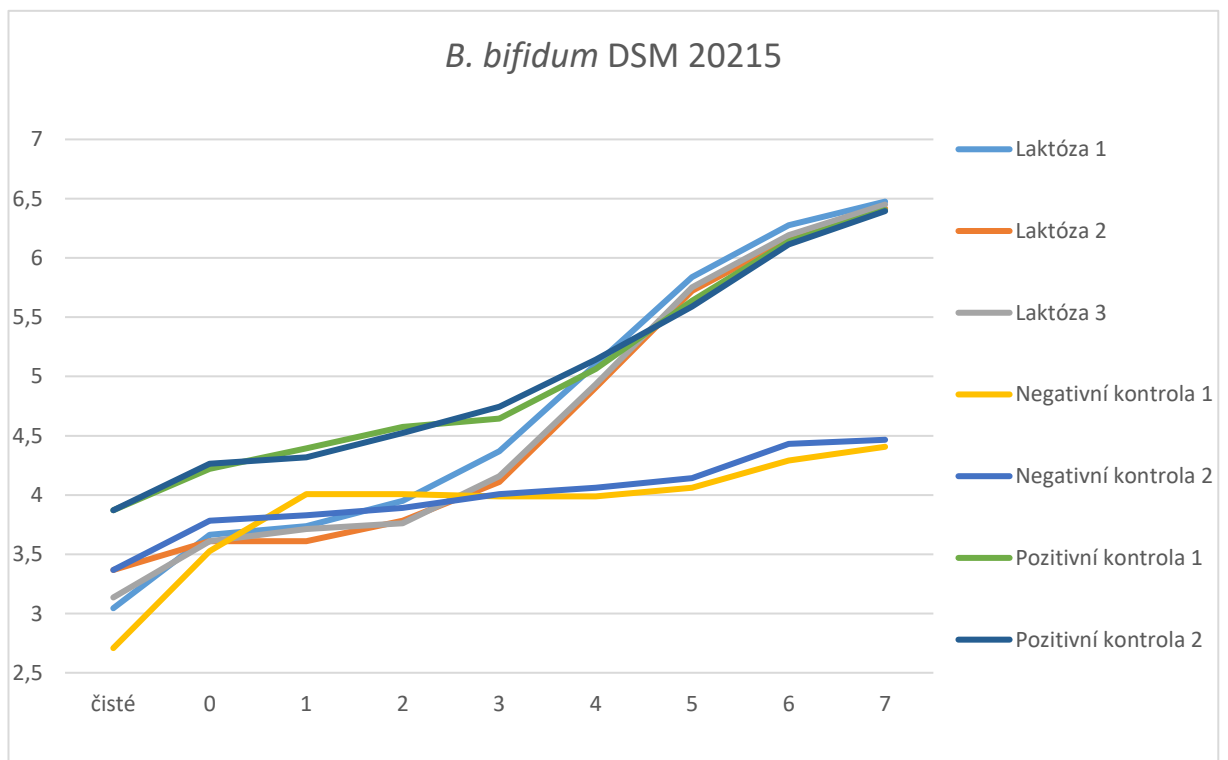
Na grafu lze vidět nárůst i v negativní kontrole. Vzorek je kontaminovaný, a proto byl vyřazen z testování.

Graf 6 - Růstová křivka *L. reuteri* CCM 3625 po 10 hodinách

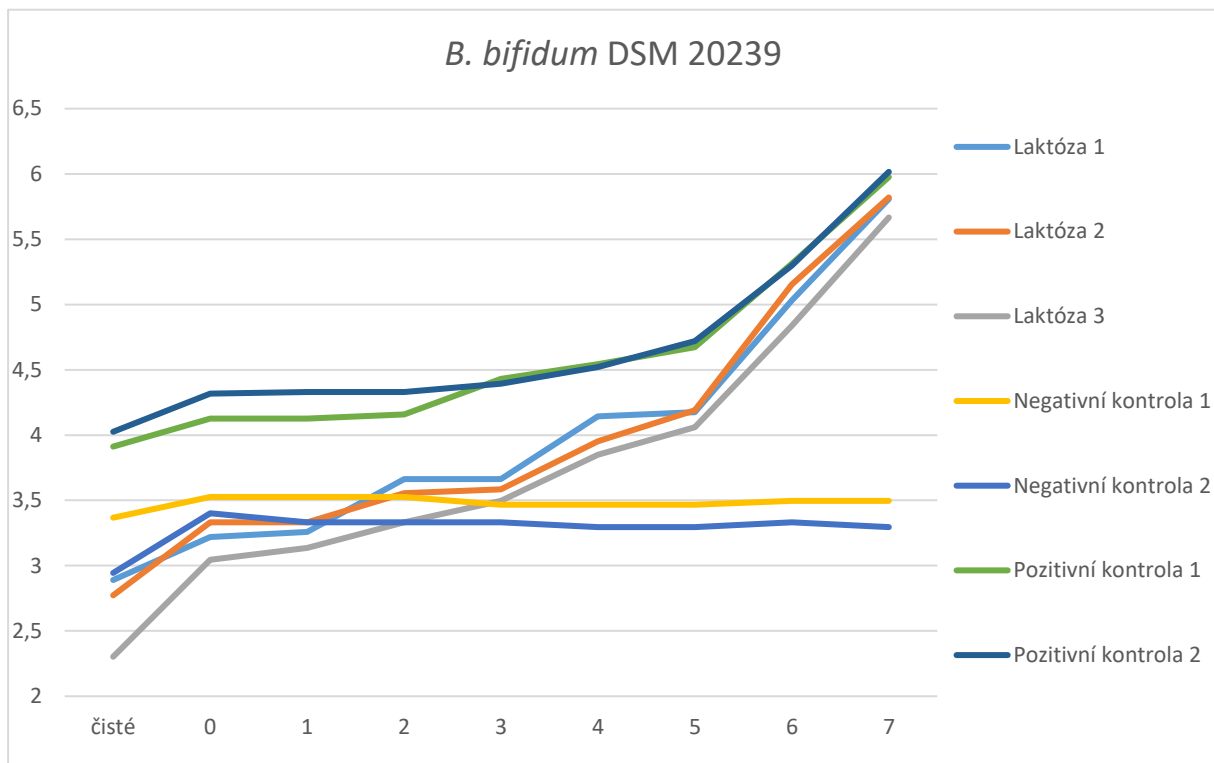


Na grafu lze vidět nárůst i v negativní kontrole. Vzorek je kontaminovaný, a proto byl vyřazen z testování.

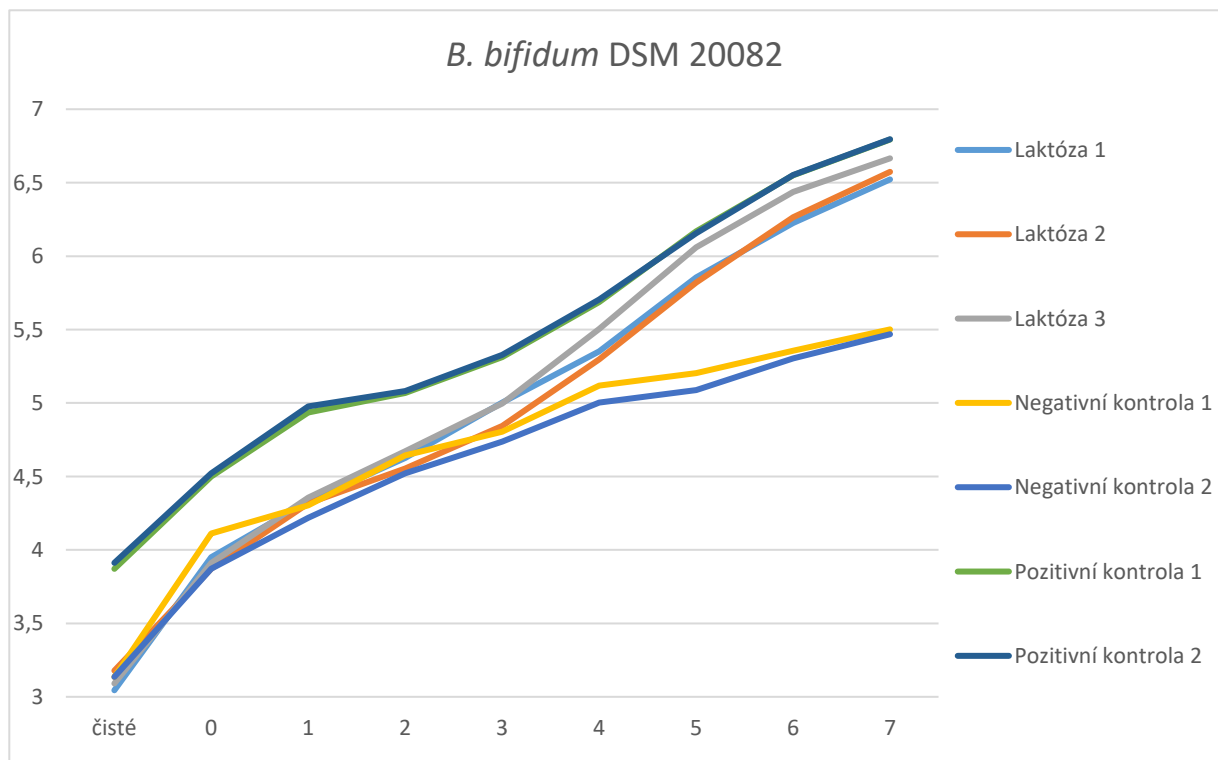
Graf 7 - Růstová křivka *B. bifidum* DSM 20215 po 7 hodinách



