

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Růst střevních bakterií v enterální výživě**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Monika <sup>TM</sup> Šemberková**

**Vedoucí práce: prof. Ing. Vojtěch Rada, CSc.**

**Konzultant práce: Ing. <sup>TM</sup> Arka Musilová, Ph.D.**

© 2015 ZU v Praze

### **Prohlášení**

Prohláuji, že svou bakalářskou práci "Různé druhy bakterií v enterální výživě" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informací, 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 \_\_\_\_\_

### **Pod kování**

Ráda bych touto cestou pod kovala prof. Ing. Vojt chu Radovi, CSc. za odborné vedení bakalá ské práce, vst ícnost, uflite né rady i materiály. Dále bych cht la pod kovat Ing. <sup>TM</sup>arce Musilové, Ph.D. za ochotu a mnofství konzultací, které mi poskytla.

## Růst st evních bakterií v enterální výživě

### Souhrn

Cílem této bakalářské práce bylo testovat růst st evních bakterií v enterální výživě. Hypotézou bylo, že enterální výživa s obsahem prebiotik bude podporovat růst probiotických bakterií, zatímco potenciálně škodlivé mikroorganismy (klostridie) budou potlačeny.

St evní mikrobiota má významné úinky na anatomický, fyziologický a imunologický vývoj hostitele. Je mikrobiální bariérou proti patogenům a potenciálním patogenům. Probiotika jsou živé mikroorganismy, které mají prospěšný vliv na hostitele. Mezi probiotické mikroorganismy patří bakterie rodu *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Streptococcus* a kvasinka *Saccharomyces boulardii*. Prebiotika jsou doplňky stravy nebo potraviny, které obsahují nestravitelnou složku. Tyto látky podporují růst zdravých prospěšných bakterií v tlustém st evě. Zejména se jedná o oligosacharidy. Vyskytují se v mateřském mléce, ale i mnoha rostlinách (čekanka, topinambur a další). Enterální výživa je výživa podávaná pacientům, kteří nejsou schopni přijímat běžnou potravu, tedy nejsou schopni pokrýt nutriční požadavky organismu. Užívání tekutých přípravků ústy se označuje jako tzv. sipping. Používá se například u Crohnovy choroby, což je gastrointestinální porucha postihující tenké nebo tlusté st evy.

Praktické stanovení růstu bakterií bylo prováděno v mikrotitrační destičce, do 90 µl enterální výživy bylo napipetováno 10 µl bakterií (cca 10<sup>3</sup> KTJ). Mikrotitrační destička byla anaerobně kultivována po dobu 24 hodin při teplotě 37 °C. Po 24 hodinách následovalo zaočkování do Petriho misky s agarom Wilkins-Chalgren. V mikrotitrační destičce bylo změřeno pH, množství laktátu. Petriho misky byly kultivovány anaerobně v termostatu po dobu 48 hodin při teplotě 37 °C. Následně byly spočítány počet kolonií a výsledky byly statisticky vyhodnoceny. Jako kontrola růstu bakterií byl použit Wilkins-Chalgren bujón se sójovým peptonem.

Bylo testováno 7 kmenů bifidobakterií a 7 kmenů klostridií na 7 enterálních výživách. Kmeny zvířecího původu (*Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* 1 a 2) vykazovaly nejvyšší růst ve Fresubinuokoláda (4,15 log KTJ/g), nejvyšší růst v Nutridrinku Compact (6,26 log KTJ/g). Kmeny lidského původu (*Bifidobacterium bifidum* a *longum*) vykazovaly nejvyšší růst v Nutridrinku Compact (6,02 log KTJ/g), nejvyšší růst ve Fresubinuokoláda (7,91 log KTJ/g). Obecně lze říci, že kmeny zvířecího původu (*Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* 1 a 2) rostly v enterálních výživách stejně jako kmeny lidské (*Bifidobacterium bifidum* a *longum*). Klostridie lidského původu rostly nejméně v Nutridrinku Compact (7,87 log KTJ/g), nejvíce v Nutridrinku Vanilka (8,26 log KTJ/g).

**Klíčová slova:** enterální výživa, st evní bakterie, bifidobakterie, probiotika, prebiotika

## Growth of bacteria in enteral feeding

### Summary

The aim of this bachelor's thesis was to test the growth of intestinal bacteria in enteral feeding. The hypothesis was that enteral nutrition containing prebiotics will support the growth of probiotics bacteria while potentially harmful microorganisms (clostridia) will be suppressed.

Intestinal microbiota has significant effects on the anatomical, physiological and immunological development of the host. It is microbiological barrier against pathogens and potentially pathogens. Probiotics are live microorganisms, they have beneficial effect on the host. Probiotics microorganisms are bacteria of genera *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Streptococcus* and yeast *Saccharomyces boulardii*. Prebiotics are food supplements or food that contain indigestible components. These substances support the growth of beneficial bacteria in the colon. Oligosaccharides are presented in human milk or plants (for example chicory or Jerusalem artichoke). Enteral feeding is nutrition administered to patients who are unable to receive normal food. Used in the treatment of Crohn's disease, it is gastrointestinal defect which affects small intestine or colon.

Practical determination of bacterial growth was carried out using microtitre plate. To the microtiter plate was pipetted 90 µl of enteral feeding and 10 µl of bacteria (approx. 10<sup>3</sup> CFU). The microtiter plate was cultivated at 37 °C for 24 hours anaerobically. After 24 hours were inoculated to the Petri dishes containing agar Wilkins-Chalgren. In the microtiter plate was measured pH and lactate concentration. Petri dishes were cultivated anaerobically in anaerobic jar at 37 °C for 48 hours. After 48 hours were counted number of colonies and the results were statistically analyzed. Wilkins-Chalgren broth with soya peptone was used as a control medium.

Seven strains of *Bifidobacteria* and 7 strains of *Clostridia* in the 7 enteral feedings were tested. The strains of animal (*Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* 1 and 2) had the lowest growth in Fresubinu Chocolate (4,15 log CFU/g) and the highest growth in Nutridrink Compact (6,26 log CFU/g). The strains of human bifidobacteria (*Bifidobacterium bifidum* and *longum*) had the lowest growth in Nutridrink Compact (6,02 log CFU/g) and the highest growth in Fresubin chocolate (7,91 log CFU/g). The strains of human *Clostridia* had the lowest growth in Nutridrink Compact (7,87 log CFU/g) and the highest growth in Nutridrink Vanilla (8,26 log CFU/g). The strains of animal origin (*Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* 1 and 2) had worse growth than the strains of human origin (*Bifidobacterium bifidum* and *B. longum*).

**Keywords:** enteral feeding, intestinal bacteria, bifidobacteria, probiotics, prebiotics

## OBSAH

1	ÚVOD.....	8
2	CÍL A HYPOTÉZA.....	9
3	LITERÁRNÍ REFERENCE.....	10
3.1	Stevní mikrobiota.....	10
3.1.1	Definice a funkce.....	10
3.1.2	Historie.....	10
3.1.3	Druhy.....	10
3.1.4	Metabolismus.....	12
3.1.5	Vývoj stevní mikrobioty.....	12
3.2	Probiotika.....	13
3.2.1	Definice.....	13
3.2.2	Historie.....	13
3.2.3	Probiotické mikroorganismy.....	14
3.2.3.1	Příklady probiotických mikroorganismů.....	15
3.2.3.2	Mléčné kvašení.....	17
3.2.4	Formy.....	18
3.2.5	Účinky.....	19
3.3	Prebiotika.....	19
3.3.1	Definice a historie.....	19
3.3.2	Oligosacharidy.....	19
3.3.2.1	Příklady oligosacharidů.....	20
3.3.3	Mateřské mléko.....	22
3.3.4	Účinky prebiotik.....	23
3.4	Výživa.....	23
3.4.1	Druhy.....	25
3.4.2	Enterální výživa.....	26

3.4.2.1	Definice.....	26
3.4.2.2	Historie.....	26
3.4.2.3	Indikace.....	26
3.4.2.4	Formy a aplikace .....	27
3.4.2.5	Příklady přípravků enterální výživy .....	28
3.4.2.6	Vliv na střevní mikrobiotu .....	29
3.4.2.7	Crohnova choroba .....	29
4	MATERIÁL A METODY .....	31
4.1	Poufité kultury .....	31
4.2	Poufítá media.....	32
4.3	Poufité enterální výživy .....	33
4.4	Testování růstu střevních bakterií v enterální výživě .....	34
5	VÝSLEDKY .....	36
5.1	Bifidobacterium .....	36
5.2	Clostridium .....	40
5.3	Porovnání růstu bakterií v enterálních výživách.....	42
5.4	Porovnání růstu bakterií v enterálních výživách a bujónu .....	43
5.5	Porovnání růstu bakterií ve Wilkins-Chalgren bujónu se sójovým peptonem .....	44
5.6	Grafické znázornění průměrného růstu bakterií .....	44
6	DISKUZE.....	45
7	ZÁVĚR .....	48
8	SEZNAM ZKRATEK .....	49
9	ZDROJE.....	50
10	PŘÍLOHY .....	57

# 1 ÚVOD

Stevní mikrobiota má významné úinky na vývoj hostitele. Stimuluje imunitní systém a tím brání kolonizaci exogenními patogeny. Ve stev se nachází  $10^{14}$  mikroorganismů. Z toho 30 % všech bakterií tvoří rod *Bacteroides*. Hlavním zdrojem mikroorganismů je pro dítě matka. Děti porozené císařským řezem mají oproti normální kolonizaci komenzálními kmeny bakterií. Složení mikrobioty ovlivňuje věk, strava, hormonální stav, osobní hygiena, zdravotní stav.

Probiotika jsou živé mikroorganismy, které mají prospěšný vliv na hostitele. Hlavním úkolem je udržení normální (zdravé) stevní mikrobioty, ochrana proti infekcím, zmírnění intolerance na laktosu a stimulace imunitního systému. Mezi probiotické mikroorganismy patří bakterie rodu *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Streptococcus* a kvasinka *Saccharomyces boulardii*. Používají se do mléčných výrobků, jako jsou jogurty, jogurtová mléka nebo kefíry. Mohou se také přijímat jako doplňky stravy, ve formě kapslí nebo tablet.

Prebiotika jsou doplňky stravy nebo potraviny, které obsahují nestravitelnou složku potravin. Selektivně stimulují přírůstek a aktivitu probiotických bakterií. V přirozené formě jsou v mateřském mléce, rostlinách, jako je čekanka, topinambur, cibule, česnek nebo banány. Výrobky obsahující prebiotika i probiotika se nazývají synbiotika. Konzumace prebiotik pomáhá jako prevence proti rakovině tlustého střeva.

Hlavní úlohou výživy je poskytnout dostatek živin, které splní požadavky na vyváženou stravu, která také dává spotřebiteli pocit spokojenosti a pohody. Základní složky potravy jsou sacharidy, bílkoviny, tuky, vitamíny a minerální látky. Optimální poměr sacharidů, bílkovin a tuků v potravě by měl být 5 : 3 : 2. Výživa pro pacienty, kteří trpí nedostatkem živin je enterální nebo parenterální. Enterální výživa je užívaná ústy nebo sondou do žaludku. Parenterální výživa se aplikuje přímo do žíly. Enterální výživa, tzv. sipping je určena pro pacienty trpící Crohnovou chorobou, kterou se prodává pod názvy Nutridrink nebo Fresubin. Crohnova choroba je gastrointestinální porucha, která postihuje tenké nebo tlusté střevo. Typickým projevem je střevní zácpa s bolestivým stěhováním a zarudlým lemem. Nemoc je typická střídáním období, stádia remise a s exacerbacemi.



## 2 CÍL A HYPOTÉZA

Cílem bakalářské práce je testovat růst střevních bakterií (bifidobaterií a klostridií) v enterální výživě. Byly testovány následující bakterie: *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* a *Clostridium butyricum*. K testování byly použity tyto sterilní enterální výživy: NutriniDrink Neutral Multi Fibre, Fresubin Original Drinkokoláda, Fresubin Neutral, Nutridrink Compact, Nutridrink Vanilka, Nutridrink Multi Fibre Jahoda, Fresubin Energy Fibre Drink Jahoda. Je známo, že u pacientů na enterální výživě, která se používá například u Crohnovy choroby, dochází ke zlepšení zdravotního stavu. Mechanismus účinku však není znám.

Hypotézou je, že enterální výživa s obsahem prebiotik bude podporovat růst probiotických bakterií (bifidobakterií), zatímco potenciálně škodlivé mikroorganismy (klostridie) budou potlačeny.

## 3 LITERÁRNÍ REFERENCE

### 3.1 St evní mikrobiota

#### 3.1.1 Definice a funkce

Mikroorganismy, které jsou ve zdravém st ev , nazýváme mikrobiotou fyziologickou (rezidentní). Opa ným p ípadem je mikrobiota importovaná (komezální) (Fri , 2005). P írozená mikrobiota má významné ú inký na anatomický, fyziologický a imunologický vývoj hostitele. Stimuluje imunitní systém a tím brání kolonizaci exogenními patogeny (Berg, 1996).

Hlavní funkce st evní mikrobioty:

- mikrobiologická bariéra proti patogen m a potenciálních patogen ,
- tvorba produkt mikroflóry a jejich vlivy na prokrvení st evní mukózy a motility,
- stimulace imunitního st evního systému,
- redukce bakteriální translokace,
- produkce vitamín (Zbo il et al., 2005).

#### 3.1.2 Historie

Po átek výzkum spojených se st evní mikrobiotou nastal ve druhé polovin 19. století. Významný podíl na výzkumu st evní mikrobioty mají Robert Koch, Louise Pasteur a Theodor Escherich. Louise Pasteur objevil p vodce n kterých nemocí, p ípravoval flivné p dy pro p stování mikroorganism . Ve svých výzkumech zjistil, že je možné oslabit mikroorganismy a vyuffít je k ochran p ed onemocn ním, vyvinul tak o kování proti vzteclin . Robert Koch položil základy lékařské mikrobiologie. Objevil p vodce nemocí, sn ti slezinné, tuberkulózy a cholery. Theodor Escherich v roce 1885 popsal *Escherichii coli*, cofl bývá považováno za po átek studování fyziologie trávicího traktu (Zbo il et al., 2005).

#### 3.1.3 Druhy

Ve st ev m fléme najít více než 400 kmen , jejich celkový počet je  $10^{14}$  (Fri , 2005). St evní mikrobiota je komplexní ekosystém, který obsahuje anaerobní i aerobní bakterie, kvasinky, plísni i viry. Mezi nej ast j-í bakterie pat í rod *Bacteroides* (30 % všech bakterií). Dále

se zde vyskytují rody *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*. Z kvasinek rod *Saccharomyces* a *Candida*.

Všechny mikroorganismy slouží k ochraně organismu před patogeny, účastní se metabolických dějů v organismu. Každá část trávicího traktu (fládek, tenké střevo, tlusté střevo, konečník) obsahuje rozdílný počet mikroorganismů. Regulaci střevní mikrobioty ovlivňují sliny, fládeční kyseliny, pankreatická šťáva, ale i motilita střeva (Lata et Juránková, 2011).

Některé mikroorganismy, jako například rody *Candida*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, patří mezi příležitostné patogeny, při jejich přemnožení může dojít k oportunní infekci (Zbořil et al., 2005).

V **tabulce 1** jsou rozděleny bakterie podle výskytu v trávicím traktu. Nejvíce bakterií se vyskytuje v části kolon.

**Tabulka 1: Hlavní osídlení částí trávicího traktu (Zbořil et al., 2005)**

<b>fládek a duodenum</b>	<b>jejunum a ileum</b>	<b>kolon</b>
laktobacily	laktobacily	bakteroidy
streptokoky	koliformní bakterie	bifidobakterie
kvasinky	streptokoky	streptokoky
	bakteroidy	eubakterie
	bifidobakterie	fusobakterie
	fusobakterie	koliformní bakterie
		klostridie
		veillonelly
		laktobacily
		proteus
		stafylokoky
		pseudomonády
		kvasinky a plísně

### 3.1.4 Metabolismus

Ve stvech m fleme najít bakterie hnilobné, ale i kvasné. Při katabolismu sacharid a protein v tlustém st ev , vznikají jako metabolity t kavé mastné kyseliny, acetát, propionát a butyrát. Při trávení protein vznikají také t kavé mastné kyseliny, dále pak aminy, fenoly, thioly, indoly, oxid uhli itý, vodík a amoniak. V t-ina z nich má toxické vlastnosti. Oxid uhli itý reaguje s vodíkem za vzniku metanu. Redukcí síran vzniká sirovodík (Macfarlane and Macfarlane, 2012).