Graf 8 - Růstová křivka *B. bifidum* DSM 20239 po 7 hodinách

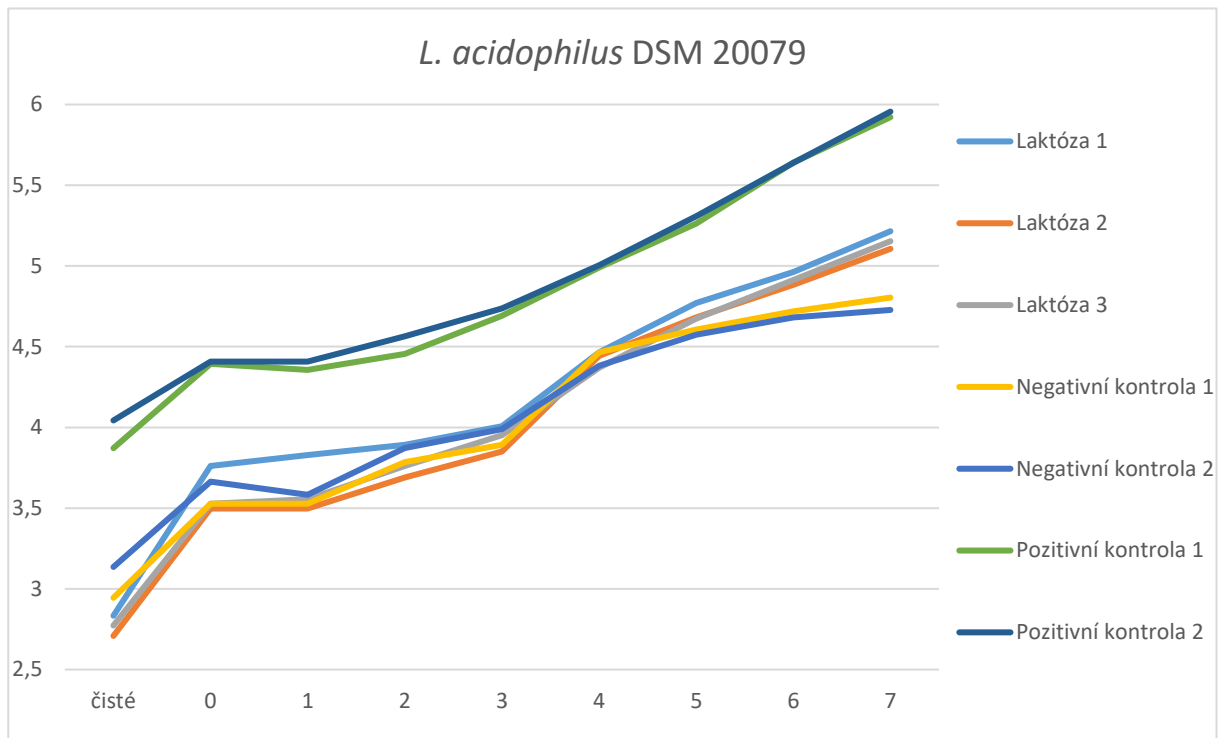


Graf 9 - Růstová křivka *B. bifidum* DSM 20082 po 7 hodinách



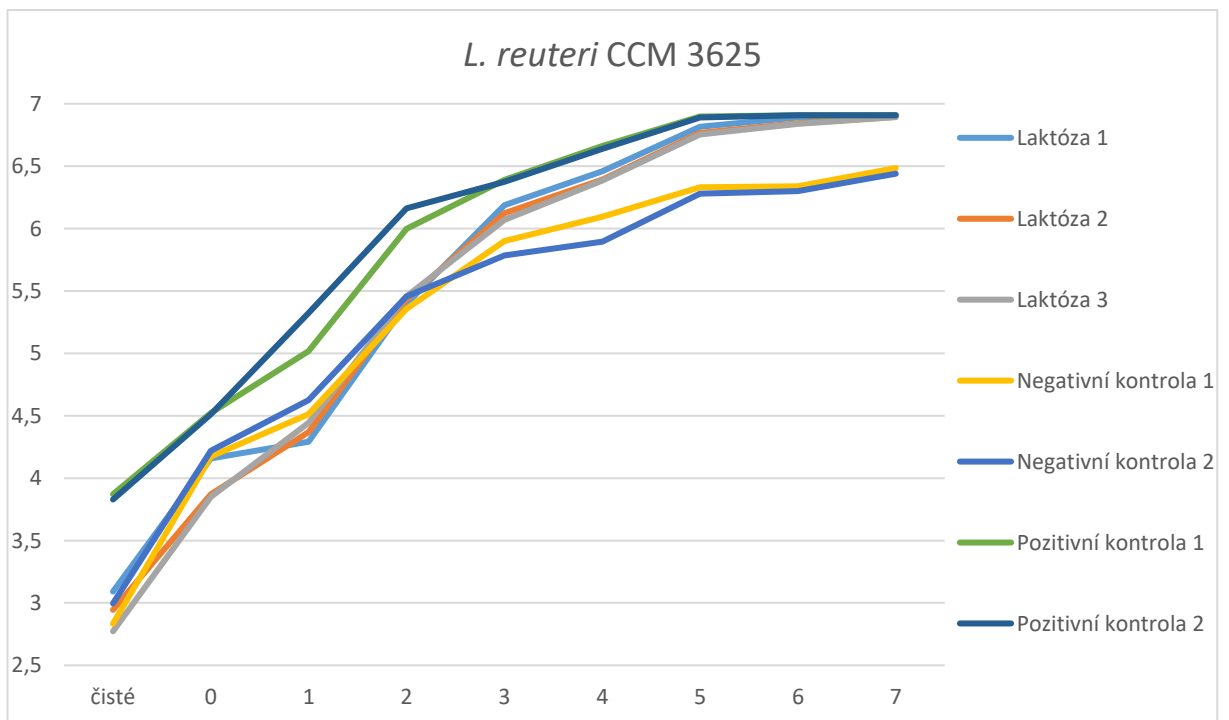
Na grafu lze vidět nárůst i v negativní kontrole. Vzorek je kontaminovaný, a proto byl vyřazen z testování.

Graf 10 - Růstová křivka *L. acidophilus* DSM 20079 po 7 hodinách



Na grafu lze vidět nárůst i v negativní kontrole. Vzorek je kontaminovaný, a proto byl vyřazen z testování.

Graf 11 - Růstová křivka *L. reuteri* CCM 3625 po 7 hodinách



Na grafu lze vidět nárůst i v negativní kontrole. Vzorek je kontaminovaný, a proto byl vyřazen z testování.

5.3 Specifická růstová rychlost a generační doba

Specifická růstová rychlost μ udává množství biomasy vytvořené jednotkou biomasy za jednotku času. Je dána vztahem: $\mu = (\ln x - \ln x_0) / (t - t_0)$, kdy čas t je začátek doby růstu exponenciální fáze a t_0 čas konce exponenciální fáze. Hodnota $\ln x$ udává množství vytvořené biomasy, právě na začátku exponenciální fáze a $\ln x_0$ na konci.

Generační doba T neboli doba zdvojení znamená dobu potřebnou ke zdvojnásobení počtu buněk v kultuře a vypočítá se jako: $T = \log_2[(t - t_0)/(\ln x - \ln x_0)]$.

Při výpočtu těchto ukazatelů byla nejdříve stanovena exponenciální fáze z grafů růstových křivek a poté vypočítána specifická růstová rychlost a generační doba pro každou zkumavku s každým použitým médiem i kmenem bakterie.

Tabulka 19 - Výpočet specifické růstové rychlosti a generační doby u *B. bifidum* DSM 20215 v 10hodinovém měření

<i>B. bifidum</i> DSM 20215	Exponenciální fáze				Specifická růst. rychlost	Generační doba
	t (h)	t ₀ (h)	lnx	lnx ₀	μ (h)	T (h)
Laktóza 1	3	6	3,9703	5,8749	0,634880	0,655445059902217
Laktóza 2	3	6	3,9120	5,7589	0,615626	0,69987333169233
Laktóza 3	3	6	3,8501	5,9296	0,693147	0,528766372944897
Negativní kontrola 1	4	5	3,5264	3,6109	0,084557	3,56392537711706
Negativní kontrola 2	7	8	3,6636	3,7136	0,050010	4,32162745198724
Pozitivní kontrola 1	3	7	4,6347	5,4765	0,210434	2,24856273570994
Pozitivní kontrola 2	3	7	4,6250	5,4293	0,201093	2,31406376928654

Tabulka 20 - Výpočet specifické růstové rychlosti a generační doby u *B. bifidum* DSM 20239 v 10hodinovém měření

<i>B. bifidum</i> DSM 20239	Exponenciální fáze				Specifická růst. rychlost	Generační doba
	t (h)	t ₀ (h)	lnx	lnx ₀	μ (h)	T (h)
Laktóza 1	6	9	4,3175	5,7557	0,479418	1,06064391778269
Laktóza 2	5	9	3,8286	5,7900	0,490330	1,02817596325508
Laktóza 3	5	9	3,8286	5,8141	0,496372	1,01050553359232
Negativní kontrola 1	8	10	3,4657	3,7377	0,135967	2,87867306104746
Negativní kontrola 2	7	9	3,3322	3,4340	0,050891	4,29643580808681
Pozitivní kontrola 1	5	8	4,7185	5,8111	0,364214	1,45714155517391
Pozitivní kontrola 2	5	8	4,7958	5,7930	0,332408	1,58897434717114

Tabulka 21 - Výpočet specifické růstové rychlosti a generační doby u *B. bifidum* DSM 20082 v 10hodinovém měření

<i>B. bifidum</i> DSM 20082	Exponenciální fáze				Specifická růst. rychlost	Generační doba
	t (h)	t ₀ (h)	lnx	lnx ₀	μ (h)	T (h)
Laktóza 1	3	7	3,9512	5,8608	0,477386	1,06677296644779
Laktóza 2	3	7	3,8501	5,9454	0,523818	0,932861765605233
Laktóza 3	3	7	3,8067	5,9915	0,546201	0,872497422257321
Negativní kontrola 1	6	7	3,7136	4,1271	0,413562	1,27382335415582
Negativní kontrola 2	6	7	3,6636	4,0943	0,430783	1,2149670579983
Pozitivní kontrola 1	3	10	4,6444	6,4216	0,253890	1,97772341137341
Pozitivní kontrola 2	4	10	4,8122	6,3919	0,263289	1,92528198110904

Tabulka 22 - Výpočet specifické růstové rychlosti a generační doby u *L. acidophilus* DSM 20079 v 10hodinovém měření

<i>L. acidophilus</i> DSM 20079	Exponenciální fáze				Specifická růst. rychlost	Generační doba
	t (h)	t ₀ (h)	lnx	lnx ₀	μ (h)	T (h)
Laktóza 1	3	5	3,9512	4,8442	0,446472	1,16335941503201
Laktóza 2	4	5	4,2905	4,7707	0,480225	1,05821703348002
Laktóza 3	4	7	4,3041	5,1874	0,294440	1,76395325453631
Negativní kontrola 1	3	5	3,6636	4,2767	0,306552	1,70579516506126
Negativní kontrola 2	3	5	3,5835	4,1744	0,295434	1,7590914175178
Pozitivní kontrola 1	5	8	5,2417	6,0776	0,278632	1,84356847040736
Pozitivní kontrola 2	7	9	5,7038	6,2324	0,264333	1,91957279910905

Tabulka 23 - Výpočet specifické růstové rychlosti a generační doby u *L. reuteri* CCM 3625 v 10hodinovém měření

<i>L. reuteri</i> CCM 3625	Exponenciální fáze				Specifická růst. rychlost	Generační doba
	t (h)	t ₀ (h)	lnx	lnx ₀	μ (h)	T (h)
Laktóza 1	1	3	4,0604	5,5797	0,759643	0,396605748229647
Laktóza 2	2	4	4,5951	6,1159	0,760386	0,395195863914774
Laktóza 3	2	4	4,6728	6,1549	0,741015	0,43242606909209
Negativní kontrola 1	2	4	4,7362	5,6937	0,478767	1,06260484635655
Negativní kontrola 2	3	4	5,1591	5,7683	0,609266	0,714856580148722
Pozitivní kontrola 1	2	4	5,0999	6,4085	0,654331	0,611907072096364
Pozitivní kontrola 2	2	4	5,1648	6,4505	0,642842	0,637463401540298

6 Diskuze

Pro náš experiment byly vybrány kmeny *B. bifidum* (DSM 20215, DSM 20082, DSM 20239) a *L. acidophilus* DSM 20079 na základě výzkumu Goderské et al. (2008). Goderska et al. (2008) porovnávali růst rodů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* v médiích doplněných vybranými sacharidy. Zjistili, že přídavek sacharidů do média měl významný vliv na počet bakteriálních buněk. Jako nejsnáze dostupnými sacharidy se pro všechny testované bakteriální kmeny ukázaly glukóza, sacharóza a laktóza. Jejich experimenty potvrdily, že glukóza je pro testované kmeny nejsnáze dostupným sacharidem a některé druhy *B. bifidum* využívají laktózu stejně snadno jako sacharózu. Naše výsledky rovněž prokázaly, že přídavek laktózy do média významně zvýšil celkový počet bakterií.

Nejvyšší hodnota optické hustoty média ze všech testovaných kmenů byla naměřena u kmene *L. reuteri* CCM 3625, kdy tato hodnota dosahovala až 10 McF. To, že média obohacená o cukr poskytovala vyšší celkový počet bakterií pro rod *Lactobacillus* než pro *Bifidobacterium*, popisují i Goderska et al. (2008) ve svém výzkumu.

Tato studie má velký význam pro oblast zdraví trávicího traktu, protože *L. acidophilus* a *B. bifidum* jsou probiotické bakterie, které mají pozitivní vliv na lidské zdraví. Tyto druhy bakterií jsou přirozenou součástí střevní mikrobioty a mohou pomoci udržovat zdravou rovnováhu mikroorganismů v trávicím systému. Identifikace nejvhodnějších sacharidů pro růst těchto bakterií tak může vést k vývoji nových probiotických produktů s větší účinností a prospěšností pro lidské zdraví.

Výběr kmene *L. reuteri* CCM 3625 pro náš výzkum inspirovala studie Májekové et al. (2015). Studie se zabývala hledáním vhodného kmene z rodu *Lactobacillus*, který by měl být odolný vůči antibiotikům. Jednou ze zdravotních poruch, které jsou probiotické bakterie schopny mírnit, je postantibiotický průjem. V případě zotavení postantibiotického průjmu je užívání probiotik velmi časté. Z těchto důvodů je proto nezbytné znát profil antibiogramu probiotické bakterie. Ve studii Májekové et al. (2015) bylo vybráno osm živočišných laktobacilů a sbírkový kmen *Lactobacillus reuteri* CCM 3625. Tyto bakterie byly studovány z hlediska profilů fermentace sacharidů, rezistence na žlučové soli, profilů antibiogramů a vlivu žluči na citlivost k antibiotikům.

Studie Desjardins et al. (1990) byla inspirací pro výběr kmene *B. bifidum* ATCC 29521 do našeho výzkumu. Studie zkoumala další kmeny bifidobakterií, včetně *B. bifidum* ATCC 29521 z hlediska jejich schopnost růstu a potenciálního použití v produktech jogurtového typu. V této studii sledovali specifickou růstovou rychlost bakterií po dobu 8 hodin ve 12 % rekonstituovaném odstředěném mléce. Zjistili, že všechny testované kmeny *B. bifidum* by měly být vynikajícími kandidáty pro výrobu fermentovaných mléčných výrobků používaných jako doplňků stravy prospěšných pro zdraví.

Studie (Desjardins, 1990) udává, že molární poměr acetát:laktát se pohyboval od 3:1 až 1:1. Z tohoto důvodu si myslíme, že bifidobakterie by nebyly vhodné pro výrobu

fermentovaných mléčných výrobků. Při fermentaci výrobku by byl výrobek příliš kyselý a z hlediska chuti nedobrý.

Při našem experimentu jsme navíc zjistili, že tento kmen byl kontaminován, jelikož projevoval známky růstu i v negativní kontrole, a proto byl z testování vyřazen.

Co se týče specifické růstové rychlosti našich testovaných kmenů, nejvyšší hodnota u média s laktózou byla vyhodnocena u kmene *L. reuteri* CCM 3625. Průměrná hodnota růstové rychlosti v médiu s laktózou byla 0,75 h. Tento kmen, ale vykazoval nárůst optické hustoty i v negativní kontrole, což ukazuje na kontaminaci i přesto, že kmeny byly před měřením na kontaminaci mikroskopicky zkontrolovány. Nejnižší specifickou růstovou rychlost v médiu obohaceném o laktózu vykazoval kmen *L. acidophilus* DSM 20079, kde průměrná hodnota byla 0,41 h.

Obecně lze říci, že výsledky vybraných vědeckých studií naznačují, že glukóza, laktóza a sacharóza jsou pro všechny testované bakteriální kmeny nejen snadno dostupnými sacharidy, ale také jsou schopné tyto sacharidy využít jako zdroj uhlíku v metabolických procesech. Tyto poznatky jsou významné nejen pro obecné porozumění metabolických procesů u bakterií, ale také pro zlepšení výroby a kvality fermentovaných potravin. Námi testovaní bakteriální zástupci byly vybráni na základě předešlých studií zabývajících se laktózovou intolerancí, například Masoumi et al. (2021) popisují účinek probiotického jogurtu obohaceného o *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium* sp. na pacienty s intolerancí laktózy. Studie byla provedena na 55 pacientech s intolerancí laktózy, kteří byli rozděleni do kontrolní skupiny a experimentální skupiny. Kontrolní skupina dostávala neprobiotický jogurt, zatímco experimentální skupina dostávala jogurt obohacený o *L. acidophilus* a *Bifidobacterium* sp. Pacienti dostávali jogurt po dobu jednoho týdne a byli poté testováni na příznaky intolerance laktózy a podstoupili dechový test na laktózový vodík. Výsledky testů u experimentální skupiny ukázaly nižší příznaky intolerance laktózy a nižší hladinu laktózového vodíku v dechu. Studie tedy naznačuje, že probiotické jogurty obohacené o *L. acidophilus* a *Bifidobacterium* sp. mohou být účinnou volbou pro pacienty s intolerancí laktózy.

Další pozitivní účinky podáváním probiotik při laktózové intoleranci popisují He et al. (2007) ve své studii. Studie zkoumala účinky dvoutýdenní suplementace jogurtem obohaceným o *Bifidobacterium animalis* a kapslemi s *Bifidobacterium longum* na střevní mikroflóru u 11 čínských subjektů s intolerancí laktózy. Studie se zaměřila na změny v metabolických aktivitách střevní mikrobioty, počtu buněk a skupin bakterií ve stolici a aktivitu β -galaktosidázy ve stolici. Výsledky ukázaly, že suplementace vedla k nárůstu počtu celkových buněk a bakterií, zvýšené aktivitě β -galaktosidázy a mírnému nárůstu počtu *Bifidobacterium*. Symptomy intolerance laktózy se po suplementaci snížily. Závěry studie ukázaly, že suplementace může modifikovat mikrobiotu a zmírnit symptomy u subjektů s intolerancí laktózy. Tato studie naznačuje, že dietní laktóza a probiotika mohou být užitečnými nástroji v řízení intolerance laktózy prostřednictvím modifikace mikrobioty tlustého střeva.