### 3.1.5 Vývoj st evní mikrobioty

Jiří v roce 1905 upozornil Tissier na rozdíly ve výskytu bifidobakterií u d tí kojených a nekojených. Hlavním zdrojem st evních mikroorganism je pro dít matka (Zbo il et al., 2005). V dob porodu je gastrointestinální trakt sterilní, velmi rychle dochází k jeho osídlení. Vliv na bakteriální kolonizaci má druh porodu, dále pak potrava (Sýkora et al., 2006). Novorozenci po porodu císa ským ezem mají opofd nou kolonizaci komenzálními kmeny nefl d tí porozené p írozen (Thomas and Greer, 2010).

Slofení st evní mikrobioty se m ní do 1. roku flivota, poté dochází k ustálení. U star-ích d tí a dosp lých lidí je p íblifln stejná. Výfliva, st evní mikrobiota, setkání s potenciálními infek ními patogeny moduluje adaptivní imunitu. Vliv má i genotyp dít te (Yuan, 2004).

Slofení mikrobioty ovliv uje mnoho faktor , jako jsou v k, strava, hormonální stav organismu, osobní hygiena, významný vliv má zdravotní stav. Při lé b n kterých onemocn ní pomocí antibiotik, dochází k rychlé a významné zm n po tu st evních mikroorganism . Naopak po et rezistentních kmen bakterií (*Enterococcus*, *Pseudomonas*) a plísni výrazn roste. Patogenní *Clostridium difficile* se ve stvech rychle mnoflí, což vede k patologickým stav m, které se projevuje bu jako pr jem nebo jako enterokolitida (Milenkovi , 2007).

Grönlund et al. (1999) porovnávali kolonizaci st evní mikrobioty u d tí porozených normáln a císa ským ezem. D tí porozené císa ským ezem m lí opofd nou kolonizaci st evními mikroorganismy. Afl po m síci a 10 dnech byli kolonizováni laktobacily a bifidobakteriemi, mén ásto jsou kolonizováni *Bacteroides fragilis*. Studie ukazuje, fl primární mikrobiota m fl být naru-ena afl po dobu 6 m síc po porodu.

Rada et al. (2006) testovali r st klostridií u d tí, které mají bifidobakterie, u nich klostridie nerostly. U d tí, které bifidobakterie nemají, rostly klostridie v po tu 8,54 log KTJ/g. Metodou FISH bylo zji-t no, že se jedná o *Clostridium butyricum*.

Ve stá í je typický úbytek bifidobakterií a zvý-ení po tu grampozitivních anaerobních bakterií (Zbo il et al., 2005).

## **3.2 Probiotika**

### **3.2.1 Definice**

Slovo probiotika znamená z e tiny špro flivotõ. Fullerova definice z roku 1989 íká: šProbiotika jsou flivé mikrobiální dopl ky krmiva, které p ízniv ovliv ují st evní mikrobiální rovnováhu hostiteleõ (Fuller, 1992).

Probiotika jsou flivé mikroorganismy, které mají prosp -ný vliv na hostitele. Zlep-ují st evní mikrobiální rovnováhu. Používají se terapeuticky, proti pr jmu, pro zmírn ní intolerance na laktosu, napomáhají modulovat imunitu a snižují cholesterol (Kaur et al., 2002).

Hlavním úkolem probiotik je udržení normální (zdravé) st evní mikrobioty, ochrana proti infekcím, zmírn ní intolerance na laktosu a stimulace imunitního systému. Probiotické mikroorganismy jsou producenti vitamín , ze skupiny B, ale také vitamínu K. Kmeny, které mají prokázané p íznivé ú inky, mohou být konzumovány ve vysokém po tu (Holzapfer and Schillinger, 2002).

Probiotika jsou ve form dopl k stravy nebo jako potraviny, které obsahují flivé mikroorganismy zp sobující zm ny v mikrobiot hostitele (Thomas and Greer, 2010).

### **3.2.2 Historie**

Ruský mikrobiolog Ilja Ilji Me nikov je díky své koncepci antibiõzy považován za zakladatele nauky o probiotikách. Podstatou mikrobiální interferen ní terapie je podávání kmen komezálních mikroorganism ke zm n a stabilizaci rezidentní mikrobioty (Fri , 2005). I. I. Me nikov (1907) v jeho šoptimistické studii o prodlufování v kuõ poukazuje na p íznivé ú inky bakterií z jogurtu na lidské zdraví, cofl m lo být d vodem dlouhov kosti

lidí na Balkán . Jogurtové bakterie potla ovaly r st hnilobných bakterií. V roce 1908 získal Nobelovu cenu za medicínu, za výzkum imunitního systému.

Termín probiotika poprvé pouřili Lilly a Stilwell v roce 1965, testovali r st prvok , p i emfl zjistili, že látka produkovaná jedním prvokem ovliv uje prvoka druhého. Toto za ali porovnávat s antibiotiky.

Parker v roce 1974 pouřil termín probiotika ve vztahu mezi mikroorganismy a zví aty, lidmi (Hamilton-Miller et al., 2003).

### 3.2.3 Probiotické mikroorganismy

Probiotické organismy jsou p edev-ím bakterie rod : *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, nepatogenní kmeny *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Streptococcus*. Pouřívají se i kvasinky *Saccharomyces boulardii*. Nejvíce pouřívaným laktobacilem je *Lactobacillus casei* spp. *rhamnosus*, ozna uje se *Lactobacillus* GG (Fric, 2007).

V sou asné dob jsou nejlépe prozkoumané a nejvíce pouřívané bakterie rod *Lactobacillus* spp. a *Bifidobacterium* spp. (Rolfe, 2000).

Aby mohl být mikroorganismus ozna ován jako probiotikum, musí být prokázána jeho úinnost a bezpečnost.

Požadavky na probiotika jsou:

- podrobná identifikace a typizace,
- řádné patologické vlastnosti,
- odolnost v í řalude ním kyselinám a flu í,
- schopnost kolonizace tra níku,
- adherence ke st evnímu epitelu,
- p íznivý ú inek na zdravotní stav lov ka,
- aplikace v řivém stavu.

Vlastnosti probiotik jsou:

- kompetice s patogeny o epiteliální adhezi,
- tvorba bakteriocidních a bakteriostatických peptid ,

- regulace funkce stěvních bariér,
- modulace funkce stěvních bariér a dendritických buněk,
- ovládnutí lokální a systémové imunity,
- zábrana přístupu patogenů,
- stimulace eliminace toxinů,
- tvorba steroidů z cholesterolu,
- ovlivnění sekrece hlenu, vstřebávání, motility a průtoku krve střevem (Friess, 2005).

### 3.2.3.1 Příklady probiotických mikroorganismů

#### Rod *Bifidobacterium*

Francouzský pediatr Henry Tissier (1900) izoloval bakterie z dětské stolice, označil je jako *Bacillus bifidus communis*. Winslow (1917) zařadil *Bacillus bifidus* mezi *Lactobacillaceae*. V roce 1920 byl *Bacillus bifidus* změněn na *Lactobacillus bifidus*. Od roku 1963 se používá rodové jméno *Bifidobacterium* (Biavati and Mattarelli, 2006). Aktuálně zahrnuje rod *Bifidobacterium* 52 druhů (Leibniz Institute-DSMZ, 2015).

Bifidobakterie jsou grampozitivní, anaerobní, nesporulující tyčinky, které mají nepravidelný tvar. Patří mezi prokaryota. Plošně se vyskytují v gastrointestinálním traktu a pochvě. Teplotní optimum je 35-39 °C a pH 6,5-7. Cukry kvašou na kyselinu octovou a mléčnou, v poměru 3 : 2. Jako probiotika se nejčastěji používají: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum* a *Bifidobacterium lactis* (Biavati and Mattarelli, 2006).

#### Rod *Lactobacillus*

Laktobacily jsou grampozitivní, mikroaerofilní, nesporulující tyčinky. Cukry kvašou na kyselinu mléčnou, jako hlavní nebo jediný produkt. Rod *Lactobacillus* zahrnuje 214 druhů (Leibniz Institute-DSMZ, 2015).

Glukosu využívají jako zdroj uhlíku a přeměňují ji na jeden nebo více produktů. U homofermentativních bakterií tvoří více než 85 % produktů kvašení kyselina mléčná, produkty heterofermentativních bakterií jsou kyselina mléčná, oxid uhličitý, etanol, kyselina octová. Laktobacily se vyskytují na rostlinách, materiálu rostlinného původu, ve kvašených nebo zkažených potravinách, v trávicím traktu živočichů. Jejich důležitá role je při výrobě

potravin, které vyřadují mléčné kvašení, zejména mléčné kysané výrobky, kysaná zelenina, fermentované masné produkty, v pekárenství i kynutí těsto (Tannock, 2004).

Jako probiotika se nejčastěji používají: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri* (Ouwehand et al., 2002).

### **Saccharomyces boulardii**

*Saccharomyces boulardii* je nepatogenní kvasinka, která byla vyizolována z ovoce lišic v Indonésii. Patří mezi eukaryota. Její probiotický účinek byl dokázán dvojitě zaslepenou klinickou studií (Sazawal et al., 2006). Používá se k prevenci a léčbě průjmů, je rezistentní na antibiotika. Teplotní optimum je 37 °C (Czerucka et al., 2007).

### **Escherichia coli Nissle 1917**

*Escherichia coli* je gramnegativní, anaerobní, nesporulující, tyčinkovitá bakterie. Kmeny *E. coli* jsou nepatogenní i velmi patogenní. Patří do čeledi *Enterobacteriaceae*.

Kmen Nissle 1917 byl vyizolován Alfrédem Nisslem v roce 1917 ze stolice vojáka bojujícího v balkánské válce, který jako jediný odolával úplavici. Na rozdíl od svých kamarádů netrpěl průjmů (Nissle, 1918). Po úspěšné úspěšné léčbě spojené s mnoha cestami. Později se zjistila jeho účinnost při léčbě chronických střevních zánech (Schultz, 2008). Probiotikum se prodává pod názvem Mutaflor®.

### **Rod Streptococcus**

Streptokoky jsou grampozitivní koky, patogenní i nepatogenní, fakultativně anaerobní koky, které tvoří dlouhé řetězky. Fakultativně anaerobní, nesporulující bakterie. Optimálně roste při teplotách 37–42 °C. *Streptococcus thermophilus* se vyskytuje v gastrointestinálním traktu člověka a zvířat, ve slinách a v tepelně ošetřeném mléce. Jako probiotikum se používá nepatogenní kmen *Streptococcus salivarius*, který by mohl být využit i v zubním lékařství, jako ochrana před zubním kazem (Wescombe et al., 2009). *Streptococcus thermophilus* je využívám v mlékárenském průmyslu, jako kultura při výrobě jogurtu a sýr (Bolotin, 2004).



### **Lactococcus lactis**

*Lactococcus lactis* je grampozitivní, nesporulující kok, vyskytuje se jako kok, diplokok nebo v tetádách. Původně byl označován jako *Streptococcus*. Fakultativně anaerobní mikroorganismus, optimální teplota růstu je 30 °C. Původně se vyskytuje na rostlinném materiálu a v mléce. Používá se jako startovací kultura při výrobě mnoha druhů fermentovaných výrobků a sýrů. Tento kmen drží na mikroklíčích buněk, toleruje nízké pH a fluktuace (Kimoto, 2002).

### **Enterococcus faecium**

*Enterococcus faecium* je grampozitivní, fakultativně anaerobní, nesporulující kok. Optimální teplota růstu je 37 °C. Vyskytuje se v syrovém mléce, na rostlinách, v gastrointestinálním traktu člověka i zvířat. Má schopnost zmírnit syndrom dráždivého střeva. Zkoumán pro použití v sýru Cheddar (Gardiner et al., 1999).

### **Propionibacterium freudenreichii**

*Propionibacterium freudenreichii* je grampozitivní, fakultativně anaerobní, nesporulující, pleomorfní tyčinka. Optimální teplota růstu je 30-37 °C. Běžně se vyskytuje na kvasnicích. V mléce se využívá při výrobě sýrů s očkem.

Probiotický vliv u *P. freudenreichii* je založen na tvorbě propionové kyseliny, bakteriocinů a vitamínu B12 (Mantere-Alhonen, 1995).

### **3.2.3.2 Mléčné kvašení**

Rody *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* patří mezi bakterie mléčného kvašení, nesprávně k nim bývá zařazen i rod *Bifidobacterium* (Parvez et al., 2006).

Mléčné kvašení je dvou typů, homofermentivní a heterofermentivní. V případě homofermentivního se jedná o kvašení jednoduchých cukrů na kyselinu mléčnou. U heterofermentativního vznikají vedle kyseliny mléčné další látky, jako jsou tukové kyseliny, alkohol nebo oxid uhličitý (Tannock, 2004).

V **tabulce . 2** jsou vyjmenovány mikroorganismy používané jako probiotika, tedy v mléčných fermentovaných výrobcích, tabletách a dalších. Nejvíce jsou používané bakterie rodu *Lactobacillus*.

**Tabulka 2: Probiotické mikroorganismy (Ouweland et al., 2002; Parvez et al., 2006)**

<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Bifidobacterium animalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Propionobacterium freudenreichii</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Streptococcus diacetylactis</i>
<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Bifidobacterium thermophilus</i>	<i>Streptococcus cremoris</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>		<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>		
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>		
<i>Lactobacillus salivarius</i>		

### 3.2.4 Formy

Lidé mohou přijímat probiotika ve formě mléčných výrobků, jako jsou jogurty, jogurtová mléka nebo kefíry. Další formou jsou doplňky stravy, v podobě tablet, prášků či rozpustných kapslí. Aby mohl mléčný výrobek působit jako probiotikum, musí být použita taková mléčná kultura, která je odolná i kyselému prostředí žaludku a dostane se až do tlustého střeva (Schrezenmeir and Vrese, 2001).

Probiotické výrobky na trhu jsou ve formě tekuté nebo polotuhé, určené pro perorální podání. Výzkumy však zjistily, že bakterie vykazují nízkou životaschopnost, nejsou schopné přežít nízké pH žaludku. Lepší formou jsou lisované tablety, ve kterých jsou lyofilizované bakteriální buňky. Výhodou tablet je nízká vodní aktivita, díky níž se zachová životaschopnost (Klayraung et al., 2009).

### 3.2.5 Úinky

Rolfe (2000) zjistil, že probiotika inhibují bakteriální enzymy, které se podílejí na tvorbě střevních karcinogenů. Existuje mnoho mechanismů, kterými probiotika zvyšují střevní zdraví: stimulují imunitu, inhibují epitelální a slizniční permeabilitu, inhibují epitelální invazi a produkci antimikrobiálních látek.

## 3.3 Prebiotika

### 3.3.1 Definice a historie

Gibson a Roberfroid (1995) poprvé použili termín prebiotika. Prebiotika jsou doplňky stravy nebo potraviny, které obsahují nestrávitelnou složku. Selektivně stimuluje peristaltiku a aktivitu probiotických bakterií (Thomas and Greer, 2010). Nejčastěji se vyskytují jako oligosacharidy. V přirozené formě jsou v mateřském mléce, vyskytují se v mnoha rostlinách, jako jsou čekanka, topinambur, cibule, česnek nebo banány. Jako prebiotikum bývají označeny polysacharidy, které představují tzv. rozpustnou vlákninu (Sýkora, 2011).

Požadavky na prebiotika (Collins and Gibson, 1999; Roberfroid, 2007):

- Nesmí být absorbovány ani hydrolyzovány v horní části trávicího traktu, musí být odolné vůči nízkému pH žaludku.
- Fermentace střevní mikrobiotou.
- Selektivní substrát pro jednu nebo více zdravích prospěšných bakterií.
- Schopnost pozitivně ovlivnit mikrobiotu tlustého střeva pro lepší zdravotní stav a pohodu jedince.

Synbiotika jsou výrobky, které obsahují probiotika i prebiotika, prebiotická látka podporuje (synergický efekt) růst probiotických bakterií (Schrezenmeir and Vrese, 2001).

### 3.3.2 Oligosacharidy

Molekula oligosacharidových prebiotik obsahuje 1 až 2 fruktosy nebo galaktosy s terminálně připojenou glukosou. Oligosacharidy jsou tvořeny maximálně 10 sacharidovými jednotkami. V mateřském mléce jsou 3. nejvyšší složkou, v 1 litru je průměrně 14 gramů oligosacharidů. Předávají se jako doplňky stravy a nápoje (Sýkora, 2011).

Pro růst bifidobakterií se používají látky, jako jsou fruktooligosacharidy, inulin, galaktooligosacharidy, sójové oligosacharidy (Schrezenmeir and Vrese, 2001).

Ověřená prebiotika jsou pouze inulin a fruktooligosacharidy, galaktooligosacharidy, laktulosa (Roberfroid, 2007).

### 3.3.2.1 Příklady oligosacharidů

- Inulin a fruktooligosacharidy
- Galaktooligosacharidy
- Laktulosa
- Glukooligosacharidy
- Isomaltooligosacharidy
- Laktosacharosa
- Sójové oligosacharidy
- Xylooligosacharidy

#### Inulin a fruktooligosacharidy

Chemicky se jedná o polymery s lineárním řetězcem a glykosidickou vazbou (2-1). Chemický vzorec je  $\beta\text{-D-glukopyranosyl-}[\beta\text{-D-fruktofuranosyl}]_{n-1}\text{-}\beta\text{-D-fruktofuranosid}$  ( $G_{py}F_n$ ) nebo  $\beta\text{-D-fruktopyranosyl-}[\beta\text{-D-fruktofuranosyl}]_{n-1}\text{-}\beta\text{-D-fruktofuranosid}$  ( $F_{py}F_n$ ), kde  $n = 2\text{--}60$ . Typickým zdrojem je čekanka. Právě pro vysoký obsah inulinu je vhodná pro diabetiky. Inulin z čekanky má prokázaný bifidogenní účinek (Roberfroid, 2008).

Jako fruktooligosacharidy bývá označována směs malých inulinových oligomerů (enzymaticky hydrolyzované). Enzymaticky se získávají pomocí enzymu  $\beta$ -fruktosidasy, který produkuje mikroskopická houba *Aspergillus niger* (Roberfroid, 2007). Inulin se získává extrakcí horkou vodou z kořene čekanky, fruktooligosacharidy pak enzymatickou hydrolýzou z inulinu nebo synteticky ze sacharosy a fruktosy z červené řepy. Komerčně jsou dostupné jako Raftilose® nebo Raftiline® (Gibson and Roberfroid, 2005).

Směs inulinu, galaktooligosacharidů, isomaltooligosacharidů, xylooligosacharidů a laktulosa je k dostání v produktu s názvem Tammex family plus.

## **Galaktooligosacharidy**

Galaktooligosacharidy jsou oligosacharidy řívno i-ného p vodu, vyskytují se v kravském mléce. Chemicky se jedná o polymery odvozené od laktosy, obvykle jsou z 3 až 5 sacharidových jednotek, spojených vazbami (1-6), (1-3) a (1-4). Chemický vzorec je  $\text{Glu-1-4}[\beta\text{Gal-1-6}]_n$ . Průmyslově se vyrábí z laktosy ze syrovátky enzymaticky, pomocí  $\beta$ -galaktosidasy. Trans-galaktooligosacharidy jsou směsí oligosacharidů vytvořené pomocí enzymatické transgalaktosilace (Roberfroid, 2007). Inhibují růst neřádoucích bakterií, například klostridií (Rycroft et al., 2001). Vyřívávají se v potravinářství, zvyšují viskozitu výrobků a jako inhibitory retrogradace škrobu. Snířívají vodní aktivitu, tím brání proti mikrobiální kontaminaci (Rudolfovská et al., 2005).

Komerčně jsou dostupné jako Vivinal®.

## **Laktulosa**

Laktulosa je syntetický oligosacharid s chemickým vzorcem 4-O- $\beta$ -D-Gal-D-Fru. Vyrábí se izomerizací laktosy, enzymaticky pomocí enzymu  $\beta$ -galaktosidasy. Tvorba v mléce je ovlivována dobou a teplotou ošetření a pH (Olano and Corzo, 2009). Pouřívá se u lidí na změkčení stolice (Gregora, 2004). Pouřívá se i jako veterinární léčivo.

Prodává se jako komerčně známá Laktulosa Sandoz®.

## **Sójové oligosacharidy**

Obvykle se jedná o sacharidy tzv. rafinosové řady (rafinosa, stachyosa, verbaskosa). Chemicky je rafinosa  $\beta$ -D-Gal-(1-6)- $\beta$ -D-Glu-(1-2)- $\beta$ -D-Fru, stachyosa  $\beta$ -D-Gal-(1-6)- $\beta$ -D-Gal-(1-6)- $\beta$ -D-Glu-(1-2)- $\beta$ -D-Fru a verbaskosa  $\beta$ -D-Gal-(1-6)- $\beta$ -D-Gal-(1-6)- $\beta$ -D-Gal-(1-6)- $\beta$ -D-Glu-(1-2)- $\beta$ -D-Fru. Příčné pouřívání sóji pro výrobu potravin je omezeno antinutričními faktory (nadýmání). Stachyosu lze odbourat naklíčením i namočením (East et al., 1972).

## **Xylooligosacharidy**

Xylooligosacharidy jsou izomery xylosy. Jejich chemický vzorec je  $\text{Xyl-1-(1-4)-[Xyl]}_n$ , kde  $n = 2-7$ . Xylooligosacharidy s laktulosou zvyšují počet bifidobakterií (Rycroft et al., 2001).

V kombinaci s probiotiky jsou komerčně dostupné pod názvem Bretbach® Febico.

### Isomaltooligosacharidy

Isomaltooligosacharidy jsou izomery glukosy, jejich chemický vzorec je  $\text{Glu-}-(1-6)-[\text{Glu-}-(1-6)-]_n$ , kde  $n = 1-2$ . Při zvýšení počtu bifidobakterií vzniká více laktátu a málo plyn (Rycroft et al., 2001).

Komerční jsou dostupné jako VitaFiber™.

### **3.3.3 Mate ské mléko**

Prebiotický účinek mate ského mléka má celý komplex faktorů, jako je nízká koncentrace bílkovin, fosfátů, přítomnost laktoferinu, laktosy, nukleotidů a oligosacharidů. Tyto hlavní složky mléka spolu s laktosou a lipidy jsou oligosacharidy, v 1 litru je jich přibližně 12-14 gramů, jsou složeny ze 3-10 monosacharidových jednotek, obsah oligosacharidů v kravském mléce je okolo 1 gramu, proto se uměle dlejší výživu musí obohacovat. V 1 litru mate ského mléka je 0,15 gramů fosfátů, 9 gramů bílkovin, 1,362 gramy laktoferinu, což je hlavní bílkovina (Coppa et al., 2006).

V mate ském mléce se nachází 5 druhů monosacharidů: glukosa, galaktosa, fukosa, kyselina sialová a N-acetylglukosamin. Během 1. měsíce kojení je v mate ském mléce 24 % galaktooligosacharidů. 1 litr mléka obsahuje 7 % laktosy. (Rudolfovská et al., 2005).

Oligosacharidy MM (N-acetylglukosamin, glukosy, galaktosy, fukosové oligomery, které glykoproteiny) jsou vhodné pro růst bifidobakterií. Nízký obsah bílkovin a snížená pH mají schopnost pomoci umocnit zvýšený růst bifidobakterií. Laktoferin a některé lipidy inhibují růst nežádoucích mikroorganismů (Collins and Gibson, 1999). Laktoferin inhibuje růst *Escherichie coli* a naopak podporuje růst *Bifidobacterium bifidum* (Coppa et al., 2006).

Kravské mléko se obohacuje prebiotickou vlákninou podobnou prebiotikům mate ského mléka. Jedná se o přípravky komerčně známé jako Nutrilon, Omneo, Sunar komplex. Další úpravou kravského mléka a podobně mléku mate skému je úprava bílkovin a snížení fosfátů, tím se docílí prebiotického efektu, podstatou je ovlivnění růstu bifidogenních bakterií. Takto upravený výrobek je komerčně známý jako Beba 1 Start (Gregora, 2004).

### 3.3.4 Úinky prebiotik

Prebiotika jsou rezistentní v i kyselému pH flaludku a digestivním enzym m, nevst ebávají se a jejich p ítomnost selektivn stimuluje proliferaci zdrav í prosp –ných bakterií v tlustém st ev (bifidobakterií a laktobacil ). Ovliv ují stolici (frekvence, zm k ení, snífení pH, zvý–ení po tu bifidobakterií) (S ýkora, 2011).

P edpokládané ú inky prebiotik jsou:

- zvý–ená odolnost trávic ího traktu ke kolonizaci patogenními mikroorganismy,
- ovlivn ní imunologických proces v TT,
- prevence rakoviny tlustého st eva,
- snífení hladiny cholesterolu,
- antiadhezní efekt, omezení vazby patogen na kolonocyty (S ýkora, 2011).

### 3.4 Výfiv

Hlavní úlohou výfivy je poskytnout dostatek fivin a splnit tak pofladavky na vyváfenou stravu, která také dávat ebiteli pocit spokojenosti a pohody. Poslední poznatky podporují hypotézu, že strava ídí a moduluje r zné funkce v t le, a tím p íspívá ke stavu zdrav í nezbytného pro snífení rizika n kterých onemocn ní (Roberfroid, 1998).

V p ípad , že chybí jedna nebo n kolik málo fivin, dodávají se pomocí dopl ku stravy. Pokud chybí v t–í množství fivin, je t eba podávat enterální výfivu (Floriánková, 2014).

Základní slofkky potravy jsou sacharidy, bílkoviny, tuky, vitamíny a minerální látky. Optimální pom r sacharid , bílkovin a tuk v potrav by m l být 5 : 3 : 2.

Sacharidy jsou z chemického hlediska polyhydroxyderiváty karbonylových slou enin, podle po tu cukerných jednotek se d lí na monosacharidy (1 jednotka), oligosacharidy (2-10 jednotek) a polysacharidy (> 10 jednotek). Ve v t–ím množství jsou v potravinách rostlinného p vod , oproti potravinám živo í–ného p vodu. V potrav dominuje sacharosa, m la by se v–ak omezit ve prosp ch pomaleji dostupných sacharid . Spole n s tuky jsou významný zdroj energie, dále jsou to látky zásobní, stavební, sou ást nukleových kyselin nebo hormon .

Bílkoviny jsou tvořeny aminokyselinami spojenými peptidickou vazbou. Aminokyseliny, které si člověk nedokáže syntetizovat sám a musí je přijímat z potravy, se označují jako esenciální (valin, leucin, isoleucin, lysin, treonin, methionin, fenylalanin, tryptofan). Plnohodnotná bílkovina je taková, která obsahuje vyvážený obsah esenciálních a neesenciálních aminokyselin z hlediska fyziologických potřeb člověka, optimální složení mají laktalbumin nebo ovalbumin. Bílkoviny mají funkci stavební, transportní, zajišťují pohyb, jsou část enzymů a hormonů, jsou částí imunity.

Tuky jsou chemicky estery vybraných mastných kyselin a alkoholu (glycerolu). Nutričně významné mastné kyseliny jsou palmitová, stearová, linolová, linoleová, arachidonová a dokosaheptaenová, mediálně známé jako n-3 a n-6. Tuky jsou zdroj energie, tepelná izolace organismu, umožňují vstřebávání lipofilních vitamínů, tvoří hormony.

Vitamíny jsou organické sloučeniny, které musí člověk přijímat potravou. Rozdělují se na dvě skupiny, lipofilní (A, D, E, K) a hydrofilní (vitamíny skupiny B, C, H). Nedostatek v organismu se označuje jako hypovitaminosa, úplný nedostatek jako avitaminosa, naopak nadbytek je označován jako hypervitaminosa.

Průklady funkcí vitamínů: B<sub>1</sub> (thiamin) je koenzym oxidací dekarboxylací  $\alpha$ -ketokyselin a koenzymem transketolasy v pentosovém cyklu. Nedostatek se projevuje jako nemoc beri-beri. B<sub>2</sub> (riboflavin) je koenzym oxidací-redukčních reakcí, součástí dýchacího řetězce, podílí se na dýchací výměně. B<sub>6</sub> se podílí na metabolismu aminokyselin a sacharidů. B<sub>12</sub> se podílí na metabolismu DNA a syntéze mastných kyselin. Kyselina pantothenová je součástí koenzymu A, který je důležitý v metabolismu sacharidů, lipidů a aminokyselin. Niacin se podílí na energetickém metabolismu, důležitý pro syntézu NAD a NADPH. Kyselina listová je důležitá pro syntézu purinů, uvolňování v těhotenství významně snižuje riziko rozštěpových vad neutrální trubice u novorozence. Cholin je součástí buněčných membrán.

Vitamín H (biotin) je koenzym karboxylačních reakcí, součástí denní potřeby kryje biosyntéza stěvní mikrobiotou. Vitamín C je důležitý jako antioxidant, podílí se na syntéze adrenalinu a fluorových kyselin, vstřebávání železa. Onemocnění z nedostatku se označuje jako kurd je, což je porucha tvorby kolagenu. Vitamín A má nezastupitelnou roli v mechanismu vidění a jako antioxidant. Vitamín E je důležitý pro vstřebávání tuků a jako antioxidant. Vitamín D je prohormon, nezastupitelný v metabolismu fosforu a vápníku. Nedostatek má vliv na kosti, onemocnění kůže, osteomalacie a na ledviny, renální osteodystrofie. Vitamín K je



nezbytný při srážení krve a metabolismu vápníku. Při nedostatku dochází k poruchám srážlivosti. Syntetizuje ho st evní mikrobiota.

Minerální látky mají mnoho různých funkcí, jsou důležité pro růst a tvorbu tkání, regulaci metabolismu, při vedení nervových vzruchů. Jako makroprvky jsou označovány prvky, kterých máme přijímat více než 50 mg za den, patří mezi ně uhlík, vodík, kyslík, dusík, síra, fosfor, vápník, hořčík, sodík, draslík, chlór. Mikroprvky jsou prvky, přijímané v menším množství než 50 mg. Patří mezi ně jód, železo, zinek, mangan, molybden, měď, kobalt, selen, nikl, fluór, chrom, hliník, cín, bór. Pro dostatečný příjem je důležitá pestrá strava (Havlík et Marounek, 2012).

### 3.4.1 Druhy

Rozlišíme 2 způsoby podávání výživy nemocným pacientům, enterální a parenterální. Enterální způsob podávání výživy je podáván do trávicího traktu, ústy nebo sondou přímo do žaludku, případně do střeva. Parenterální výživa je způsob podávání živin přímo do žíly (Floriánková, 2014).

Obrázek 1: Použití enterální a parenterální výživy (Danone Nutricia, 2014)



## **3.4.2 Enterální výživa**

### **3.4.2.1 Definice**

Enterální výživa je výživa podávaná pacientům, kteří nejsou schopni přijímat běžnou potravu, nejsou tedy schopni pokrýt nutriční požadavky organismu (Whelan, 2009). Pomocí enterální výživy se doplňují nedostatky spojené s energií a živinami. Používá se jako primární terapie při léčbě Crohnovy nemoci (Goulet, 2010).

### **3.4.2.2 Historie**

Rozvoj podávání enterální výživy začal až v průběhu 20. století. Od roku 1916 se používala kontrolovaná dávka kapalné výživy, v roce 1918 byly upraveny makronutrienty a výživa byla dávkovaná u pooperačních stavů. Roku 1940 byl uznán význam nutriční terapie při rekonvalescenci po zranění, do výživy byly přidány i mikronutrienty. Po roce 1970 probíhá moderní výzkum, zejména výživy, zejména podávání, celkové zlepšení enterální výživy (Harkness, 2002).