Pro vývoj nových probiotik a pro pochopení toho, proč některé oligosacharidy a polysacharidy mohou nebo nemohou být použity jako prebiotika, je zapotřebí lépe

porozumět enzymům pro hydrolýzu sacharidů kódovaným bakteriemi *Bifidobacterium*. Dosud byl podrobně charakterizován pouze relativně malý počet bifidobakteriálních glykosylhydroláz (Pokusaeva, 2011). V rámci svého výzkumu zkoumali Pokusaeva et al. (2011) charakterizované bifidobakteriální glykosidové hydrolázy, jako jsou α -galaktosidázy, β -galaktosidázy, α -glukosidázy a sacharóza fosforylázy.

Tyto enzymy mohou být použity k tvorbě glykosidických vazeb místo hydrolýzy, což umožňuje vytvářet prebiotické látky, které jsou selektivně metabolizovány bifidobakteriemi v tlustém střevě. Mezi bifidobakteriální glykosylhydrolázy s transglykosylovou aktivitou jsou nejběžnější a nejlépe prostudovanou skupinou β -galaktosidázy. Tyto enzymy jsou nezbytné pro růst bifidobakterií na substrátech získaných z mléka, včetně laktózy a (trans)galaktooligosacharidů odvozených z laktózy, které obsahují β -galaktosidické vazby. Hydrolytické a transglykosylové aktivity β -galaktosidázy byly prokázány u různých druhů bifidobakterií, včetně *B. bifidum* (Pokusaeva, 2011).

7 Závěr

- Výše uvedený text popisuje výsledky experimentu zaměřeného na růst bakterií v médiích obohacených o laktózu. Experiment byl proveden s několika kmeny bakterií, přičemž byla měřena optická hustota, specifická růstová rychlost a generační doba. Výsledky experimentu ukázaly, že přidavek laktózy do médií zvýšil celkový počet bakterií.
- Nejvyšší specifickou růstovou rychlost vykazoval v médiu s laktózou kmen *B. bifidum* DSM 20215 s průměrnou hodnotou 0,65 h. Kvůli nejrychlejší specifické rychlosti, se dá usuzovat, že kmen *B. bifidum* DSM 20215, by byl vhodný probiotický kandidát. Nejnižší specifickou růstovou rychlost v médiu obohaceném o laktózu vykazoval kmen *B. bifidum* DSM 20082, kde průměrná hodnota byla 0,49 h.
- Při porovnání specifických růstových rychlostí kmenů v médiu obsahujícím laktózu s médiem obohaceným o Wilkins-Chalgren, lze říci, že médium s přidanou laktózou mělo větší vliv na růst bakterií.
- Generační doba byla dalším měřeným ukazatelem pro hodnocení využití laktózy probiotiky. Nejkratší doba generace byla opět zaznamenána u kmene *B. bifidum* DSM 20215, kde se v médiu s laktózou pohybovala okolo 0,6 h, zatímco v pozitivní kontrole byla 2,3 h. Tento kmen má zároveň největší rozdíl hodnot generační doby pro různá média. Z výsledků lze usuzovat, že pro každý testovaný kmen byla generační doba kratší v médiu obsahujícím laktózu než v médiu obohaceném o Wilkins-Chalgren.
- Původní hypotéza předpokládala, že existuje významný rozdíl mezi specifickou rychlostí růstu různých rodů bakterií v závislosti na přítomnosti laktózy v kultivačním médiu. Tento předpoklad byl dále aplikován i na kmeny uvnitř jednotlivých rodů. I když existují některé kontaminované výsledky, dá se usoudit, že hypotéza je správná. Nicméně, aby byla hypotéza přesvědčivěji potvrzena, bylo by vhodné tento experiment zopakovat na větším množství kmenů.

8 Citovaná literatura

ALAZZEH, Awfa Y., Firas AZZEH a Danfeng SONG, 2011. The effect of chemical mutagenesis on the activity of α - and β galactosidase in *Lactobacillus reuteri*. *Milchwissenschaft* [online]. **66**(3), 251-253 [cit. 2023-02-04].

ANDERSON, Rachel C, Adrian L COOKSON, Warren C MCNABB, Zaneta PARK, Mark J MCCANN, William J KELLY a Nicole C ROY, 2010. *Lactobacillus plantarum* MB452 enhances the function of the intestinal barrier by increasing the expression levels of genes involved in tight junction formation. *BMC Microbiology* [online]. **10**(1) [cit. 2022-11-28]. ISSN 1471-2180. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2180-10-316

ARBOLEYA, Silvia, Claire WATKINS, Catherine STANTON a R. Paul ROSS, 2016. Gut Bifidobacteria Populations in Human Health and Aging. *Frontiers in Microbiology* [online]. **7** [cit. 2022-11-20]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2016.01204

AROLA, H. a A. TAMM, 2009. Metabolism of Lactose in the Human Body. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* [online]. **29**(202), 21-25 [cit. 2023-02-03]. ISSN 0036-5521. Dostupné z: doi:10.3109/00365529409091741

ARRIGONI, E, P MARTEAU, F BRIET, P POCHART, J C RAMBAUD a B MESSING, 1994. Tolerance and absorption of lactose from milk and yogurt during short-bowel syndrome in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. **60**(6), 926-929 [cit. 2022-11-28]. ISSN 0002-9165. Dostupné z: doi:10.1093/ajcn/60.6.926

ARVANITAKIS, C, G-H CHEN, J FOLSCROFT a A P KLOTZ, 1977. Lactase deficiency—a comparative study of diagnostic methods. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. **30**(10), 1597-1602 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0002-9165. Dostupné z: doi:10.1093/ajcn/30.10.1597

ASHRAF, Rabia a Nagendra P. SHAH, 2014. Immune System Stimulation by Probiotic Microorganisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. **54**(7), 938-956 [cit. 2022-11-21]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2011.619671

AWAISHEH, S.S., M.S.Y. HADDADIN a R.K. ROBINSON, 2005. Incorporation of selected nutraceuticals and probiotic bacteria into a fermented milk. *International Dairy Journal* [online]. **15**(11), 1184-1190 [cit. 2023-02-03]. ISSN 09586946. Dostupné z: doi:10.1016/j.idairyj.2004.11.003

AWAISHEH, Saddam, 2012. Probiotic Food Products Classes, Types, and Processing. In: RIGOBELLO, Everlon, ed. *Probiotics* [online]. InTech [cit. 2023-02-03]. ISBN 978-953-51-0776-7. Dostupné z: doi:10.5772/51267

B HAFFNER, Fernanda, Roudayna DIAB a Andreea PASC, 2016. Encapsulation of probiotics: insights into academic and industrial approaches. *AIMS Materials Science* [online]. **3**(1), 114-136 [cit. 2022-11-23]. ISSN 2372-0484. Dostupné z: doi:10.3934/matricsci.2016.1.114

BAYLESS, Theodore M., Elizabeth BROWN a David M. PAIGE, 2017. Lactase Non-persistence and Lactose Intolerance. *Current Gastroenterology Reports* [online]. **19**(5) [cit. 2023-02-20]. ISSN 1522-8037. Dostupné z: doi:10.1007/s11894-017-0558-9

BEHNSEN, J., E. DERIU, M. SASSONE-CORSI a M. RAFFATELLU, 2013. Probiotics: Properties, Examples, and Specific Applications. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* [online]. **3**(3), 010074-010074 [cit. 2023-02-20]. ISSN 2157-1422. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a010074

BEYERLEIN, L., D. POHL, F. DELCO, B. STUTZ, M. FRIED a R. TUTUIAN, 2008. Correlation between symptoms developed after the oral ingestion of 50 g lactose and results of hydrogen breath testing for lactose intolerance. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* [online]. **27**(8), 659-665 [cit. 2022-11-29]. ISSN 02692813. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2036.2008.03623.x

BHOWMIK, Tarun, M. C. JOHNSON a Bibek RAY, 1987. Factors influencing synthesis and activity of β -galactosidase in *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Industrial Microbiology* [online]. **2**(1), 1-7 [cit. 2023-02-04]. ISSN 0169-4146. Dostupné z: doi:10.1007/BF01569399

BINDER, Henry J., 2010. Role of Colonic Short-Chain Fatty Acid Transport in Diarrhea. *Annual Review of Physiology* [online]. **72**(1), 297-313 [cit. 2022-11-28]. ISSN 0066-4278. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-physiol-021909-135817

BISSON, Jean-François, Sophie HIDALGO, Pascale ROZAN a Michaël MESSAOUDI, 2010. Preventive Effects of Different Probiotic Formulations on Travelers' Diarrhea Model in Wistar Rats. *Digestive Diseases and Sciences* [online]. **55**(4), 911-919 [cit. 2022-11-21]. ISSN 0163-2116. Dostupné z: doi:10.1007/s10620-009-0822-4

BODÉ, S. a E. GUDMAND-HØYER, 2009. Incidence and Clinical Significance of Lactose Malabsorption in Adult Coeliac Disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* [online]. **23**(4), 484-488 [cit. 2022-11-28]. ISSN 0036-5521. Dostupné z: doi:10.3109/00365528809093898

BOLTE, Laura A, Arnau VICH VILA, Floris IMHANN et al., 2021. Long-term dietary patterns are associated with pro-inflammatory and anti-inflammatory features of the gut microbiome. *Gut* [online]. **70**(7), 1287-1298 [cit. 2022-11-20]. ISSN 0017-5749. Dostupné z: doi:10.1136/gutjnl-2020-322670

BOND, John H. a Michael D. LEVITT, 1976. Quantitative Measurement of Lactose Absorption. *Gastroenterology* [online]. **70**(6), 1058-1062 [cit. 2022-11-29]. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1016/S0016-5085(76)80311-3

BRIET, F, P POCHART, P MARTEAU, B FLOURIE, E ARRIGONI a J C RAMBAUD, 1997. Improved clinical tolerance to chronic lactose ingestion in subjects with lactose intolerance: a placebo effect?. *Gut* [online]. **41**(5), 632-635 [cit. 2022-11-23]. ISSN 0017-5749. Dostupné z: doi:10.1136/gut.41.5.632

BRUMMER, R.-J. M., U. ARMBRECHT, I. BOSAEUS, G. DOTEVALL a R. W. STOCKBRUEGGER, 2009. The Hydrogen (H₂) Breath Test: Sampling Methods and the Influence of Dietary Fibre on Fasting Level. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* [online]. **20**(8), 1007-1013 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0036-5521. Dostupné z: doi:10.3109/00365528509088863

BRUMMER, RJ, M KARIBE a RW STOCKBRÜGGER, 1993. Lactose malabsorption. Optimization of investigational methods. *Scandinavian journal of gastroenterology*.