### **3.4.2.3 Indikace**

Indikace enterální výživy je u stavů, kdy není více než 7 dní možné běžnou stravou pokrýt výživové potřeby člověka nebo u stavů se zvýšenými výživovými nároky, kdy nestačí běžná strava. Příklady používání enterální výživy: příprava na operaci, rekonvalescence po operaci, úrazu nebo nemoci, chronická onemocnění a léčebné procesy s vysokou zátěží (Floriánková, 2014).

Indikace dále enterální výživy je spojená s následujícími diagnózami (Danone Nutricia, 2014):

- Zpomalení růstu, podvýživa
- Alergie na bílkovinu kravského mléka
- Cystická fibróza
- Neurologická onemocnění
- Nádorová onemocnění
- Poruchy trávení a vstřebávání
- Zánětlivá onemocnění střev

- Intenzivní péče
- Vrozené srdeční vady
- Syndrom krátkého střeva

Indikace enterální výživy u dospělých je spojená s následujícími diagnózami (Danone Nutricia, 2014):

K popíjení:

- Malnutrice
- Onkologická onemocnění
- Sarkopenie
- Dysfagie

Sondová:

- Dysfagie
- Chirurgická léčba nádoru hlavy a krku
- Operace nádoru trávicího traktu
- Vážný úraz

#### **3.4.2.4 Formy a aplikace**

Existují 3 formy enterální výživy a to oligomerní, polymerní a speciální. Oligomerní forma výživy je tvořena malými molekulami živin, které jsou lépe vstřebatelné, než větší molekuly, které tvoří polymerní formu. Polymerní přípravky se podobají pevné stravě, je nutné, aby fungoval trávicí trakt. Oligomerní přípravky obsahují látky, které živiny. Podávají se sondou. Speciální přípravky jsou uzpůsobeny dle typu onemocnění (Tomíková, 2009).

Užívání tekutých přípravků ústy se označuje jako tzv. sipping (popíjení). Nejvhodnější dávkování je po doučích. Doporučuje se podávat nápoje vychlazené a stídat píchut (Floriánková, 2014).

Na našem trhu jsou 3 dodavatelé Nutricia, Fresenius a Novartis. Přípravky enterální výživy jsou komerčně známé jako Nutridrink, Fresubin, Diasip, Cubisan, Isosource, Novasource, Oral Impact, Ensure Plus, Glucerna, Nepro, ProSure, Nutricomp Drink Plus. Všechny

p ípravky obsahují pot ebné živiny, v nejlépe využitelném poměru a formě. <sup>TM</sup> Mroková –kála p íchutí nebo bez p íchuti. živiny a energie jsou ve vysoké koncentraci (Floriánková, 2014).

### **3.4.2.5 P íklady p ípravk enterální výživy**

#### **Nutrinidrink Neutral**

Nutrinidrink Neutral je nutri n kompletní vysokoenergetická tekutá výživa s mlé nou bílkovinou a s vlákninou pro děti od 1 roku věku. 100 ml výživy má energetickou hodnotu 640 kJ, obsah bílkovin je 3,4 g, sacharidů 18,8 g a tuků 6,8 g. Objem balení je 200 ml. Výrobce Nutricia.

Složení: voda, maltodextrin, glukózový sirup, rostlinné oleje, mlé né bílkoviny, vláknina (sojové polysacharidy, inulin, oligofruktóza, rezistentní škrob, arabská guma, celulóza), emulgátor (sojový lecitin), citronan tridraselný, fosfore nan vápenatý, chlorid ho e natý, hydrogenfosfore nan didraselný, chlorid vápenatý, cholin chlorid, karotenoidy (obsahuje sóju,  $\beta$ -karoten, lutein, lykopen), L-askorban sodný, chlorid draselný, hydroxid draselný, taurin, mlé nan fleznatý, síran zine natý, L-karnitin, nikotinamid, DL-  $\alpha$ -tokoferylacetat, glukonan m natý, retinyl acetát, seleni itan sodný, síran manganatý, D-biotin, cholekalciferol, D-pantothenát vápenatý, thiamin hydrochlorid, chlorid chromitý, riboflavin, pyridoxin hydrochlorid, kyselina pteroylmonoglutamová (kyselina listová), jodid draselný, fluorid sodný, molybdenan sodný, fytomenadion, kyanokobalamin. Obsah laktózy < 0,025 g/100 ml.

#### **Fresubin Original Drink**

Fresubin Original Drink (p íchu vanilková) je nutri n kompletní 1kcal/ml tekutá výživa určená k popíjení. Bez vlákniny, lepku, klinicky bez laktózy. Energetická hodnota výrobku je 420 kJ. Obsah bílkovin je 3,8 g, sacharidů 13,8 g a 3,4 g tuků. Objem balení je 200 ml. Dávkování: celková výživa 768 lahviček, doplňková výživa 263 lahviček. Výrobce Fresenius.

Složení: voda, maltodextrin, mlé né bílkoviny, rostlinné oleje, sacharóza, sojová bílkovina, aroma, citronan draselný, chlorid draselný, emulgátory (sojový lecitin, E471), hydrogenfosfore nan draselný, chlorid ho e natý, vit. C, regulátory kyselosti (E332, E330, E530), cholin hydrogentartarát, stabilizátor (E415), síran fleznatý, síran zine natý, fosfore nan vápenatý, niacin, vit. E, kyselina pantotenová, chlorid manganatý, síran m natý,

vit. B<sub>2</sub>, vit. B<sub>6</sub>, fluorid sodný, betakaroten, vit. B<sub>1</sub>, vit. A, kyselina listová, chlorid chromitý, jodid draselný, molybdenan sodný, seleni nan sodný, vit. K<sub>1</sub>, biotin, vit. B<sub>3</sub>, vit. B<sub>12</sub>.

#### **3.4.2.6 Vliv na st evní mikrobiotu**

Lionetti et al.(2005) zjistil, že st evní mikrobiota u pacient s Crohnovou chorobou, je zásadně změněna. Tím přispívá k možným mechanismům enterální výflivy, kdy k navození remise je schopnost st ídat st evní mikrobiotu.

Enterální výfliva může způsobovat především, což je ovlivněno růstem klostridií, v porovnání s lidmi, kteří přejímají netrpělivost, mají nižší počet bifidobakterií a zvýšenou produkci tukových kyselin (Whelan, 2009). Použitím probiotické kvasinky *Saccharomyces boulardii* lze zabránit přejímání (Bleichner et al., 1997).

Polymerní enterální výfliva zvyšuje produkci tukových mastných kyselin a celkový počet bakterií, které zlepšují zdraví st ev (Schneider et al., 2006).

#### **3.4.2.7 Crohnova choroba**

Crohnova choroba je chronická gastrointestinální porucha (Gerasimidis, 2008). Obvykle postihuje tenké nebo tlusté st evy, v nichž v některých případech jsou postižena obě zároveň. Nejčastěji bývá zasažena terminální klika ilea. Může se objevit i v jícnu a žaludku. Typickým projevem je aftózní vřed s bledým st edem a zarudlým lemem. Sliznice je rozdělena hlubokými fisurami.

V průběhu nemoci se st ídají období s remisí a s exacerbací zánětu. Nemoc probíhá s mírnou až středně silnou aktivitou. Pro zánětlivé období je charakteristická krvavá stolice, obvykle několikrát za den. Dále pacienti pociťují bolest břicha a únavu, typický je úbytek na váze. Vznik st evních píštěl a výrazných stenóz s kolikovitými bolestmi (Cetkovská et al., 2010) St evní píštěle vznikají pronikáním trhlínků seróze. Z bakterií, které mají vliv na poškození st evních buněk je důležitý rod *Bacteroides* spp. a některé kmeny *Escherichia coli*, ty produkují nebezpečné cytotoxiny (Máfránková et Nejedlá, 2006).

Na její léčbu se používá exkluzivní enterální výfliva, která má srovnatelný účinek jako léčba steroidní (Gerasimidis, 2008).

Nemoc se projevuje buhem d tství nebo dospívání. D ti trpící tímto nedostatkem mají nífl-í vý-ku. Nutri ní nedostatky se projevují podle rozsahu a trvání zán tu (Goulet, 2010).

Používají se různé terapeutické strategie, například snížení, zed ní bakteriálních slofek ve st ev pomocí antibiotik nebo st evní výplachy. Terapie v remisi pomocí probiotik obsahující *Escherichii coli* Nissle 1917, ve srovnání s placebem, provází polovi ní po et relaps (Malchow, 1997).

Sokol et al. (2008) zjistili, že slibná strategie lé by je pomocí *Faecalibacterium prausnitzii* podávaného jako probiotikum, kterého je p i onemocnění nedostatek.

Qiu et al. (2013) potvrzuje slibnou mofnost v lé b pomocí *Faecalibacterium prausnitzii* a jeho metabolit , nutno však objasnit bezpečnost, účinnost a optimální mechanismus v klinické praxi.

Exkluzivní enterální výfliva u Crohnovy choroby zmír uje klinické příznaky a zlep-uje nutri ní stav pacienta. Oproti kortikosteroid m dochází k zahojení st evní sliznice. V této studii byl pozorován příjem enterální výflivy orálně oproti sondové (nasogastricky). U pacient , kteří přijímali potravu orálně , dosáhlo remise 75 % a u sondové výflivy 85 % pacient , u všech pacient došlo ke snížení závažnosti choroby (Rubio et al., 2011).

## 4 MATERIÁL A METODY

### 4.1 Poufíté kultury

Kultury poufítvané pro rozboru jsou ze sbírky Katedry mikrobiologie, výflivy a dietetiky. ísté kultury se uchovávají zmraflené s glycerinem (20% v/v).

Pro rozboru byly pouflity následující kmenu rodu *Bifidobacterium*:

- *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 1 (DAN)
- *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 2 (BB12)
- *Bifidobacterium bifidum* 1 (BM)
- *Bifidobacterium bifidum* 2 (JKM)
- *Bifidobacterium bifidum* 3 (JOV)
- *Bifidobacterium longum* 1 (TP1)
- *Bifidobacterium longum* 2 (BV)

DAN a BB12 jsou vyizolované z jogurt , BM a BV z probiotik, JKM, JOV a TP1 jsou st evní bakterie kojenc .

Pro rozboru byly pouflity následující kmenu rodu *Clostridium*:

- *Clostridium* 1 (TM1)
- *Clostridium butyricum* 2 (CM11)
- *Clostridium butyricum* 3 (FW2)
- *Clostridium butyricum* 4 (KA)
- *Clostridium butyricum* 5 (T2)
- *Clostridium butyricum* 6 (FJJW2)
- *Clostridium butyricum* 7 (CM14)

V–echny klostridie jsou izoláty kojenc .

## 4.2 Použitá media

K rozboru byl použit edicí roztok, který se používá pro zeožení množství bakterií. Jako kontrola bylo použito medium Wilkins-Chalgren bujón. Pro stanovení počtu bakterií byl použit agar Wilkins-Chalgren se sójovým peptonem.

Návody pro přípravu medií:

### edicí roztok

- 1) Do Erlenmeyerovy bačky bylo naváženo 5 g tryptonu, 5 g nutrientbrothu 2, 2,5 g yeast extractu a 0,25 g cysteinu.
- 2) Sypká směs byla rozmíchána v 1 litru destilované vody a pipetou bylo přidáno 0,5 ml tweenu 80.
- 3) Následně bylo změněno pH a jeho úprava na 7 přidáním 1 M NaOH.
- 4) Do penicilínek bylo napipetováno po 9 ml roztoku pomocí automatické pipety.
- 5) Penicilínky byly dány do vodní lázně, následně probublány a uzavřeny pomocí –puntu a hliníkového víčka.
- 6) Sterilizace v autoklávu při teplotě 120 °C po dobu 15 minut.

### Wilkins-Chalgren bujón se sójovým peptonem

- 1) Do Erlenmeyerovy bačky bylo naváženo 33 g Wilkins-Chalgren bujónu, 0,5g cysteinu a 5 g sójového peptonu.
- 2) Sypká směs byla rozmíchána v 1 litru destilované vody a pipetou bylo přidáno 1 ml tweenu 80.
- 3) Následně bylo změněno pH a jeho úprava na 7 přidáním 1 M NaOH.
- 4) Do penicilínek bylo napipetováno po 9 ml roztoku pomocí automatické pipety.
- 5) Penicilínky byly dány do vodní lázně, následně probublány a uzavřeny pomocí –puntu a hliníkového víčka.
- 6) Sterilizace v autoklávu při teplotě 120 °C po dobu 15 minut.



### **Wilkins-Chalgren agar se sójovým peptonem**

- 1) Do Erlenmayerovy ba ky bylo naváženo 4,3g Wilkins-Chalgren agaru, 0,05 g cysteinu a 0,5 g sojového peptonu.
- 2) Sypké látky byly smíchány se 100 ml destilované vody a 0,1 ml tweenu 80.
- 3) Erlenmayerova ba ka s agarem byla uzav ena pomocí alobalu.
- 4) Sterilizace v Papinov hrnci po dobu 60 minut.
- 5) Temperace agaru ve vodní lázni na teplotu 48 °C.

V-echny látky pouříváné do medií jsou od firmy Oxoid UK.

### **4.3 Pouříté enterální výřivky**

Pro testování r stu bakterií bylo pouříto 7 enterálních výřiv zna ek Fresubin a Nutridrink. Slofení výřiv viz literární re-er-e.

#### **Bifidobakterie byly testovány v následujících enterálních výřivách:**

- NutriDrink Neutral Multi Fibre, výrobce: Nutricia, -arfe: 43V2323, trvanlivost do 18. 11. 2013
- Fresubin Original Drink okoláda, výrobce: Fresenius, -arfe: 29GD0612, trvanlivost do 04/2014
- Fresubin Neutral, výrobce: Fresenius, -arfe: 29GE0786, trvanlivost do 08/2014
- Nutridrink Compact, výrobce: Nutricia, -arfe: 01L3265, trvanlivost do 23. 6. 2014
- Nutridrink Vanilka, výrobce: Nutricia, -arfe: 58P3067, trvanlivost do 8. 3. 2014
- Nutridrink Multi Fibre Jahoda, výrobce: Nutricia, -arfe: L100438780, trvanlivost do 5. 3. 2015
- Fresubin Energy Fibre Drink Jahoda, výrobce: Fresenius, -arfe: 29HC0434, trvanlivost do 03/2015

#### **Klostridie byly testovány v t chto enterálních výřivách:**

- NutriDrink Neutral Multi Fibre, výrobce: Nutricia, -arfe: 15A3075, trvanlivost do 15. 3. 2014
- Fresubin Original Drink okoláda, výrobce: Fresenius, -arfe: 29GH1438, trvanlivost do 08/2014

- Fresubin Neutral, výrobce: Fresenius, –arfe: 29HC0491, trvanlivost do 06/2015
- Nutridrink Compact, výrobce: Nutricia, –arfe: 09F3324, trvanlivost do 20. 8. 2014
- Nutridrink Vanilka, výrobce: Nutricia, –arfe: L100424693, trvanlivost do 17. 12. 2014
- Nutridrink Multi Fibre Jahoda, výrobce: Nutricia, –arfe: L100438780, trvanlivost do 5. 3. 2015
- Fresubin Energy Fibre Drink Jahoda, výrobce: Fresenius, –arfe: 29HC0434, trvanlivost do 03/2015

#### **4.4 Testování r stu st evních bakterií v enterální výživě**

Z isté rozmrazené kultury bifidobakterií nebo klostridií bylo p eokováno 0,360,5 ml roztoku do 2 bujón v penicilínkách, penicilínky byly kultivovány po dobu 24 hodin p i teplot 37 °C v termostatu. Po 24 hodinách byla zkontrolována istota kultury, pomocí fázov kontrastního mikroskopu Nikon ECLIPSE E200. Pokud byla kultura vhodná k rozboru, musela být na ed na pomocí desítkového ed ní, aby narostlo po itatelné množství kolonií. V 1 ml narostlé kultury bylo  $10^8$  bakterií ( ed ní  $10^0$ ). Narostlá kultura byla z ed na v edícím roztoku tak, fle bylo nabráno 1 ml roztoku do edícího roztoku, takto na ed ný roztok m l koncentraci v 1 ml  $10^7$  bakterií ( ed ní  $10^{-1}$ ), z tohoto roztoku bylo op t nabráno 1 ml a dáno do dal-ího edícího roztoku, tento roztok m l koncentraci  $10^6$  ( ed ní  $10^{-2}$ ), takto bylo pokračováno aíl do koncentrace  $10^1$  ( ed ní  $10^{-7}$ ). K rozbor m bylo využito ed ní  $10^{-3}$ ,  $10^{-6}$  a  $10^{-7}$ .