CARSTENSEN, Jeppe West, Mahtab CHEHRI, Kristian SCHØNNING, Steen Christian RASMUSSEN, Jacob ANHØJ, Nina Skavlan GODTFREDSSEN, Christian Østergaard ANDERSEN a Andreas Munk PETERSEN, 2018. Use of prophylactic *Saccharomyces boulardii* to prevent *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients: a controlled prospective intervention study. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* [online]. **37**(8), 1431-1439 [cit. 2022-11-21]. ISSN 0934-9723. Dostupné z: doi:10.1007/s10096-018-3267-x

CROXEN, Matthew A. a B. Brett FINLAY, 2010. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology* [online]. **8**(1), 26-38 [cit. 2022-11-21]. ISSN 1740-1526. Dostupné z: doi:10.1038/nrmicro2265

DE OLIVEIRA RIBEIRO, Ana Paula, Flávia dos Santos GOMES, Karina MARIA OLBRICH DOS SANTOS et al., 2020. Development of a probiotic non-fermented blend beverage with juçara fruit: Effect of the matrix on probiotic viability and survival to the gastrointestinal tract. *LWT* [online]. **118** [cit. 2022-11-23]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2019.108756

DE SIMONE, Claudio, 2019. The Unregulated Probiotic Market. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* [online]. **17**(5), 809-817 [cit. 2022-11-14]. ISSN 15423565. Dostupné z: doi:10.1016/j.cgh.2018.01.018

DESJARDINS, Marie-Line, Denis ROY a Jacques GOULET, 1990. Growth of *Bifidobacteria* and Their Enzyme Profiles. *Journal of Dairy Science* [online]. **73**(2), 299-307 [cit. 2023-04-17]. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.S0022-0302(90)78673-0

DE VRESE, Michael, Anna STEGELMANN, Bernd RICHTER, Susanne FENSELAU, Christiane LAUE a Jürgen SCHREZENMEIR, 2001. Probiotics—compensation for lactase insufficiency. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. **73**(2), 421-429 [cit. 2023-02-03]. ISSN 0002-9165. Dostupné z: doi:10.1093/ajcn/73.2.421s

DEVIKA, N. T. a Karthik RAMAN, 2019. Deciphering the metabolic capabilities of *Bifidobacteria* using genome-scale metabolic models. *Scientific Reports* [online]. **9**(1) [cit. 2022-11-20]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-019-54696-9

DONKOR, Osaana N., A. HENRIKSSON, T. VASILJEVIC a N.P. SHAH, 2007. α -Galactosidase and proteolytic activities of selected probiotic and dairy cultures in fermented soymilk. *Food Chemistry* [online]. **104**(1), 10-20 [cit. 2023-02-04]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2006.10.065

DOUWES, A C, J FERNANDES a H J DEGENHART, 1978. Improved accuracy of lactose tolerance test in children, using expired H₂ measurement. *Archives of Disease in Childhood* [online]. **53**(12), 939-942 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0003-9888. Dostupné z: doi:10.1136/adc.53.12.939

EDWARDS-INGRAM, Laura, Paul GITSHAM, Nicola BURTON, Geoff WARHURST, Ian CLARKE, David HOYLE, Stephen G. OLIVER a Lubomira STATEVA, 2007. Genotypic and Physiological Characterization of *Saccharomyces boulardii*, the Probiotic Strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **73**(8), 2458-2467 [cit. 2022-11-21]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.02201-06

EHRHARDT, Stephan, Nan GUO, Rebecca HINZ et al., 2016. *Saccharomyces boulardii* to Prevent Antibiotic-Associated Diarrhea: A Randomized, Double-Masked, Placebo-Controlled

Trial. *Open Forum Infectious Diseases* [online]. **3**(1) [cit. 2022-11-21]. ISSN 2328-8957. Dostupné z: doi:10.1093/ofid/ofw011

EISENMANN, Alexander, Anton AMANN, Michael SAID, Bettina DATTA a Maximilian LEDOCHOWSKI, 2008. Implementation and interpretation of hydrogen breath tests. *Journal of Breath Research* [online]. **2**(4) [cit. 2023-04-19]. ISSN 1752-7155. Dostupné z: doi:10.1088/1752-7155/2/4/046002

ENATTAH, N, T PEKKARINEN, M J VÄLIMÄKI, E LÖYTTYNIEMI a I JÄRVELÄ, 2005. Genetically defined adult-type hypolactasia and self-reported lactose intolerance as risk factors of osteoporosis in Finnish postmenopausal women. *European Journal of Clinical Nutrition* [online]. **59**(10), 1105-1111 [cit. 2022-11-28]. ISSN 0954-3007. Dostupné z: doi:10.1038/sj.ejcn.1602219

FLOURIÉ, B, F BRIET, C FLORENT, P PELLIER, M MAUREL a J C RAMBAUD, 1993. Can diarrhea induced by lactulose be reduced by prolonged ingestion of lactulose?. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. **58**(3), 369-375 [cit. 2022-11-23]. ISSN 0002-9165. Dostupné z: doi:10.1093/ajcn/58.3.369

GINGOLD-BELFER, Rachel, Sigal LEVY, Olga LAYFER, Lea PAKANAEV, Yaron NIV, Ram DICKMAN a Tsachi Tsadok PERETS, 2020. Use of a Novel Probiotic Formulation to Alleviate Lactose Intolerance Symptoms—a Pilot Study. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* [online]. **12**(1), 112-118 [cit. 2023-02-04]. ISSN 1867-1306. Dostupné z: doi:10.1007/s12602-018-9507-7

GIRAFFA, Giorgio, Nina CHANISHVILI a Yantiyati WIDYASTUTI, 2010. Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. *Research in Microbiology* [online]. **161**(6), 480-487 [cit. 2022-11-21]. ISSN 09232508. Dostupné z: doi:10.1016/j.resmic.2010.03.001

GODERSKA, Kamila, Jacek NOWAK a Zbigniew CZARNECKI, 2008. Comparison of growth of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium Bifidum* species in media supplemented with selected saccharides including prebiotics. *Acta Scientiarum Polonorum : Technologia Alimentaria* [online]. **7** [cit. 2023-04-20].

GOLDSTEIN, R, D BRAVERMAN a H STANKIEWICZ, 2000. Carbohydrate malabsorption and the effect of dietary restriction on symptoms of irritable bowel syndrome and functional bowel complaints. *The Israel Medical Association journal*.

GRONBACH, Kerstin, Ute EBERLE, Martina MÜLLER et al., 2010. Safety of Probiotic *Escherichia coli* Strain Nissle 1917 Depends on Intestinal Microbiota and Adaptive Immunity of the Host. *Infection and Immunity* [online]. **78**(7), 3036-3046 [cit. 2023-02-20]. ISSN 0019-9567. Dostupné z: doi:10.1128/IAI.00218-10

GUSLANDI, Mario, 2015. Role of Probiotics in Crohn's Disease and in Pouchitis. *Journal of Clinical Gastroenterology* [online]. **49**(1), 46-49 [cit. 2022-11-21]. ISSN 0192-0790. Dostupné z: doi:10.1097/MCG.0000000000000351

GYAWALI, Rabin a Salam A. IBRAHIM, 2012. Impact of plant derivatives on the growth of foodborne pathogens and the functionality of probiotics. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. **95**(1), 29-45 [cit. 2023-02-04]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-012-4117-x

GYAWALI, Rabin, Ayowole OYENIRAN, Tahl ZIMMERMAN, Sulaiman O. ALJALOU, Albert KRASTANOV a Salam A. IBRAHIM, 2020. A comparative study of extraction techniques for maximum recovery of β -galactosidase from the yogurt bacterium *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. *Journal of Dairy Research* [online]. **87**(1), 123-126 [cit. 2023-02-04]. ISSN 0022-0299. Dostupné z: doi:10.1017/S0022029919001031

HE, T., M.G. PRIEBE, Y. ZHONG, et al., 2007. Effects of yogurt and bifidobacteria supplementation on the colonic microbiota in lactose-intolerant subjects. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 071010063119001-??? [cit. 2023-04-20]. ISSN 1364-5072. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03579.x

HENKER, Jobst, Martin W. LAASS, Boris M. BLOKHIN et al., 2008. Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 Versus Placebo for Treating Diarrhea of Greater Than 4 Days Duration in Infants and Toddlers. *Pediatric Infectious Disease Journal* [online]. **27**(6), 494-499 [cit. 2023-02-20]. ISSN 0891-3668. Dostupné z: doi:10.1097/INF.0b013e318169034c

HERMANS, M. M., R. J. BRUMMER, A. M. RUIJGERS a R. W. STOCKBRÜGGER, 1997. The relationship between lactose tolerance test results and symptoms of lactose intolerance. *The American journal of gastroenterology*.