##### **Rozbor 0 hodin:**

Z ed ní  $10^{-7}$  bylo odebráno 0,5 ml roztoku do Petriho misky, p elito agarem a d kladn rozmícháno. Stejným zp sobem byla zao kována i druhá miska, poté bylo o kováno ed ní  $10^{-6}$  (také do 2 misek). D ležitá je aseptická práce, aby nedo-šlo ke kontaminaci. Misky byly zav eny do anaerostatu, bylo vytvo eno anaerobní prost edí a byly kultivovány v termostatu p i teplot 37 °C po dobu 48 hodin. Po 48 hodinách byly spo ítány po ty narostlých kolonií, p ípadn pod mikroskopem zkontrolována istota kolonií.

### **Rozbor v mikrotitra ní desti ce:**

Do mikrotitra ní desti ky bylo napipetováno medium, pro 1 kmen sta ily 4 d lky po 90  $\mu$ l enterální výflivy, 2 d lky po 90  $\mu$ l bujónu a 2 d lky po 90  $\mu$ l edícího roztoku. Do p ipravených kultiva ních medií bylo mikropipetou pipetováno 10  $\mu$ l kultury (cca  $10^3$  KTJ). Desti ka byla uzav ena, dána do anaerostatu a bylo vytvo eno anaerobní prost edí. Kultivace probíhala p i teplot 37 °C po dobu 24 hodin v termostatu. Po 24 hodinách byla mikrotitra ní desti ka otev ena a obsah byl vyuffit u rozboru 24 hodin. V desti ce, ve které byly bifidobakterie, bylo zm eno pH (pomocí pH papírk a Refleктоquantu) a mnofství kyseliny mlé né (pomocí Refleктоquantu). V p ípad klostridií bylo zm eno pouze pH (pH papírkem a na Refleктоquantu).

### **Rozbor 24 hodin:**

Z d lk mikrotitra ní desti ky, ve které byly enterální výflivy a Wilkins-Chalgren bujón, bylo odpipetováno 10  $\mu$ l do zkumavek s bujónem, odtud bylo klasicky provedeno desítkové ed ní do edících roztok . Podle nár stu bakterií v desti ce bylo odhadnuto ed ní pouffité na o kování do Petriho misek. Do Petriho misek bylo pipetováno 0,5 ml roztoku, p elito agarem a rozmícháno. Byly o kovány 3 ed ní ve 2 opakováních. Misky byly uzav eny do anaerostatu, vytvo eno anaerobní prost edí a kultivovány v termostatu p i teplot 37 °C po dobu 48 hodin. Po 48 hodinách byly spo ítány narostlé kolonie, které byly prohlédnuty pod mikroskopem, zda se jednalo skute n o bifidobakterie, p ípadn klostridie. Mnofství kolonií bylo p epo ítáno na log KTJ/g. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny.

## 5 VÝSLEDKY

### 5.1 Bifidobacterium

Sedm kmenů bifidobakterií bylo kultivováno na sedmi různých enterálních výživách.

V tabulce 3 je porovnání růstu všech kmenů rodu *Bifidobacterium*. Růsty bakterií byly porovnány v programu Statgraphics centurion (Multiple range tests). Z tabulky vyplývá, že růst bakterií se statisticky významně liší.

Ve výživě NutriDrink Neutral byl zaznamenán nejmenší nárůst u *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 1 (DAN), naopak nejvíce rostl kmen *Bifidobacterium longum* 2 (BV). Ve výživě Fresubin okoláda nejmenší rostl *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 2 (BB12), nejvíce *Bifidobacterium longum* 2 (BV). Ve výživě Fresubin Neutral nejmenší rostl *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 2 (BB12), nejvíce *Bifidobacterium bifidum* 1 (BM). Ve výživě NutriDrink Compact nejmenší rostl *Bifidobacterium bifidum* 3 (JOV), nejvíce *Bifidobacterium longum* 2 (BV). Ve výživě NutriDrink Vanilka nejmenší rostl *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 2 (BB12), nejvíce *Bifidobacterium bifidum* 3 (JOV). Ve výživě Fresubin Jahoda nejmenší rostl *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 2 (BB12), nejvíce *Bifidobacterium longum* 2 (BV). Ve výživě NutriDrink Jahoda nejmenší rostl *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 1 (DAN), nejvíce *Bifidobacterium longum* 2 (BV).

V tabulce je také přímý růst bakterií *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 1 a 2, tyto bakterie vykazovaly nejmenší růst ve výživě Fresubin okoláda a nejvyšší v NutriDrinku Compact. Přímý růst *Bifidobacterium bifidum* a *longum* jsou podobné, nejmenší rostly ve výživě NutriDrink Compact, nejvíce ve výživě Fresubin okoláda.

Tabulka 3: Porovnání růstu všech kmenů na určené výživě

	N. Neutral	F. okoláda	F. Neutral	N. Compact	N. Vanilka	F. Jahoda	N. Jahoda
DAN	3,46±0,15 <sup>a</sup>	4,30±0,00 <sup>b</sup>	5,57±0,03 <sup>b</sup>	6,64±0,08 <sup>e</sup>	6,19±0,03 <sup>c</sup>	5,46±0,15 <sup>b</sup>	5,30±0,00 <sup>a</sup>
BB12	6,96±0,08 <sup>c</sup>	4,00±0,00 <sup>a</sup>	4,92±0,13 <sup>a</sup>	5,87±0,02 <sup>c</sup>	4,60±0,00 <sup>a</sup>	4,30±0,00 <sup>a</sup>	5,82±0,04 <sup>b</sup>
BM	4,23±0,07 <sup>b</sup>	7,35±0,04 <sup>c</sup>	8,44±0,01 <sup>f</sup>	6,29±0,01 <sup>d</sup>	5,61±0,10 <sup>b</sup>	7,36±0,14 <sup>d</sup>	7,48±0,07 <sup>e</sup>
JKM	7,47±0,09 <sup>d</sup>	7,97±0,01 <sup>e</sup>	7,47±0,12 <sup>d</sup>	6,60±0,00 <sup>e</sup>	7,20±0,00 <sup>d</sup>	7,86±0,06 <sup>e</sup>	6,95±0,04 <sup>c</sup>
JOV	8,26±0,01 <sup>e</sup>	7,33±0,04 <sup>c</sup>	7,83±0,05 <sup>e</sup>	4,30±0,00 <sup>a</sup>	8,40±0,00 <sup>f</sup>	6,66±0,05 <sup>c</sup>	7,26±0,01 <sup>d</sup>
TP1	8,93±0,01 <sup>f</sup>	7,86±0,01 <sup>d</sup>	7,09±0,02 <sup>c</sup>	4,84±0,06 <sup>b</sup>	7,84±0,06 <sup>e</sup>	7,41±0,02 <sup>d</sup>	7,54±0,02 <sup>e</sup>
BV	9,15±0,15 <sup>g</sup>	9,06±0,06 <sup>f</sup>	8,34±0,00 <sup>f</sup>	8,06±0,01 <sup>f</sup>	8,39±0,01 <sup>f</sup>	9,04±0,05 <sup>f</sup>	8,07±0,02 <sup>f</sup>

1)	5,21±2,47	4,15±0,21	5,25±0,46	6,26±0,54	5,40±1,12	4,88±0,82	5,56±0,37
2)	7,61±2,00 <sup>b</sup>	7,91±0,70 <sup>b</sup>	7,83±0,57 <sup>b</sup>	6,02±1,49 <sup>a</sup>	7,49±1,16 <sup>ab</sup>	7,67±0,88 <sup>b</sup>	7,46±0,41 <sup>ab</sup>

Pozn.: Všechny hodnoty jsou průměry (v log KTJ/g) ze 3 měření ± směrodatná odchylka. \* Hodnoty ve sloupcích se statisticky liší (hladina významnosti  $P < 0,05$ ). (1) průměr DAN a BB12, 2) průměr BM, JKM, JOV, TP1, BV).

V **tabulce . 4** je porovnání průměrného růstu *Bifidobacterium animalis* a *Bifidobacterium longum* a *bifidum*. Podle **tabulky . 5** zjistíme, že hodnota  $t_{Stat} > t_{krit} (2)$ , tudíž se hodnoty statisticky významně liší (hladina významnosti  $P < 0,05$ ). V tabulce je také vyhodnocení porovnání na určitých vlivách, všechny hodnoty (kromě vlivu Nutridrink Compact) se liší.

**Tabulka 4: Vyhodnocení růstu animálních a lidských kmenů pomocí T-testu s rovností rozptylu**

	N. Neutral	F. okoláda	F. Neutral	N. Compact	N. Vanilka	F. Jahoda	N. Jahoda	Průměr
1)	5,21±2,47	4,15±0,21	5,25±0,46	6,26±0,54	5,40±1,12	4,88±0,82	5,56±0,37	5,24±0,64
2)	7,61±2,00*	7,91±0,70*	7,83±0,57*	6,02±1,49	7,49±1,16*	7,67±0,88*	7,46±0,41*	7,43±0,64*

Pozn.: 1) průměr DAN a BB12, 2) průměr BM, JKM, JOV, TP1, BV. Všechny hodnoty jsou průměry (v log KTJ/g) ± směrodatná odchylka \* Hodnoty ve sloupcích se statisticky liší (hladina významnosti  $P < 0,05$ ).

**Tabulka 5: T-test s rovností rozptylu**

	Soubor 1	Soubor 2
St. hodnota	5,242857	7,427143
Rozptyl	0,41449	0,412157
Pozorování	7	7
Společný rozptyl	0,413324	
Hyp. rozdíl st. hodnot	0	
Rozdíl	12	
t Stat	-6,35621	
P(T<=t) (1)	1,82E-05	
t krit (1)	1,782288	
P(T<=t) (2)	3,63E-05	
t krit (2)	2,178813	

V **tabulce . 6** je porovnání růstu určitých kmenů bifidobakterií v různých vlivách. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 1 (DAN) rostl nejlépe ve vlivu Nutridrink Compact, nejméně v NutriDrinku Neutral. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 2 (BB12) rostl nejlépe v NutriDrinku Neutral, nejméně ve Fresubinu okoláda. *Bifidobacterium bifidum* 1 (BM) nejlépe rostl ve vlivu Fresubin Neutral, nejméně v NutriDrinku Neutral. *Bifidobacterium bifidum* 2 (JKM) rostl nejlépe ve Fresubinu okoláda, nejméně v Nutridrinku Compact. *Bifidobacterium bifidum* 3 (JOV) nejvíce rostl v Nutridrinku Vanilka, nejméně

v Nutridrinku Compact. *Bifidobacterium longum* 1 (TP1) nejlépe rostl v NutriDrinku Neutral, nejmén v Nutridrinku Compact. *Bifidobacterium longum* 2 (BV) rostl nejlépe v NutriDrinku Neutral a nejmén v Nutridrinku Compact. R sty bakterií porovnáváné v ádcích se statisticky li-í.

**Tabulka 6: Porovnání r stu ur itých kmen v r zných v ýffivách**

	N. Neutral	F. okoláda	F. Neutral	N. Compact	N. Vanilka	F. Jahoda	N. Jahoda
<b>DAN</b>	3,46±0,15 <sup>A</sup>	4,30±0,00 <sup>B</sup>	5,57±0,03 <sup>D</sup>	6,64±0,08 <sup>F</sup>	6,19±0,03 <sup>E</sup>	5,46±0,15 <sup>D</sup>	5,30±0,00 <sup>C</sup>
<b>BB12</b>	6,96±0,08 <sup>F</sup>	4,00±0,00 <sup>A</sup>	4,92±0,13 <sup>D</sup>	5,87±0,02 <sup>E</sup>	4,60±0,00 <sup>C</sup>	4,30±0,00 <sup>B</sup>	5,82±0,04 <sup>E</sup>
<b>BM</b>	4,23±0,07 <sup>A</sup>	7,35±0,04 <sup>D</sup>	8,44±0,01 <sup>F</sup>	6,29±0,01 <sup>C</sup>	5,61±0,10 <sup>B</sup>	7,36±0,14 <sup>DE</sup>	7,48±0,07 <sup>E</sup>
<b>JKM</b>	7,47±0,09 <sup>D</sup>	7,97±0,01 <sup>E</sup>	7,47±0,12 <sup>D</sup>	6,60±0,00 <sup>A</sup>	7,20±0,00 <sup>C</sup>	7,86±0,06 <sup>E</sup>	6,95±0,04 <sup>B</sup>
<b>JOV</b>	8,26±0,01 <sup>F</sup>	7,33±0,04 <sup>D</sup>	7,83±0,05 <sup>E</sup>	4,30±0,00 <sup>A</sup>	8,40±0,00 <sup>G</sup>	6,66±0,05 <sup>B</sup>	7,26±0,01 <sup>C</sup>
<b>TP1</b>	8,93±0,01 <sup>F</sup>	7,86±0,01 <sup>E</sup>	7,09±0,02 <sup>B</sup>	4,84±0,06 <sup>A</sup>	7,84±0,06 <sup>E</sup>	7,41±0,02 <sup>C</sup>	7,54±0,02 <sup>D</sup>
<b>BV</b>	9,15±0,15 <sup>D</sup>	9,06±0,06 <sup>CD</sup>	8,34±0,00 <sup>B</sup>	8,06±0,01 <sup>A</sup>	8,39±0,01 <sup>B</sup>	9,04±0,05 <sup>C</sup>	8,07±0,02 <sup>A</sup>

Pozn.: V-echny hodnoty jsou pr m ry (v log KTJ/g) ze 3 m ení ± sm rodatná odchylka. Hodnoty v ádcích se statisticky li-í (hladina významnosti P < 0,05).

V **tabulce . 7** jsou zaznamenány pr m ry r stu bakterií, rozbor 0 hodin ukazuje inokula ní dávku bakterií. Hodnota se pohybuje od 4,07 do 4,67 log KTJ/g. Rozbor 24 hodin je z mikrotitra ní desti ky, kdy byly bakterie o kovány do agaru Wilkins-Chalgren se sójovým peptonem. Hodnota se pohybuje od 8,19 do 9,17 log KTJ/g. Dále je v tabulce hodnota pH, která je v rozmezí od 4,4 do 5,1. Hodnot pH 4,4 odpovídá nejvy-í hodnot koncentrace laktátu.

**Tabulka 7: Kontrola r stu bifidobakterií na Wilkins-Chalgrenu se sójovým peptonem**

	0 hodin	24 hodin	Laktát v mg/l (pH)
<b>DAN</b>	4,47±0,13	9,11±0,17	930 (4,8)
<b>BB12</b>	4,67±0,18	9,17±0,20	1065 (4,7)
<b>BM</b>	4,39±0,21	8,57±0,39	895 (4,9)
<b>JKM</b>	4,11±0,16	8,38±0,27	1270 (4,7)
<b>JOV</b>	4,07±0,18	8,19±0,32	775 (5,1)
<b>TP1</b>	4,37±0,35	8,41±0,17	845 (4,9)
<b>BV</b>	4,48±0,29	8,55±0,43	1310 (4,4)

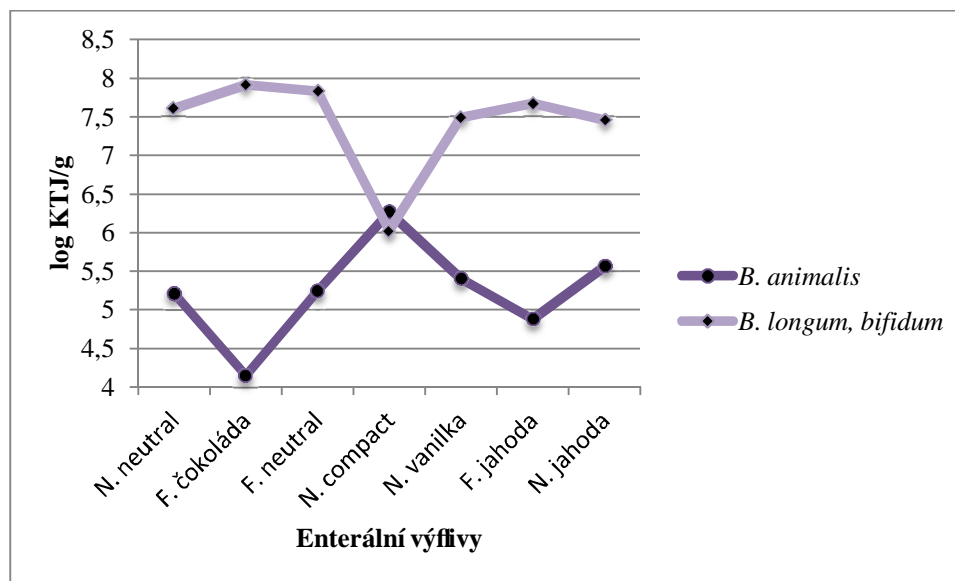
Pozn.: Hodnoty 0 hodin a 24 hodin jsou pr m ry (v log KTJ/g) z více m ení ± sm rodatná odchylka. Hodnota pH je pr m r ze 3 m ení.