HIDALGO-CANTABRANA, Claudio, Susana DELGADO, Lorena RUIZ, Patricia RUAS-MADIEDO, Borja SÁNCHEZ a Abelardo MARGOLLES, 2018. Bifidobacteria and Their Health-Promoting Effects. In: BRITTON, Robert A. a Patrice D. CANI, ed. *Bugs as Drugs* [online]. Washington, DC, USA: ASM Press, s. 73-98 [cit. 2022-11-20]. ISBN 9781683670803. Dostupné z: doi:10.1128/9781555819705.ch3

HILL, Colin, Francisco GUARNER, Gregor REID, et al., 2014. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* [online]. **11**(8), 506-514 [cit. 2022-11-14]. ISSN 1759-5045. Dostupné z: doi:10.1038/nrgastro.2014.66

HORÁČKOVÁ, Šárka, 2020. Reklasifikace rodu *Lactobacillus*. *Mlékařské listy* [online]. **31**(4) [cit. 2023-03-02].

HOVDE, Øistein a Per G FARUP, 2009. A comparison of diagnostic tests for lactose malabsorption - which one is the best?. *BMC Gastroenterology* [online]. **9**(1) [cit. 2022-11-29]. ISSN 1471-230X. Dostupné z: doi:10.1186/1471-230X-9-82

HOVE, H, H NØRGAARD a P BRØBECH MORTENSEN, 1999. Lactic acid bacteria and the human gastrointestinal tract. *European Journal of Clinical Nutrition* [online]. **53**(5), 339-350 [cit. 2023-02-03]. ISSN 0954-3007. Dostupné z: doi:10.1038/sj.ejcn.1600773

HSU, C.A., R.C. YU a C.C. CHOU, 2005. Production of β -galactosidase by Bifidobacteria as influenced by various culture conditions. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **104**(2), 197-206 [cit. 2023-02-04]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.02.010

CHRISTOPHER, Nicholas L. a Theodore M. BAYLESS, 1971. Role of the Small Bowel and Colon in Lactose-Induced Diarrhea. *Gastroenterology* [online]. **60**(5), 845-852 [cit. 2022-11-23]. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1016/S0016-5085(71)80083-5

IBRAHIM, S A a J P CARR, 2006. Viability of bifidobacteria in commercial yogurt products in North Carolina during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology* [online]. **59**(4), 272-277 [cit. 2023-02-04]. ISSN 1364-727X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1471-0307.2006.00282.x

IBRAHIM, S.A. a D.J. O'SULLIVAN, 2000. Use of Chemical Mutagenesis for the Isolation of Food Grade β -Galactosidase Overproducing Mutants of Bifidobacteria, Lactobacilli and Streptococcus thermophilus. *Journal of Dairy Science* [online]. **83**(5), 923-930 [cit. 2023-02-04]. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.S0022-0302(00)74955-1

IBRAHIM, Salam A., Awfa Y. ALAZZEH, Saddam S. AWAISHEH, Danfeng SONG, Abolghasem SHAHBAZI a Amer A. ABUGHAZALEH, 2010. Enhancement of α - and β -Galactosidase Activity in Lactobacillus reuteri by Different Metal Ions. *Biological Trace Element Research* [online]. **136**(1), 106-116 [cit. 2023-02-04]. ISSN 0163-4984. Dostupné z: doi:10.1007/s12011-009-8519-2

IBRAHIM, Salam A. a Rabin GYAWALI, 2013. Lactose Intolerance. In: PARK, Young W. a George F.W. HAENLEIN, ed. *Milk and Dairy Products in Human Nutrition* [online]. Oxford: John Wiley, s. 246-260 [cit. 2023-02-03]. ISBN 9781118534168. Dostupné z: doi:10.1002/9781118534168.ch12

ITAN, Yuval, Bryony L JONES, Catherine JE INGRAM, Dallas M SWALLOW a Mark G THOMAS, 2010. A worldwide correlation of lactase persistence phenotype and genotypes. *BMC Evolutionary Biology* [online]. **10**(1) [cit. 2023-02-20]. ISSN 1471-2148. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2148-10-36

JUSSILA, J., M. ISOKOSKI a Kari LAUNIALA, 1970. Prevalence of Lactose Malabsorption in a Finnish Rural Population. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* [online]. **5**(1), 49-56 [cit. 2022-11-23]. ISSN 0036-5521. Dostupné z: doi:10.1080/00365521.1970.12096557

KRZEWINSKI, F., C. BRASSART, F. GAVINI a S. BOUQUELET, 1996. Characterization of the Lactose Transport System in the Strain Bifidobacterium bifidum DSM 20082. *Current Microbiology* [online]. **32**(6), 301-307 [cit. 2023-04-17]. ISSN 0343-8651. Dostupné z: doi:10.1007/s002849900054

KURILSHIKOV, Alexander, Carolina MEDINA-GOMEZ, Rodrigo BACIGALUPE et al., 2021. Large-scale association analyses identify host factors influencing human gut microbiome composition. *Nature Genetics* [online]. **53**(2), 156-165 [cit. 2022-11-20]. ISSN 1061-4036. Dostupné z: doi:10.1038/s41588-020-00763-1

KWAK, Hae-Soo, 2014. *Nano- and Microencapsulation for Foods*. Sejong University, South Korea: Wiley, 432 s. ISBN 978-1-118-29233-4.

LADAS, S, J PAPANIKOS a G ARAPAKIS, 1982. Lactose malabsorption in Greek adults: correlation of small bowel transit time with the severity of lactose intolerance. *Gut* [online]. **23**(11), 968-973 [cit. 2022-11-23]. ISSN 0017-5749. Dostupné z: doi:10.1136/gut.23.11.968

LASSER, Robert B., John H. BOND a Michael D. LEVITT, 1975. The Role of Intestinal Gas in Functional Abdominal Pain. *New England Journal of Medicine* [online]. **293**(11), 524-526 [cit. 2022-11-23]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM197509112931103

LAW, David, Jeffrey CONKLIN a Mark PIMENTEL, 2010. Lactose Intolerance and the Role of the Lactose Breath Test. *American Journal of Gastroenterology* [online]. **105**(8), 1726-1728 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0002-9270. Dostupné z: doi:10.1038/ajg.2010.146

LAZO-VÉLEZ, M.A., S.O. SERNA-SALDÍVAR, M.F. ROSALES-MEDINA, M. TINOCO-ALVEAR a M. BRIONES-GARCÍA, 2018. Application of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* in food processing: a review. *Journal of Applied Microbiology* [online]. **125**(4), 943-951 [cit. 2022-11-21]. ISSN 13645072. Dostupné z: doi:10.1111/jam.14037

LEIS, Rosaura, María-José DE CASTRO, Carmela DE LAMAS, Rosaura PICÁNS a María L. COUCE, 2020. Effects of Prebiotic and Probiotic Supplementation on Lactase Deficiency and Lactose Intolerance: A Systematic Review of Controlled Trials. *Nutrients* [online]. **12**(5) [cit. 2023-02-04]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu12051487

LEVENTOGIANNIS, Konstantinos, Paraskevas GKOLFAKIS, Georgios SPITHAKIS, Aikaterini TSATALI, Aikaterini PISTIKI, Athanasios SIOULAS, Evangelos J. GIAMARELLOS-BOURBOULIS a Konstantinos TRIANTAFYLLOU, 2019. Effect of a Preparation of Four Probiotics on Symptoms of Patients with Irritable Bowel Syndrome: Association with Intestinal Bacterial Overgrowth. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* [online]. **11**(2), 627-634 [cit. 2022-11-21]. ISSN 1867-1306. Dostupné z: doi:10.1007/s12602-018-9401-3

LIEBERT, Anke, Saioa LÓPEZ, Bryony Leigh JONES et al., 2017. World-wide distributions of lactase persistence alleles and the complex effects of recombination and selection. *Human Genetics* [online]. **136**(11-12), 1445-1453 [cit. 2023-02-20]. ISSN 0340-6717. Dostupné z: doi:10.1007/s00439-017-1847-y

LODINOVÁ-ŽÁDNIKOVÁ, R. a U. SONNENBORN, 2004. Effect of Preventive Administration of a Nonpathogenic *Escherichia coli*/i Strain on the Colonization of the Intestine with Microbial Pathogens in Newborn Infants. *Neonatology* [online]. **71**(4), 224-232 [cit. 2023-02-20]. ISSN 1661-7800. Dostupné z: doi:10.1159/000244421

MÁJEKOVÁ, Hyacinta, Kiňová Sepová HANA, Bilková ANDREA a Čisárová BARBORA, 2015. Bile tolerance and its effect on antibiotic susceptibility of probiotic *Lactobacillus* candidates. *Folia Microbiologica* [online]. **60**(3), 253-257 [cit. 2023-04-20]. ISSN 0015-5632. Dostupné z: doi:10.1007/s12223-014-0365-8

MARCHESI, Julian R., Ian O'NEILL, Zoe SCHOFIELD a Lindsay J. HALL, 2017. Exploring the role of the microbiota member *Bifidobacterium* in modulating immune-linked diseases. *Emerging Topics in Life Sciences* [online]. **1**(4), 333-349 [cit. 2022-11-20]. ISSN 2397-8554. Dostupné z: doi:10.1042/ETLS20170058

MARTEAU, Philippe R, Michael de VRESE, Christophe J CELLIER a Jürgen SCHREZENMEIR, 2001. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. **73**(2), 430-436 [cit. 2023-02-04]. ISSN 0002-9165. Dostupné z: doi:10.1093/ajcn/73.2.430s

MASOUMI, Seyed Jalil, Davood MEHRABANI, Mehdi SABERIFIROOZI, Mohammad Reza FATTAHI, Fariba MORADI a Masoud NAJAFI, 2021. The effect of yogurt fortified with *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* sp. probiotic in patients with lactose

intolerance. *Food Science & Nutrition* [online]. 9(3), 1704-1711 [cit. 2023-04-20]. ISSN 2048-7177. Dostupné z: doi:10.1002/fsn3.2145

METZ, Geoffrey, Timothy J PETERS, David J.A JENKINS, Alvin NEWMAN a Laurence M BLENDIS, 1975. BREATH HYDROGEN AS A DIAGNOSTIC METHOD FOR HYPOLACTASIA. *The Lancet* [online]. **305**(7917), 1155-1157 [cit. 2022-11-29]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(75)93135-9

MICENKOVÁ, Lenka, Juraj BOSÁK, Stanislav SMATANA, Adam NOVOTNÝ, Eva BUDINSKÁ a David ŠMAJS, 2020. Administration of the Probiotic *Escherichia coli* Strain A0 34/86 Resulted in a Stable Colonization of the Human Intestine During the First Year of Life. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* [online]. **12**(2), 343-350 [cit. 2023-02-20]. ISSN 1867-1306. Dostupné z: doi:10.1007/s12602-019-09548-3

MISSELWITZ, Benjamin, Matthias BUTTER, Kristin VERBEKE a Mark R FOX, 2019. Update on lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and clinical management. *Gut* [online]. **68**(11), 2080-2091 [cit. 2022-11-28]. ISSN 0017-5749. Dostupné z: doi:10.1136/gutjnl-2019-318404

MISSELWITZ, Benjamin a Mark FOX, 2017. What is normal and abnormal in lactose digestion?. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology* [online]. **2**(10), 696-697 [cit. 2022-11-28]. ISSN 24681253. Dostupné z: doi:10.1016/S2468-1253(17)30180-2

MURRAY, Kathryn, Victoria WILKINSON-SMITH, Caroline HOAD et al., 2014. Differential Effects of FODMAPs (Fermentable Oligo-, Di-, Mono-Saccharides and Polyols) on Small and Large Intestinal Contents in Healthy Subjects Shown by MRI. *American Journal of Gastroenterology* [online]. **109**(1), 110-119 [cit. 2022-11-28]. ISSN 0002-9270. Dostupné z: doi:10.1038/ajg.2013.386

MUSTAPHA, A., S. R. HERTZLER a D. A. SAVAIANO, 1997. Lactose: Nutritional Significance. In: FOX, P. F., ed. *Advanced Dairy Chemistry Volume 3* [online]. Boston, MA: Springer US, s. 127-154 [cit. 2022-11-23]. ISBN 978-1-4757-4411-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4757-4409-5_4

MUSTAPHA, Azlin, Tianan JIANG a Dennis A. SAVAIANO, 1997. Improvement of Lactose Digestion by Humans Following Ingestion of Unfermented *Acidophilus* Milk: Influence of Bile Sensitivity, Lactose Transport, and Acid Tolerance of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Dairy Science* [online]. **80**(8), 1537-1545 [cit. 2023-02-04]. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.S0022-0302(97)76083-1

Mutaflor.com.au/product-details/mutaflor/, 2021. Mutaflor.com.au [online]. [cit. 2023-04-13]. Dostupné z: <https://www.mutaflor.com.au/product-details/mutaflor/>

NAMI, Yousef, Reza VASEGHI BAKHSHAYESH, Hossein MOHAMMADZADEH JALALY, Hajie LOTFI, Solat ESLAMI a Mohammad Amin HEJAZI, 2019. Probiotic Properties of *Enterococcus* Isolated From Artisanal Dairy Products. *Frontiers in Microbiology* [online]. **10** [cit. 2022-11-21]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2019.00300

NARESH KUMAR, Gattupalli a Gattupalli ARCHANA, 2021. Potential of *Escherichia coli* Probiotics for Improved Health and Disease Management. In: *Escherichia coli [Working Title]* [online]. IntechOpen [cit. 2023-02-20]. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.100380

NEWCOMER, Albert D., Douglas B. MCGILL, Paul J. THOMAS a Alan F. HOFMANN, 1975. Prospective Comparison of Indirect Methods for Detecting Lactase Deficiency. *New England Journal of Medicine* [online]. **293**(24), 1232-1236 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM197512112932405

NIAMAH, Alaa, 2017. Physicochemical and Microbial Characteristics of Yogurt with Added *Saccharomyces Boulardii*. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal* [online]. **5**(3), 300-307 [cit. 2022-11-21]. ISSN 2347467X. Dostupné z: doi:10.12944/CRNFSJ.5.3.15

NISHIJIMA, Suguru, Wataru SUDA, Kenshiro OSHIMA, Seok-Won KIM, Yuu HIROSE, Hidetoshi MORITA a Masahira HATTORI, 2016. The gut microbiome of healthy Japanese and its microbial and functional uniqueness. *DNA Research* [online]. **23**(2), 125-133 [cit. 2022-11-20]. ISSN 1340-2838. Dostupné z: doi:10.1093/dnares/dsw002

NUCERA, G., M. GABRIELLI, A. LUPASCU et al., 2005. Abnormal breath tests to lactose, fructose and sorbitol in irritable bowel syndrome may be explained by small intestinal bacterial overgrowth. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* [online]. **21**(11), 1391-1395 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0269-2813. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2036.2005.02493.x

O'TOOLE, Paul W., Julian R. MARCHESI a Colin HILL, 2017. Next-generation probiotics: the spectrum from probiotics to live biotherapeutics. *Nature Microbiology* [online]. **2**(5) [cit. 2022-11-20]. ISSN 2058-5276. Dostupné z: doi:10.1038/nmicrobiol.2017.57

OELSCHLAEGER, Tobias A., 2010. Mechanisms of probiotic actions – A review. *International Journal of Medical Microbiology* [online]. **300**(1), 57-62 [cit. 2022-11-28]. ISSN 14384221. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijmm.2009.08.005

OFFEI, Benjamin, Paul VANDECRUYS, Stijn DE GRAEVE, María R. FOULQUIÉ-MORENO a Johan M. THEVELEIN, 2019. Unique genetic basis of the distinct antibiotic potency of high acetic acid production in the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. *Genome Research* [online]. **29**(9), 1478-1494 [cit. 2022-11-21]. ISSN 1088-9051. Dostupné z: doi:10.1101/gr.243147.118

OHLAND, Christina L. a Wallace K. MACNAUGHTON, 2010. Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* [online]. **298**(6), 807-819 [cit. 2022-11-28]. ISSN 0193-1857. Dostupné z: doi:10.1152/ajpgi.00243.2009

OLIVER, Andrew, Alexander B. CHASE, Claudia WEIHE et al., 2021. High-Fiber, Whole-Food Dietary Intervention Alters the Human Gut Microbiome but Not Fecal Short-Chain Fatty Acids. *MSystems* [online]. **6**(2), 00115-21 [cit. 2022-11-20]. ISSN 2379-5077. Dostupné z: doi:10.1128/mSystems.00115-21

ONWULATA, C I, D R RAO a P VANKINENI, 1989. Relative efficiency of yogurt, sweet acidophilus milk, hydrolyzed-lactose milk, and a commercial lactase tablet in alleviating lactose maldigestion. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. **49**(6), 1233-1237 [cit. 2022-11-28]. ISSN 0002-9165. Dostupné z: doi:10.1093/ajcn/49.6.1233

ORLANDO, Antonella, Michele LINSALATA a Francesco RUSSO, 2016. Antiproliferative effects on colon adenocarcinoma cells induced by co-administration of vitamin K1 and

Lactobacillus rhamnosus GG. *International Journal of Oncology* [online]. **48**(6), 2629-2638 [cit. 2022-11-21]. ISSN 1019-6439. Dostupné z: doi:10.3892/ijo.2016.3463

PARKER, Tracy J., Jenny T. WOOLNER, Andrew T. PREVOST, Quita TUFFNELL, Maria SHORTHOUSE a John O. HUNTER, 2001. Irritable bowel syndrome: is the search for lactose intolerance justified?. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* [online]. **13**(3), 219-225 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0954-691X. Dostupné z: doi:10.1097/00042737-200103000-00001

PARTE, Aidan C., Joaquim SARDÀ CARBASSE, Jan P. MEIER-KOLTHOFF, Lorenz C. REIMER a Markus GÖKER, 2020. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* [online]. **70**(11), 5607-5612 [cit. 2022-11-21]. ISSN 1466-5026. Dostupné z: doi:10.1099/ijsem.0.004332

PENG, Mengfei, Puja PATEL, Vinod NAGARAJAN, Cassandra BERNHARDT, Michael CARRION a Debabrata BISWAS, 2019. Feasible Options to Control Colonization of Enteric Pathogens With Designed Synbiotics. In: *Dietary Interventions in Gastrointestinal Diseases* [online]. Elsevier, s. 135-149 [cit. 2022-11-21]. ISBN 9780128144688. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-814468-8.00011-9

PIMENTEL, Mark, Evelyn J. CHOW a Henry C. LIN, 2003. Normalization of lactulose breath testing correlates with symptom improvement in irritable bowel syndrome: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *The American Journal of Gastroenterology* [online]. **98**(2), 412-419 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0002-9270. Dostupné z: doi:10.1111/j.1572-0241.2003.07234.x

PIMENTEL, Mark, Yuthana KONG a Sandy PARK, 2003. Breath Testing To Evaluate Lactose Intolerance in Irritable Bowel Syndrome Correlates With Lactulose Testing and May Not Reflect True Lactose Malabsorption. *American Journal of Gastroenterology* [online]. **98**(12), 2700-2704 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0002-9270. Dostupné z: doi:10.1111/j.1572-0241.2003.08670.x

POKUSAEVA, Karina, Gerald F. FITZGERALD a Douwe VAN SINDEREN, 2011. Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria. *Genes & Nutrition* [online]. **6**(3), 285-306 [cit. 2023-04-20]. ISSN 1555-8932. Dostupné z: doi:10.1007/s12263-010-0206-6

RABOT, Sylvie, Joseph RAFTER, Ger T. RIJKERS, Bernhard WATZL a Jean-Michel ANTOINE, 2010. Guidance for Substantiating the Evidence for Beneficial Effects of Probiotics: Impact of Probiotics on Digestive System Metabolism. *The Journal of Nutrition* [online]. **140**(3), 677-689 [cit. 2023-02-04]. ISSN 1541-6100. Dostupné z: doi:10.3945/jn.109.113738