V tabulce . 8 jsou zaznamenány množství změněného laktátu pomocí Reflektantu a průměrné hodnoty pH (změněné na Reflektantu a pH papírkem). Vzhledem k vysokému množství bakterií *Bidobacterium longum 2* (BV) na všech výživách, byla u tohoto kmene zaznamenána nejvyšší koncentrace laktátu. Množství laktátu (kyseliny mléčné) ovlivuje hodnotu pH, čím více laktátu, tím nižší pH.

**Tabulka 8: Množství laktátu (mg/l) a hodnoty pH (v závorce) po kultivaci bifidobakterií**

Laktát (pH)	N. Neutral	F. čokoláda	F. Neutral	N. Compact	N. Vanilka	F. Jahoda	N. Jahoda
DAN	340 (6,3)	525 (6,8)	400 (6,3)	600 (6,8)	575 (6,3)	305 (6,4)	425 (6,5)
BB12	570 (6)	380 (6,9)	375 (6,8)	670 (6,8)	530 (6,2)	305 (6,6)	425 (6,5)
BM	575 (6,2)	400 (5,8)	745 (5,2)	830 (5,7)	720 (5,6)	310 (6,5)	450 (5,7)
JKM	475 (5,1)	485 (5,6)	725 (5,2)	955 (5,4)	355 (6,4)	375 (5,5)	500 (5,6)
JOV	755 (5,8)	660 (5,2)	765 (5,1)	560 (6,6)	375 (6,6)	755 (5)	475 (5,9)
TP1	1070 (4,7)	885 (5,0)	515 (6,6)	795 (6,4)	542 (6,5)	525 (6,3)	430 (6,5)
BV	1490 (4,1)	1130 (4,6)	870 (5,0)	1660 (4,4)	1480 (4,2)	615 (5,3)	815 (4,7)

**Graf 1: Znárodnění průměrného množství bifidobakterií**



Bifidobakterie byly kultivovány jen na výživě Fresubin Jucy Drink, vzhledem k nízkému pH výrobku (pH = 3), nedošlo k nárůstu žádného z kmenů bakterií.

## 5.2 Clostridium

Sedm kmenů klostridií bylo kultivováno na sedmi různých enterálních výživách.

V tabulce 9 je zaznamenán růst klostridií, hodnoty byly statisticky porovnány ve sloupcích. Hodnoty se statisticky významně liší. Ve výživě NutriDrink Neutral nejmén roste *Clostridium butyricum* 2 (CM11), nejvíce *Clostridium butyricum* 3 (FW2). Ve Fresubinuokoláda nejmén roste *Clostridium butyricum* 4 (KA) a nejvíce *Clostridium butyricum* 3 (FW2). Ve Fresubinu Neutral nejmén roste *Clostridium butyricum* 2 (CM11) a nejvíce *Clostridium butyricum* 6 (FJJW2). V Nutridrinku Compact nejmén roste *Clostridium butyricum* 3 (FW2) a nejvíce *Clostridium butyricum* 5 (FJJW2). Ve výživě Nutridrink Vanilka nejmén roste *Clostridium butyricum* 2 (CM11) a nejvíce *Clostridium butyricum* 6 (FJJW2). Ve Fresubinu Jahoda nejmén roste *Clostridium butyricum* 2 (CM11) a nejvíce *Clostridium butyricum* 6 (FJJW2). Ve výživě Nutridrink Jahoda nejmén roste *Clostridium butyricum* 2 (CM11) a nejvíce *Clostridium butyricum* 6 (FJJW2).

V tabulce je také zaznamenán průměrný růst všech bakterií v určité výživě a jeho statistické vyhodnocení, bylo zjištěno, že průměr je velmi podobný a statisticky se významně neliší.

**Tabulka 9: Porovnání růst všech kmenů v určité výživě**

	N. Neutral	F.okoláda	F. Neutral	N. Compact	N. Vanilka	F. Jahoda	N. Jahoda
<b>TMM1</b>	8,13±0,01 <sup>bc</sup>	8,10±0,06 <sup>c</sup>	8,06±0,02 <sup>b</sup>	7,94±0,59 <sup>c</sup>	7,71±0,02 <sup>c</sup>	8,39±0,03 <sup>d</sup>	7,68±0,04 <sup>c</sup>
<b>CM11</b>	5,56±0,24 <sup>a</sup>	7,62±0,04 <sup>b</sup>	7,43±0,05 <sup>a</sup>	7,25±0,05 <sup>b</sup>	7,34±0,00 <sup>a</sup>	7,01±0,01 <sup>a</sup>	7,36±0,02 <sup>a</sup>
<b>FW2</b>	9,11±0,03 <sup>e</sup>	8,94±0,06 <sup>c</sup>	8,00±0,06 <sup>b</sup>	6,85±0,06 <sup>a</sup>	8,18±0,04 <sup>d</sup>	8,00±0,01 <sup>b</sup>	7,54±0,08 <sup>b</sup>
<b>KA</b>	8,26±0,02 <sup>cd</sup>	6,30±0,00 <sup>a</sup>	8,01±0,05 <sup>b</sup>	8,40±0,01 <sup>d</sup>	8,45±0,02 <sup>e</sup>	8,19±0,00 <sup>c</sup>	8,16±0,03 <sup>d</sup>
<b>T2</b>	8,39±0,02 <sup>d</sup>	8,17±0,08 <sup>c</sup>	8,37±0,01 <sup>c</sup>	8,19±0,01 <sup>cd</sup>	9,24±0,01 <sup>f</sup>	8,77±0,19 <sup>e</sup>	8,52±0,01 <sup>f</sup>
<b>FJJW2</b>	8,41±0,02 <sup>d</sup>	8,46±0,05 <sup>d</sup>	9,24±0,03 <sup>e</sup>	9,09±0,00 <sup>e</sup>	9,41±0,04 <sup>g</sup>	9,04±0,04 <sup>f</sup>	9,04±0,04 <sup>g</sup>
<b>CM14</b>	8,01±0,05 <sup>b</sup>	8,53±0,01 <sup>d</sup>	8,54±0,01 <sup>d</sup>	7,39±0,09 <sup>b</sup>	7,49±0,01 <sup>b</sup>	8,09±0,00 <sup>bc</sup>	8,29±0,01 <sup>e</sup>
<b>Průměr</b>	7,98±1,12 <sup>a</sup>	8,02±0,86 <sup>a</sup>	8,24±0,56 <sup>a</sup>	7,87±0,76 <sup>a</sup>	8,26±0,82 <sup>a</sup>	8,21±0,65 <sup>a</sup>	8,08±0,60 <sup>a</sup>

Pozn.: Všechny hodnoty jsou průměry (v log KTJ/g) ze 3 měření ± směrodatná odchylka. Hodnoty ve sloupcích se statisticky liší (hladina významnosti  $P < 0,05$ ).

V tabulce 10 je porovnání určitého kmene ve všech výživách po údcích. Hodnoty se statisticky významně liší. *Clostridium* 1 (TMM1) roste nejmén v Nutridrinku Jahoda a nejvíce ve Fresubinu Jahoda. *Clostridium butyricum* 2 (CM11) roste nejmén v NutriDrinku Neutral a nejvíce ve Fresubinuokoláda. *Clostridium butyricum* 3 (FW2) roste nejmén v Nutridrinku Compact a nejvíce v NutriDrinku Neutral. *Clostridium*



*butyricum* 4 (KA) rostl nejmén ve Fresubinu okoláda a nejlépe v Nutridrinku Vanilka. *Clostridium butyricum* 5 (T2) rostl nejmén ve Fresubinu okoláda a nejvíce v Nutridrinku Vanilka. *Clostridium butyricum* 6 (FJJW2) rostl nejmén v Nutridrinku Neutral a nejlépe v Nutridrinku Vanilka. *Clostridium butyricum* 7 (CM14) rostl nejmén v Nutridrinku Compact a nejlépe ve Fresubinu Neutral.

**Tabulka 10: Porovnání uritých kmenů na různých výživách**

	N. Neutral	F. okoláda	F. Neutral	N. Compact	N. Vanilka	F. Jahoda	N. Jahoda
<b>TM1</b>	8,13±0,01 <sup>CD</sup>	8,10±0,06 <sup>BCD</sup>	8,06±0,02 <sup>ABCD</sup>	7,94±0,59 <sup>ABC</sup>	7,71±0,02 <sup>AB</sup>	8,39±0,03 <sup>D</sup>	7,68±0,04 <sup>A</sup>
<b>CM11</b>	5,56±0,24 <sup>A</sup>	7,62±0,04 <sup>E</sup>	7,43±0,05 <sup>D</sup>	7,25±0,05 <sup>C</sup>	7,34±0,00 <sup>CD</sup>	7,01±0,01 <sup>B</sup>	7,36±0,02 <sup>CD</sup>
<b>FW2</b>	9,11±0,03 <sup>F</sup>	8,94±0,06 <sup>E</sup>	8,00±0,06 <sup>C</sup>	6,85±0,06 <sup>A</sup>	8,18±0,04 <sup>D</sup>	8,00±0,01 <sup>C</sup>	7,54±0,08 <sup>B</sup>
<b>KA</b>	8,26±0,02 <sup>D</sup>	6,30±0,00 <sup>A</sup>	8,01±0,05 <sup>B</sup>	8,40±0,01 <sup>E</sup>	8,45±0,02 <sup>F</sup>	8,19±0,00 <sup>C</sup>	8,16±0,03 <sup>C</sup>
<b>T2</b>	8,39±0,02 <sup>BC</sup>	8,17±0,08 <sup>A</sup>	8,37±0,01 <sup>B</sup>	8,19±0,01 <sup>A</sup>	9,24±0,01 <sup>E</sup>	8,77±0,19 <sup>D</sup>	8,52±0,01 <sup>C</sup>
<b>FJJW2</b>	8,41±0,02 <sup>A</sup>	8,46±0,05 <sup>A</sup>	9,24±0,03 <sup>D</sup>	9,09±0,00 <sup>C</sup>	9,41±0,04 <sup>E</sup>	9,04±0,04 <sup>BC</sup>	9,04±0,04 <sup>B</sup>
<b>CM14</b>	8,01±0,05 <sup>C</sup>	8,53±0,01 <sup>F</sup>	8,54±0,01 <sup>F</sup>	7,39±0,09 <sup>A</sup>	7,49±0,01 <sup>B</sup>	8,09±0,00 <sup>D</sup>	8,29±0,01 <sup>E</sup>

Pozn.: Všechny hodnoty jsou průměry (v log KTJ/g) ze 3 měření ± směrodatná odchylka. Hodnoty v ádčích se statisticky liší (hladina významnosti P < 0,05).

V tabulce . 11 jsou zaznamenány průměry růstu bakterií, rozbor 0 hodin ukazuje inkulaci dávku bakterií. Hodnota se pohybuje od 2,46 do 4,44 log KTJ/g. Rozbor 24 hodin je z mikrotitrací destičky, kdy byly bakterie očkované do agaru Wilkins-Chalgren se sójovým peptonem. Hodnota se pohybuje od 7,43 do 9,18 log KTJ/g. Dále je v tabulce hodnota pH, která je v rozmezí od 6,1 do 6,7.

**Tabulka 11: Kontrola růstu klostridií na Wilkins-Chalgrenu se sójovým peptonem**

	0 hodin	24 hodin	pH
<b>TM1</b>	3,89±0,01	9,09±0,00	6,2
<b>CM11</b>	2,46±0,23	7,43±0,37	6,5
<b>FW2</b>	4,34±0,19	9,18±0,07	6,3
<b>KA</b>	3,34±0,39	8,36±0,47	6,7
<b>T2</b>	4,34±0,08	8,16±0,32	6,1
<b>FJJW2</b>	4,44±0,13	8,91±0,06	6,1
<b>CM14</b>	4,27±0,00	8,64±0,00	6,5

Pozn.: Hodnoty 0 a 24 hodin jsou průměry (v log KTJ/g) z více měření ± směrodatná odchylka. Hodnota pH je průměr ze 3 měření.

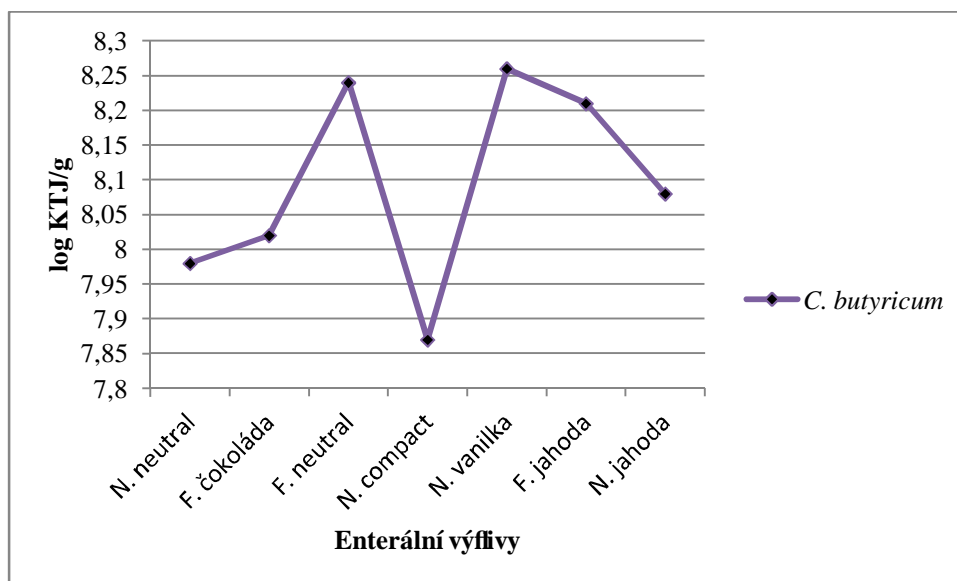
V tabulce . 12 jsou zaznamenány hodnoty pH po kultivaci klostridií, jedná se o průměry ze 3 měření ± SD. Hodnoty pH se pohybují od 4,5 do 6,8.

**Tabulka 12: Změněné hodnoty pH po kultivaci klostridií**

	N. Neutral	F. čokoláda	F. Neutral	N. Compact	N. Vanilka	F. Jahoda	N. Jahoda
<b>TM1</b>	4,5±0,05	4,6±0,00	4,9±0,00	4,9±0,09	4,7±0,00	4,7±0,00	4,6±0,00
<b>CM11</b>	6,5±0,00	6,4±0,05	6,2±0,00	6,7±0,00	6,3±0,05	6,8±0,00	6,1±0,00
<b>FW2</b>	5,2±0,08	4,8±0,05	5,3±0,00	5,1±0,00	4,8±0,09	5,0±0,00	4,7±0,08
<b>KA</b>	4,9±0,09	6,4±0,00	5,1±0,00	6,5±0,00	4,8±0,05	4,9±0,09	4,6±0,05
<b>T2</b>	5,1±0,05	4,7±0,00	4,7±0,12	4,8±0,05	4,7±0,00	4,8±0,08	4,7±0,05
<b>FJJW2</b>	5,0±0,13	4,7±0,05	5,0±0,14	5,1±0,09	5,0±0,00	5,1±0,19	4,9±0,05
<b>CM14</b>	5,0±0,00	6,6±0,05	5,5±0,00	5,1±0,09	4,5±0,08	5,2±0,09	4,7±0,00

Pozn.: Všechny hodnoty jsou průměry ze 3 měření (v log KTJ/g) ± směrodatná odchylka.

**Graf 2: Známkování průměrného růstu klostridií**



### 5.3 Porovnání růstu bakterií v enterálních výživách

V tabulce . 13 jsou zaznamenány růsty 7 kmenů bifidobakterií a 7 kmenů klostridií, jejich průměry byly porovnány pomocí T-testu. Bylo zjištěno, že průměrný růst bifidobakterií a klostridií v enterálních výživách se statisticky liší.

**Tabulka 13: Porovnání růstu bifidobakterií a klostridií na enterálních výživách pomocí T-testu**

1)	5,28±1,03	5,21±1,00	6,68±1,34	7,36±0,46	7,15±1,32	7,36±1,19	8,59±0,46	<b>6,80±1,12</b>
2)	8,00±0,30	7,08±0,67	8,09±0,74	7,97±0,71	8,52±0,36	8,96±0,36	8,05±0,44	<b>8,10±0,53*</b>

Pozn.: 1) bifidobakterie, 2) klostridie. V-echny hodnoty jsou pr m ry (v log KTJ/g)  $\pm$  sm rodatná odchylka.

\* Hodnoty se statisticky li-í (hladina významnosti  $P < 0,05$ ).

#### 5.4 Porovnání r stu bakterií v enterálních výřivách a bujónu

V **tabulce . 14** jsou zaznamenány pr m rné hodnoty r stu bifidobakterií ve v-ech enterálních výřivách a ve Wilkins-Chalgren bujónu se sójovým peptonem. Hodnoty se statisticky nelí-í u kmene BV. Pr m rn v enterálních výřivách nejmén rosl BB12 a nejlépe BV. Ve Wilkins-Chalgren bujónu nejlépe rosl kmen BB12 a nejmén JOV.

**Tabulka 14: Porovnání r stu bifidobakterií v enterálních výřivách a Wilkins-Chalgren bujónu pomocí T testu**

	DAN	BB12	BM	JKM	JOV	TP1	BV
<b>EV</b>	5,28 $\pm$ 1,03	5,21 $\pm$ 1,00	6,68 $\pm$ 1,34	7,36 $\pm$ 0,46	7,15 $\pm$ 1,32	7,36 $\pm$ 1,19	8,59 $\pm$ 0,46
<b>W+SP</b>	9,11 $\pm$ 0,17*	9,17 $\pm$ 0,20*	8,57 $\pm$ 0,39*	8,38 $\pm$ 0,27*	8,19 $\pm$ 0,32*	8,41 $\pm$ 0,17*	8,55 $\pm$ 0,43

Pozn.: V-echny hodnoty jsou pr m ry (v log KTJ/g)  $\pm$  sm rodatná odchylka. \*Hodnoty ve sloupcích se statisticky li-í (hladina významnosti  $P < 0,05$ ).

V **tabulce . 15** jsou zaznamenány r sty klostridií ve v-ech enterálních výřivách a ve Wilkins-Chalgren bujónu se sójovým peptonem. Hodnoty se statisticky li-í u kmen <sup>TM</sup>M1, FW2, T2 a CM14. V enterálních výřivách nejlépe rosl FJJW2, naopak nejmén CM11. Na Wilkinsu se sójovým peptonem nejlépe rosl FW2, nejmén CM11.

**Tabulka 15: Porovnání r stu klostridií v enterálních výřivách a Wilkins-Chalgren bujónu pomocí T testu**

	<sup>TM</sup> M1	CM11	FW2	KA	T2	FJJW2	CM14
<b>EV</b>	8,00 $\pm$ 0,30	7,08 $\pm$ 0,67	8,09 $\pm$ 0,74	7,97 $\pm$ 0,71	8,52 $\pm$ 0,36	8,96 $\pm$ 0,36	8,05 $\pm$ 0,44
<b>W+SP</b>	9,09 $\pm$ 0,00*	7,43 $\pm$ 0,37	9,18 $\pm$ 0,07*	8,36 $\pm$ 0,47	8,16 $\pm$ 0,32*	8,91 $\pm$ 0,06	8,64 $\pm$ 0,27*

Pozn.: V-echny hodnoty jsou pr m ry (v log KTJ/g)  $\pm$  sm rodatná odchylka. \*Hodnoty ve sloupcích se statisticky li-í (hladina významnosti  $P < 0,05$ ).

## 5.5 Porovnání růstu bakterií ve Wilkins-Chalgren bujónu se sójovým peptonem

V tabulce 16 jsou zaznamenány průměrné růsty 7 kmenů bifidobakterií a 7 kmenů klostridií. Tyto průměry byly statisticky vyhodnoceny pomocí T-testu. Bylo zjištěno, že průměrný růst bifidobakterií ve Wilkins-Chalgren bujónu se neliší od průměrného růstu klostridií.

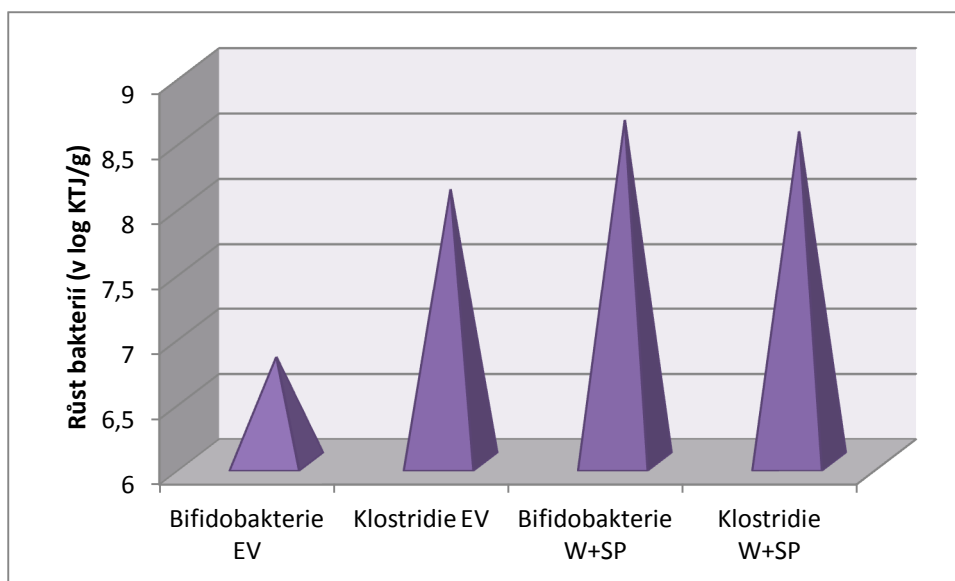
Tabulka 13: Porovnání růstu bakterií ve Wilkins-Chalgren bujónu pomocí T-testu

1)	9,11±0,17	9,17±0,20	8,57±0,39	8,38±0,27	8,19±0,32	8,41±0,17	8,55±0,43	<b>8,36±0,35</b>
2)	9,09±0,00	7,43±0,37	9,18±0,07	8,36±0,47	8,16±0,32	8,91±0,06	8,64±0,27	<b>8,54±0,60</b>

Pozn.: 1) bifidobakterie, 2) klostridie. \*Hodnoty se statisticky neliší (hladina významnosti  $P < 0,05$ ).

## 5.6 Grafické znázornění průměrného růstu bakterií

Graf 3: Průměrný růst bakterií v enterálních výfivách a ve Wilkins-Chalgren bujónu



Pozn.: EV – enterální výfivky, W + SP – Wilkins-Chalgren bujón se sójovým peptonem.

## 6 DISKUZE

Hypotézou bakalářské práce je, že by enterální vliv měla podporovat růst probiotických bakterií (bifidobakterií), tedy těch, které působí pozitivně na gastrointestinální trakt člověka. Ideální by bylo, kdyby enterální vliv potlačoval růst potenciálně škodlivých mikroorganismů (klostridií). Při testování růstu bakterií ve sterilních enterálních vlivech bylo zjištěno, že vliv podporuje růst bifidobakterií, ale bohužel i klostridií.

Bifidobakterie se používají jako probiotika, součástí mléčných fermentovaných výrobků, ale i různých tablet. Cílem je, aby se dostaly až do tlustého střeva v maximálním množství po tu. Bifidobakterie používané jako probiotika jsou především zvířecího (*Bifidobacterium animalis*), ale také lidského (*Bifidobacterium longum*, *B. bifidum*).

Vysoká citlivost kmenů rodu *Bifidobacterium* na kyselé prostředí zhoršuje přežívání v nepříznivých podmínkách, jako například v žaludku. Kyselé prostředí fermentovaných výrobků omezuje početlivých probiotických kultur (Sanz, 2007).

*Bifidobacterium animalis* je mnohem odolnější než *Bifidobacterium longum*, proto se používá do mléčných fermentovaných výrobků. Podle studie Rada (1997) je hodnota růstu u *Bifidobacterium animalis* BB12 (dříve označováno jako *B. bifidum* 93) v kravském mléce po 175 dnech 5,77 log KTJ/g, zatímco *Bifidobacterium longum* po pouhých 3 dnech 5,2 log KTJ/g.

*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 1 (DAN) a 2 (BB12) vyizolované z jogurtu vykazovaly nejvyšší růst v 6 vlivech. Nejlépe rostl kmen *Bifidobacterium longum* 2 (BV) vyizolovaný z probiotik, na 6 ze 7 vlivů. Průměrný růst *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* je v rozmezí 4,15 log KTJ/g ve Fresubinu až do 6,26 log KTJ/g v Nutridrinku Compact. Průměrný růst *Bifidobacterium bifidum* a *longum* je v rozmezí 6,02 log KTJ/g v Nutridrinku Compact až do 7,91 log KTJ/g ve Fresubinu až do 7,91 log KTJ/g. Můžeme tedy říci, že *Bifidobacterium bifidum* a *longum* rostou v enterálním vlivu lépe než *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. Podle T-testu bylo zjištěno, že průměrný růst *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* a *Bifidobacterium bifidum* a *longum* se statisticky významně liší.

Růst bifidobakterií v enterálním vlivu se podobá růstu bifidobakterií v mateřském mléce. Růst animálních kmenů DAN je 4,55 log KTJ/ml a BB12 je 5,02 log KTJ/ml. Zatímco růst *Bifidobacterium bifidum* je vyšší. U kmene BM je 7,93 log KTJ/ml, u JKM je 7,53 log

KTJ/ml (Rada et al., 2010). Rockova et al. (2011) potvrzují nižší růst *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB12 a DAN) oproti růstu ostatních bifidobakterií. U jednoho z testovaných vzorků mateřských mlék bylo otestováno otestováno  $10^6$  bakterií, po kultivaci byl zjištěn růst u DAN 4,74 log KTJ/ml a BB12 3,20 log KTJ/ml, bakterie tedy byly inhibovány. Kmen *Bifidobacterium longum* rostl okolo 6 log KTJ/ml a *Bifidobacterium bifidum* rostl přes 7 log KTJ/ml.

Kmen *Clostridium butyricum* 2 (CM11) vykazoval nejmenší růst na 5 výživách. Naopak nejlépe rostl *Clostridium butyricum* 6 (FJJW2), na 5 výživách. Průměrný růst klostridií se pohyboval v rozmezí 7,87 log KTJ/g ve výživě Nutridrink Compact až do 8,26 log KTJ/g v Nutridrinku Vanilka.

Klostridie rostly v enterální výživě velmi dobře, jejich růst se podobá růstu v kravském mléce. Rozmezí růstu v kravském mléce je od 6,66 do 8,69 log KTJ/ml, oproti tomu v mateřském mléce se růst pohyboval od 3,00 do 8,36 log KTJ/ml. Ovšem růst 3 z 5 kmenů klostridií se pohyboval okolo 3 log KTJ/ml (Rockova et al., 2011).

Podle výzkumu Rada et al. (2008) bylo zjištěno, že jsou asná prebiotika podporují růst bifidobakterií i klostridií, ve stejné míře. Průměrný růst klostridií byl nejnižší u Vivinalu, nejvyšší růst byl zaznamenán u Raffinosy. Přídavek prebiotik do detských výživ může mít za následek podpoření růstu nežádoucích klostridií ve stěvech.

Růst bifidobakterií na enterální výživě je nižší než ve Wilkins-Chalgren bujónu se sójovým peptonem. U kmene BV se hodnoty podobají, v enterální výživě je růst 8,59 log KTJ/g a ve Wilkins-Chalgren bujónu 8,55 log KTJ/g. U klostridií se růst podobá u kmene FJJW2, v enterální výživě je růst 8,96 log KTJ/g a ve Wilkins-Chalgren bujónu 8,91 log KTJ/g.

Růst bifidobakterií v enterálních výživách je oproti růstu klostridií nižší. U bifidobakterií je průměrný růst 6,80 log KTJ/g, u klostridií 8,10 log KTJ/g. Hodnoty se statisticky liší.

Růst bifidobakterií a klostridií ve Wilkins-Chalgren bujónu se statisticky neliší. U bifidobakterií je 8,63 log KTJ/g, u klostridií 8,54 log KTJ/g.

Bifidobakterie jsou pro lidský organismus prospěšné, zatímco klostridie v těle nejsou. V diplomové práci bude testován růst bakterií v enterální výživě modifikované o lysozym (E1105). Lysozym je antimikrobiální enzym obsažený v lidských slinách, slzách nebo mateřském mléce, získává se z vaječných bílků. Právě pro jeho antimikrobiální účinek je

používám při výrobě sýrů, kde potlačuje růst *Clostridium butyricum*, což by se mohlo projevit při testování růstu klostridií v enterální výživě. Podle předběžných výsledků budou testovány i další aditiva do enterální výživy. Dále bude prováděno testování růstu ostatních střevních bakterií, případně komplexní mikrobioty pacientů, kteří užívají enterální výživu.

Kdyby růst bakterií probíhal v gastrointestinálním traktu stejně jako v laboratorních podmínkách, došlo by k nárůstu počtu mikroorganismů vlivem enterální výživy, která je pro mikroorganismy zdrojem cukru, tedy energie. Whelan et al. (2009) sledovali střevní mikrobiotu skupiny 20 lidí přijímající enterální výživu po dobu 14 dnů. Na počátku období byl průměrný růst bifidobakterií 9,1 log KTJ/g, ve středu a na konci období 9,0 log KTJ/g. V případě klostridií došlo k poklesu z 10 log KTJ/g na počátku období na 9,9 log KTJ/g ve středu a na konci období.

Enterální výživa je používána při léčbě Crohnovy choroby. Andoh et al. (2008) zjistili pomocí T-RFLP analýzy, že u pacientů s Crohnovou chorobou je množství druhů klostridií sníženo, oproti zdravým lidem. Zároveň mají vyšší počet *Bacteroides* a *Enterobacteriaceae*. Právě toto, může být způsobeno elementární stravou. Podle výzkumu Leacha et al. (2008) došlo u pacientů s Crohnovou chorobou na exkluzivní enterální výživě ke změně střevní mikrobioty. Exkluzivní enterální výživa může zmírnit závažnost přes modulaci střevních druhů *Bacteroides*, při zmírnění závažnosti a onemocnění dochází ke snížení počtu.

## 7 ZÁVĚR

- Kmeny bifidobakterií zvířecího původu (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 1 a 2) rostou v enterální výflivě, nejlépe kmeny lidského původu (*Bifidobacterium bifidum* a *longum*).
- Nejméně rostl kmen *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 2 (BB12), na čtyřech výflivách.
- Nejlepší růst na všech výflivách byl pozorován u kmene *Bifidobacterium longum* 2 (BV), na pěti výflivách.
- Nejméně přimrně rostly *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* ve Fresubinu okoláda a nejvíce v Nutridrinku Compact.
- Přimrně růst bakterií *Bifidobacterium bifidum* a *longum* byl nejníže v Nutridrinku Compact a nejvyšší ve Fresubinu okoláda.
- Nejméně rostl kmen *Clostridium butyricum* 2 (CM11), na pěti výflivách.
- Nejlépe rostl kmen *Clostridium butyricum* 6 (FJJW2), na pěti výflivách.
- Přimrně růst sedmi kmenů *Clostridium butyricum* je nejníže v Nutridrinku Compact a naopak nejvyšší v Nutridrinku Vanilka.
- Přimrně růst klostridií a bifidobakterií v enterálních výflivách se statisticky liší.
- Přimrně růst klostridií a bifidobakterií ve Wilkins-Chalgren bujónu se statisticky neliší.