RAMIREZ-FARIAS, Carlett, Kathleen SLEZAK, Zoë FULLER, Alan DUNCAN, Grietje HOLTRUP a Petra LOUIS, 2009. Effect of inulin on the human gut microbiota: stimulation of Bifidobacterium adolescentis and Faecalibacterium prausnitzii. *British Journal of Nutrition* [online]. **101**(4), 541-550 [cit. 2022-11-20]. ISSN 0007-1145. Dostupné z: doi:10.1017/S0007114508019880

RAO, Damanna Ramkishan, Hollise BELLO, Ann P. WARREN a George E. BROWN, 1994. Prevalence of lactose maldigestion. *Digestive Diseases and Sciences* [online]. **39**(7), 1519-1524 [cit. 2022-11-23]. ISSN 0163-2116. Dostupné z: doi:10.1007/BF02088058

REID, Gregor, 2015. The growth potential for dairy probiotics. *International Dairy Journal* [online]. **49**, 16-22 [cit. 2022-11-21]. ISSN 09586946. Dostupné z: doi:10.1016/j.idairyj.2015.04.004

SAHI, T., 2009. Genetics and Epidemiology of Adult-type Hypolactasia. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* [online]. **29**(202), 7-20 [cit. 2022-11-23]. ISSN 0036-5521. Dostupné z: doi:10.3109/00365529409091740

SAHI, T., K. LAUNIALA a H. LAITINEN, 2010. Hypolactasia in a Fixed Cohort of Young Finnish Adults. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* [online]. **18**(7), 865-870 [cit. 2022-11-28]. ISSN 0036-5521. Dostupné z: doi:10.3109/00365528309182107

SAHI, Timo a Kari LAUNIALA, 1977. More Evidence for the Recessive Inheritance of Selective Adult Type Lactose Malabsorption. *Gastroenterology* [online]. **73**(2), 231-232 [cit. 2022-11-28]. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1016/S0016-5085(19)32193-6

SALVETTI, Elisa, Sandra TORRIANI a Giovanna E. FELIS, 2012. The Genus *Lactobacillus*: A Taxonomic Update. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* [online]. **4**(4), 217-226 [cit. 2022-11-21]. ISSN 1867-1306. Dostupné z: doi:10.1007/s12602-012-9117-8

SARKAR, Amrita a Santanu MANDAL, 2016. Bifidobacteria—Insight into clinical outcomes and mechanisms of its probiotic action. *Microbiological Research* [online]. **192**, 159-171 [cit. 2022-11-20]. ISSN 09445013. Dostupné z: doi:10.1016/j.micres.2016.07.001

SAVILAHTI, E, K LAUNIALA a P KUITUNEN, 1983. Congenital lactase deficiency. A clinical study on 16 patients. *Archives of Disease in Childhood* [online]. **58**(4), 246-252 [cit. 2022-11-23]. ISSN 0003-9888. Dostupné z: doi:10.1136/adc.58.4.246

Referanscorp.com/component/virtuemart/dərman-vasitələri/colinfant-newborn?Itemid=0, 2023. Referanscorp.com [online]. [cit. 2023-04-13]. Dostupné z: <https://referanscorp.com/component/virtuemart/dərman-vasitələri/colinfant-newborn?Itemid=0>

SÉGUREL, Laure a Céline BON, 2017. On the Evolution of Lactase Persistence in Humans. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* [online]. **18**(1), 297-319 [cit. 2023-02-20]. ISSN 1527-8204. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-genom-091416-035340

SHARMA, Anshul, 2019. Importance of Probiotics in Cancer Prevention and Treatment. In: *Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry* [online]. Elsevier, s. 33-45 [cit. 2022-11-20]. ISBN 9780128163283. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816328-3.00004-0

STORHAUG, Christian Løvold, Svein Kjetil FOSSE a Lars T FADNES, 2017. Country, regional, and global estimates for lactose malabsorption in adults: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology* [online]. **2**(10), 738-746 [cit. 2023-02-20]. ISSN 24681253. Dostupné z: doi:10.1016/S2468-1253(17)30154-1

SUAREZ, F L, D SAVAIANO, P ARBISI a M D LEVITT, 1997a. Tolerance to the daily ingestion of two cups of milk by individuals claiming lactose intolerance. *The American Journal of Clinical*

Nutrition [online]. **65**(5), 1502-1506 [cit. 2022-11-23]. ISSN 0002-9165. Dostupné z: doi:10.1093/ajcn/65.5.1502

SUAREZ, F. L., D. A. SAVAIANO a M. D. LEVITT, 1995. Review article The treatment of lactose intolerance. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* [online]. **9**(6), 589-597 [cit. 2022-11-23]. ISSN 02692813. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2036.1995.tb00427.x

SUAREZ, Fabrizis a Michael LEVITT, 1997b. Lactose malabsorption and diarrhea. *Nutrition* [online]. **13**(1), 53-54 [cit. 2022-11-28]. ISSN 08999007. Dostupné z: doi:10.1016/S0899-9007(96)00294-8

TAMANG, Jyoti P., Koichi WATANABE a Wilhelm H. HOLZAPFEL, 2016. Review: Diversity of Microorganisms in Global Fermented Foods and Beverages. *Frontiers in Microbiology* [online]. **7** [cit. 2022-11-21]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2016.00377

TANG, Chao a Zhaoxin LU, 2019. Health promoting activities of probiotics. *Journal of Food Biochemistry* [online]. **43**(8) [cit. 2022-11-23]. ISSN 0145-8884. Dostupné z: doi:10.1111/jfbc.12944

TÉLESSY, István G., 2019. Nutraceuticals. In: *The Role of Functional Food Security in Global Health* [online]. Elsevier, s. 409-421 [cit. 2022-11-14]. ISBN 9780128131480. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-813148-0.00024-4

TENAILLON, Olivier, David SKURNIK, Bertrand PICARD a Erick DENAMUR, 2010. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* [online]. **8**(3), 207-217 [cit. 2022-11-21]. ISSN 1740-1526. Dostupné z: doi:10.1038/nrmicro2298

TOMICIC, Zorica, Radmilo COLOVIC, Ivana CABARKAPA, Djuro VUKMIROVIC, Olivera DJURAGIC a Ruzica TOMICIC, 2016. Beneficial properties of probiotic yeast *Saccharomyces boulardii*. *Food and Feed Research* [online]. **43**(2), 103-110 [cit. 2022-11-21]. ISSN 2217-5369. Dostupné z: doi:10.5937/FFR1602103T

TURRONI, Francesca, Clelia PEANO, Daniel A. PASS et al., 2012. Diversity of Bifidobacteria within the Infant Gut Microbiota. *PLoS ONE* [online]. **7**(5) [cit. 2022-11-20]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0036957

VENUGOPALAN, Veena, Kimberly A. SHRINER a Annie WONG-BERINGER, 2010. Regulatory Oversight and Safety of Probiotic Use. *Emerging Infectious Diseases* [online]. **16**(11), 1661-1665 [cit. 2022-11-21]. ISSN 1080-6040. Dostupné z: doi:10.3201/eid1611.100574

VERNIA, P, 2001. Lactose malabsorption, irritable bowel syndrome and self-reported milk intolerance. *Digestive and Liver Disease* [online]. **33**(3), 234-239 [cit. 2022-11-29]. ISSN 15908658. Dostupné z: doi:10.1016/S1590-8658(01)80713-1

VESA, T H, R A KORPELA a T SAHI, 1996. Tolerance to small amounts of lactose in lactose maldigesters. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. **64**(2), 197-201 [cit. 2022-11-23]. ISSN 0002-9165. Dostupné z: doi:10.1093/ajcn/64.2.197

VESA, Tuula H., Philippe MARTEAU a Riitta KORPELA, 2000. Lactose Intolerance. *Journal of the American College of Nutrition* [online]. **19**(2), 165-175 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0731-5724. Dostupné z: doi:10.1080/07315724.2000.10718086

WANG, Guangmeng a Dongjin FENG, 2019. Therapeutic effect of *Saccharomyces boulardii* combined with *Bifidobacterium* and on cellular immune function in children with acute diarrhea. *Experimental and Therapeutic Medicine* [online]. [cit. 2022-11-21]. ISSN 1792-0981. Dostupné z: doi:10.3892/etm.2019.7836

WANG, Miao, Zeqian GAO, Yongguang ZHANG a Li PAN, 2016. Lactic acid bacteria as mucosal delivery vehicles: a realistic therapeutic option. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. **100**(13), 5691-5701 [cit. 2022-11-21]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-016-7557-x

WELSH, J D a W J GRIFFITHS, 1980. Breath hydrogen test after oral lactose in postgastrectomy patients. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. **33**(11), 2324-2327 [cit. 2022-11-28]. ISSN 0002-9165. Dostupné z: doi:10.1093/ajcn/33.11.2324

ZADRO, Cristina, Savina DIPRESA, Giovanni ZORZETTI, Annalisa PEDIRODA a Francesco MENEGONI, 2017. Lactase non-persistent genotype distribution in Italy. *Minerva Gastroenterology* [online]. **63**(3) [cit. 2023-02-20]. ISSN 27245985. Dostupné z: doi:10.23736/S1121-421X.16.02355-2

ZHAO, J., M. FOX, Y. CONG, H. CHU, Y. SHANK, M. FRIED a N. DAI, 2010. Lactose intolerance in patients with chronic functional diarrhea: the role of small intestinal bacterial overgrowth. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* [online]. [cit. 2022-11-28]. ISSN 02692813. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2036.2010.04252.x

ZHONG, Li, 2014. Emerging roles of lactic acid bacteria in protection against colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology* [online]. **20**(24) [cit. 2022-11-20]. ISSN 1007-9327. Dostupné z: doi:10.3748/wjg.v20.i24.7878