## **8 SEZNAM ZKRATEK**

CFU ó colony forming unit

Fru ó fruktosa

Gal ó galaktosa

Glu ó glukosa

KTJ ó kolonie tvo ící jednotku

ssp ó subspecies

## 9 ZDROJE

- Andoh, A., Tsujikawa, T., Sasaki, M., Mitsuyama, K., Suzuki, Y., Matsui, T., Matsumoto, T., Benno, Y., Fujiyama, Y. 2009. Faecal microbiota profile of Crohn's disease determined by terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 29 (1). 75-82.
- Berg, R. D. 1996. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends in Mikrobiologie*. 4 (11). 430-435.
- Biavati, B., Mattarelli, P. 2006. The Family Bifidobacteriaceae. *The Prokaryotes*. 3. 322-382.
- Bleichner, G., Blehaut, H., Mentec, H., Moyse, D. 1997. *Saccharomyces boulardii* prevents diarrhea in critically ill tube-fed patients. *Intensive Care Medicine*. 23 (5). 517-523.
- Bolotin, A., Quinquis, B., Renault, P., Sorokin, A., Ehrlich, S. D., Kulakauskas, S., Lapidus, A., Goltsman, E., Mazur, M., Pusch, G. D., Fonstein, M., Overbeek, R., Kyprides, N., Purnelle, B., Prozzi, D., Ngui, K., Masuy, D., Hancy, F., Burteau, S., Boutry, M., Delcour, J., Goffeau, A., Hols, P. 2004. Complete sequence and comparative genome analysis of the dairy bacterium *Streptococcus thermophilus*. *Nature Biotechnology*. 22 (12). 1554-1558.
- Cetkovská, P., Pizinger, K., Törk, J. 2010. *Kofní zm ny u interních onemocn ní*. Grada Publishing a.s. Praha. 248 s. 978-80-247-1004-4.
- Czerucka, D., Piche, T., Rampal, P. 2007. Review article: yeast as probiotics - *Saccharomyces boulardii*. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 26 (6). 767-778.
- Collins, M. D., Gibson, G. R. 1999. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 69 (5). 1052-1057.
- Coppa, G. V., Zampini, L., Galeazzi, T., Gabrielli, O. 2006. Prebiotics in human milk: a review. *Digestive and Liver Disease*. 38. 291-294.
- Danone Nutricia. Na-e p ípravky [online]. Nutricia Advanced Medical Nutrition. 2014. [cit. 2014-12-20]. Dostupné z <<http://www.nutriciamedical.cz/enteralni-vyziva-k-popijeni-pro-dospele/diagnozy.htm>>.

- East, J. W., Nakayama, T. O. M., Parkman, S. 1972. Changes in Stachyose, Raffinose, Sucrose, and Monosaccharides During Germination of Soybean. *Crop Science*. 12 (1). 7-9.
- Floriánková, M. 2014. Zdravý životní styl a jídelní ek pro seniory. Fragment. Praha. 168 s. 978-80-253-2031-0.
- Fri , P. 2005. Probiotika v terapii chorob trávicího ústrojí. *Interní medicína pro praxi*. 10. 434-437.
- Fric, P. 2007. Probiotics and prebiotics - renaissance of a therapeutic principle. *Central European Journal of Medicine*. 2 (3). 237-270.
- Fuller, R. 1992. History and development of probiotics. *Probiotics*. 1-8.
- Gardiner, G. E., Ross, R. P., Wallace, J. M., Scanlan, F. P., Jägers, P. P., Fitzgerald, G. F., Collins, J. K., Stanton, C. 1999. Influence of a probiotic adjunct culture of *Enterococcus faecium* on the quality of cheddar cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47 (12). 4907-4916.
- Gerasimidis, K., McGrogan, P., Garrick, V., Hassan, K., Edwards, Ch. A. 2008. Effect of exclusive enteral nutrition on colonic bacterial activity in paediatric Crohn's disease. *Proceeding of the Nutrition Society*. 67 (8). 425.
- Gibson, G. R., Roberfroid, M. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota - introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*. 125. 1401-1412.
- Goulet, O. 2010. Nutrition in paediatric Crohn's disease. *South African Journal of Clinical Nutrition*. 23 (1). 33-36.
- Gregora, M. 2004. *Výživa malých dětí*. Grada Publishing, a.s. Praha. 95 s. 80-247-9022-X.
- Grönlund, M. M., Lehtonen, O. P., Eerola, E., Kero, P. 1999. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 28 (1). 19-25.
- Hamilton-Miller, J. M. T., Gibson, W., Bruck, W. 2003. Some insights into the derivation and early use so the word 'probiotic'. *British Journal of Nutrition*. 90 (40). 845.

- Harkness, L. 2002. The history of enteral nutrition therapy: from raw eggs and nasal tubes to purified amino acids and early postoperative jejunal delivery. *Journal of the American Dietetic Association*. 102 (3). 399-404.
- Havlík, J., Marounek, M. *živiny a živinové potřeby člověka*. 2012. Tribun EU s.r.o. 131 s. ISBN: 978-80-213-2269-1.
- Holzapfer, W. H., Schillinger, U. 2002. Introduction to pre- and probiotics. *Food Research International*. 35 (2-3). 109-116.
- Kaur, I. P., Chopra, K., Saini, A. 2002. Probiotics: potential pharmaceutical applications. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 15(1). 1-9.
- Kimoto, H., Kurisaki, J., Tsuji, N. M., Ohmomo, S., Okamoto, T. 1999. Lactococci as probiotic strains: adhesion to human enterocyte-like Caco-2 cells and tolerance to low pH and bile. *Letters in Applied Microbiology*. 29 (5). 313-316.
- Klayraung, S., Viernstein, H., Okonogi, S. 2009. Development of tablets containing probiotics: effects of formulation and processing parameters on bacterial viability. *International Journal of Pharmaceutics*. 370 (1). 54-60.
- Lata, J., Juránková, J. 2011. Střevní mikroflóra, slizniční bariéra a probiotika u některých interních chorob. *Interní medicína pro praxi*. 13 (2). 63-69.
- Leach, S. T., Mitchell, H. M., Eng, W. R., Zhang, L., Day, A. S. 2008. Sustained modulation of intestinal bacteria by exclusive enteral nutrition used to treat children with Crohn's disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 28 (6). 724-733.
- Leibniz-Institut DSMZ- German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Germany. Prokaryotic Nomenclature Up-to-date [2015-02]. Dostupné z <<http://www.dsmz.de/bacterial-diversity/prokaryotic-nomenclature-up-to-date.html>>.
- Lionetti, P., Callegari, M. L., Ferrari, S., Cavicchi, M. C., Pozzi, E., de Martino, M., Morelli, L. (2005). Enteral nutrition and microflora in pediatric Crohn's disease. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 29 (4). 173-178.
- Macfarlane, G. T., Macfarlane S. 2012. Bacteria, Colonic Fermentation, and Gastrointestinal Health. *Journal of AOAC International*. 95 (1). 50-60.

- Malchow, H. A. 1997. Crohn's Disease and Escherichia coli: A New Approach in Therapy to Maintain Remission of Colonic Crohn's Disease? *Journal of Clinical Gastroenterology*. 25 (4). 653-658.
- Mantere-Alhonen, S. 1995. Propionibacteria used as probiotics-A review. *Le Lait*. 75 (4-5). 447-452.
- Me nikov, I. 1907. The prolongation of life. *Optimistic Studies*. William. Heineman, London.
- Milenkovi , M. 2007. Microorganisms and humans. *Arhiv za farmaciju*. 57 (4-5). 231-238.
- Nissle, A. 1918. Die antagonistische Behandlung chronischer Darmstörungen mit Colibakterien. *Medizinische Klinik*. (2). 29-30.
- Olano, A., Corzo, N. 2009. Lactulose as a food ingredient. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 89 (12). 1987-1990.
- Ouwehand, A. C., Salminen, S., Isolauri, E. 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 82 (1-4). 279-289.
- Parvez, S., Malik, K. A., Kang, S. A., Kim H. Y. 2006. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*. 100 (6). 1171-1185.
- Qiu, X., Zhang, M., Yang, X., Hong, N., Yu, C. 2013. *Faecalibacterium prausnitzii* upregulates regulatory T cells and anti-inflammatory cytokines in treating TNBS-induced colitis. *Journal of Crohn's and Colitis*. 7 (11). 558-568.
- Rada, V. 1997. Effect of *Kluyveromyces marxianus* on the growth and survival of bifidobacteria in milk. *Folia microbiologica*. 42 (2). 145-148.
- Rada, V., Nevoral, J., Trojanová, I., Tománková, E., Těmehilová, M., Killer, J. 2008. Growth of infant faecal bifidobacteria and clostridia on prebiotic oligosaccharides in in vitro conditions. *Anaerobe*. 14 (4). 205-208.
- Rada, V., Splichal, I., Rockova, S., Grmanova, M., Vlkova, E. 2010. Susceptibility of bifidobacteria to lysozyme as a possible selection criterion for probiotic bifidobacterial strains. *Biotechnology letters*. 32 (3). 451-455.

- Rada, V., Vlková, E., Nevoral, J., Trojanová, I. 2006. Comparison of bacterial flora and enzymatic activity in faeces of infants and calves. *FEMS microbiology letters*. 258 (1). 25-28.
- Roberfroid, M. B. 1998. Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. *The British Journal of Nutrition*. 80 (4). 197-202.
- Roberfroid, M. 2007. Prebiotics: the concept revisited. *The Journal of Nutrition*. 137 (3). 830-837.
- Rockova, S., Rada, V., Marsik, P., Vlkova, E., Bunesova, V., Sklenar, J., Splichal, I. 2011. Growth of bifidobacteria and clostridia on human and cow milk saccharides. *Anaerobe*. 17 (5). 223-225.
- Rockova, S., Nevoral, J., Rada, V., Marsik, P., Sklenar, J., Hinkova, A., Vlkova, E., Marounek, M. 2011. Factors affecting the growth of bifidobacteria in human milk. *International Dairy Journal*. 21 (7). 504-508.
- Rolfe, R. D. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *The Journal of Nutrition*. 130. 396-402.
- Rubio, A., Pigneur, B., Garnier-Lengliné, H., Talbotec, C., Schmitz, J., Canioni, D., Goulet, O., Ruemmele, F. M. 2011. The efficacy of exclusive nutritional therapy in paediatric Crohn's disease, comparing fractionated oral vs. continuous enteral feeding. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 33 (12). 1332-1339.
- Rudolfovská, J., Čurda, L. 2005. Prebiotický účinek oligosacharidů a využití laktosy pro jejich produkci. *Chemické listy*. 99. 168-174.
- Rycroft, C. E., Jones, M. R., Gibson, G. R., Rastall, R. A. 2001. A comparative in vitro evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides. *Journal of Applied Microbiology*. 91 (5). 878-887.
- Sanz, Y. 2007. Ecological and functional implications of the acid-adaptation ability of *Bifidobacterium*: a way of selecting improved probiotic strains. *International Dairy Journal*. 17 (11). 1284-1289.

- Sazawal, S., Hiremath, G., Dhingra, U., Malik, P., Deb, S., Black, R. E. 2006. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. *The Lancet infectious diseases*. 6 (6). 374-382.
- Schneider, S. M., Girard-Pipau, F., Anty, R., van der Linde, E. G., Philipsen-Geerling, B. J., Knol, J., Filippi, J., Arab, K., Hébuterne, X. 2006. Effects of total enteral nutrition supplemented with a multi-fibre mix on faecal short-chain fatty acids and microbiota. *Clinical Nutrition*. 25 (1). 82-90.
- Schrezenmeir, J., de Vrese M. 2001. Probiotics, prebiotics and synbiotics. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 73 (2). 261-264.
- Schultz, M. 2008. Clinical use of *E. coli* Nissle 1917 in inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*. 14 (7). 1012-1018.
- Sokol, H., Pigneur, B., Watterlot, L., Lakhdari, O., Bermudez-Humarán, L. G., Gratadoux, J. J., Langella, P. 2008. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 105 (43). 16731-16736.
- Sýkora, J. 2011. Prebiotika a kojenecká výživa. *Pediatric pro praxi*. 7 (4). 180-183.
- Sýkora, J., Schwarz, J., Stala, K. 2006. Probiotika v d tském v ku. *Pediatric pro praxi*. 7 (5). 264-270.
- Šfránková, A., Nejedlá, M. 2006. *Interní o-et ovatelství I*. Grada Publishing a.s. Praha. 284 s. 978-80-247-1148-5.
- Tannock, G. W. 2004. A Special Foudness for Lactobacilli. *Applied and Environmental Microbiology*. 70 (6). 3189-3194.
- Tissier, H. 1900. *Recherches sur la flora intestinale normale et pathologique du nourrissons*. These de Paris. 1-253.
- Thomas, D. W., Greer, F. R. 2010. Probiotics and prebiotics in pediatrics. *Pediatrics*. 126 (6). 1217-1231.

Tomí-ka, M. Přípravky enterální klinické výživy [online]. Remedia. 2009. [cit. 2014-10-20]. Dostupné z <<http://www.remedia.cz/Clanky/Prehledy-nazory-diskuse/Pripravky-enteralni-klinicke-vyzivy/6-F-xX.magarticle.aspx>>.

Yuan, Q., Walker, W. A. 2004. Innate Immunity of the Gut: Mucosal Defense in Health and Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*. 38. 463-473.

Winslow, C. E., Broadhurst, J., Buchanan, R. E., Krumwiede Jr, C., Rogers, L. A., Smith, G. H. 1917. The families and genera of the Bacteria: preliminary report of the Committee of the Society of American Bacteriologists on characterization and classification of bacterial types. *Journal of Bacteriology*. 2 (5). 505-566.

Wescombe, P. A., Heng, N. C., Burton, J. P., Chilcott, Ch. N., Tagg, J. R. 2009. Streptococcal bacteriocins and the case for *Streptococcus salivarius* as model oral probiotics. *Future Medicine*. 4 (7). 819-835.

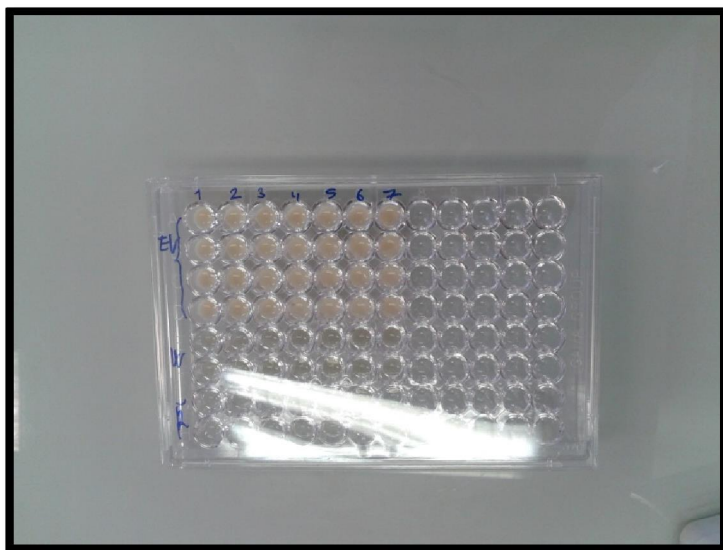
Whelan, K., Judd, P. A., Tuohy, K. M., Gibson, G. R., Preedy, V. R, Taylor, M. A. 2009. Fecal microbiota in patients receiving enteral feeding are highly variable and may be altered in those who develop diarrhea. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 89. 240-247.

Zbořil, V. a kolektiv. 2005. Mikroflóra trávicího traktu: Klinické souvislosti. Grada Publishing a.s. Praha. 156 s. 80-247-0584-2.



## 10 P ÍLOHY

### P íloha 1: Mikrotitra ní desti ka



### P íloha 2: edící ady

