

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



Vliv enterální výživy na střevní mikrobiotu

Bakalářská práce

Autor práce: Klára Schönbeková

Obor studia: Výživa a potraviny

Vedoucí práce: doc. Ing. Věra Neužil Bunešová, Ph.D.

© 2018 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv enterální výživy na střevní mikrobiotu" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20.4.2018

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Věře Neužil Bunešové, Ph.D. za odborné vedení bakalářské práce, vstřícnost, užitečné rady i materiály, které mi poskytla při konzultacích. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Monice Štemberkové za cenné rady a pomoc při práci v laboratoři.

Vliv enterální výživy na střevní mikrobiotu

Souhrn

Střevní mikrobiota je komplexní ekosystém, který má vliv na metabolismus a imunitní systém hostitele. Pro střevní mikrobiotu jsou důležitá probiotika, což jsou živé mikroorganismy, které působí příznivě na střevní mikrobiální rovnováhu hostitele. Mikrobiota jedince lze ovlivnit i prebiotiky, což jsou nestravitelné složky potravy, které zlepšují zdravotní stav hostitele a podporují růst probiotických mikroorganismů. Pokud jedinec nemůže z jakéhokoli důvodu jíst, ale má funkční trávicí trakt, je mu podávána enterální výživa. Enterální výživa je definována jako podávání bilancovaných roztoků do trávicího traktu.

Cílem této bakalářské práce bylo zjistit, jak enterální výživa ovlivňuje růst a množení střevních bakterií v podmínkách *in vitro*. Hypotézou bylo, že různé druhy enterálních výživ s rozdílným složením by měly pomáhat růstu probiotických bakterií (laktobacilů), a zároveň utlumit růst potenciálně patogenních bakterií (*Escherichia coli*).

Růst testovaných střevních bakterií probíhal v mikrotitrační destičce. Bylo napipetováno 10 μ l bakterií (přibližně 10^3 KTJ) do 90 μ l enterální výživy. Po dobu 24 hodin a teplotě 37°C byla mikrotitrační destička anaerobně kultivována. Z mikrotitrační destičky bylo poté změřeno pH pomocí pH papírků a laktát pomocí Reflektoquantu. Dále následovalo kultivační stanovení testovaných kmenů na modifikovaném Wilkins Chalgren agaru. Poté byly narostlé kolonie spočítány, přepočítány na log KTJ/1 ml a výsledky byly statisticky vyhodnoceny. Byl určen statisticky významný rozdíl, což je metoda statistické matematiky, která umožňuje určit danou hypotézu.

Bylo testováno 7 kmenů laktobacilů a 4 kmeny *E. coli* na 4 enterálních výživách. U rodu *Lactobacillus* sp. neexistovaly žádné statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými druhy enterálních výživ. Nejvyšší nárůst laktobacilů byl ve výživě Fresubin Energy Fibre Jahoda ($5,02 \pm 0,00$ log KTJ/1 ml). U *E. coli* byly zjištěny statisticky významné rozdíly u 2 enterálních výživ (NutriDrink Compact Neutral a Fresubin Energy Fibre Jahoda). Nejvyšší nárůst byl u NutriDrink Compact Neutral ($5,29 \pm 0,02$ log KTJ/1 ml) a Fresubin Energy Fibre Jahoda ($4,64 \pm 0,12$ log KTJ/1 ml). Enterální výživa podporuje růst nejen laktobacilů, ale i potenciálně patogenních bakterií *E. coli*.

Klíčová slova: enterální výživa, střevní mikrobiota, laktobacily, *Escherichia coli*, probiotika, prebiotik

The impact of enteral feeding on intestinal microbiota

Summary

Intestinal microbiota is a complex ecosystem that affects metabolism and immune system of the host. Probiotics, living microorganisms which have positive effects on the host intestinal microbial balance, are important for the intestinal microbiota. Microbiota of the host can be also affected by prebiotics, indigestible food components that improve hosts health and promote growth of probiotic micro-organisms. If, for any reason, an individual cannot eat but has a functional digestive tract, enteral nutrition is provided. Enteral nutrition is defined as the administration of balanced solutions to digestive tract.

The aim of this bachelor thesis was *in vitro* study of the enteral nutrition effect on intestinal bacteria growth and reproduction. The hypothesis was that different types of enteral nutrition with different composition should support the probiotic bacteria growth (lactobacilli) and consequently inhibit the growth of potentially pathogenic bacteria (*Escherichia coli*).

Growth of tested intestinal bacteria was carried out in a microtiter plate. 10 µl of bacteria (approximately 10³ KTJ) was pipetted into 90 µl of enteral nutrition. The microtiter plate was cultivated in anaerobic conditions for 24 hours at 37 °C. After cultivation following parameters were measured: pH with pH paper, lactate with Reflectoquant and cultivation assay of tested strains using modified Wilkins Chalgren agar. Grown colonies were counted, converted to log KTJ/1 ml and the results were statistically evaluated. Statistically significant difference was determined, a statistical mathematic method that allows a given hypothesis to be determined.

Seven lactobacilli strains and four *E. coli* strains were tested on four enteral nutritions. Concerning the *Lactobacillus sp.* genus, no statistically significant differences were observed for different types of enteral nutrition. The highest increase of lactobacilli was in Fresubin Energy Fiber Strawberry diet (5.02 ± 0.00 log KTJ/1 ml). For *E. coli*, statistically significant differences were found for two enteral nutrients (NutriDrink Compact Neutral and Fresubin Energy Fiber Strawberry). The highest increase in *E. coli* colonies was observed using NutriDrink Compact Neutral (5.29 ± 0.02 log KTJ/1 ml) and Fresubin Energy Fiber Strawberry (4.64 ± 0.12 log KTJ/1 ml). Enteral nutrition promotes growth not only of lactobacilli but also of potentially pathogenic *E. coli*.

Keywords: enteral nutrition, intestinal microbiota, lactobacilli, *Escherichia coli*, probiotics, prebiotics

OBSAH

1 ÚVOD.....	8
2 CÍL A HYPOTÉZA	9
3 LITERÁRNÍ REŠEŘŠE.....	10
3.1 Střevní mikrobiota.....	10
3.1.1 Definice a funkce	10
3.1.2 Historie zkoumání.....	10
3.1.3 Hlavní druhy střevních bakterií	11
3.1.4 Metabolismus střevních bakterií.....	12
3.1.5 Vývoj střevní mikrobioty.....	13
3.2 Probiotika	15
3.2.1 Definice.....	15
3.2.2 Historie.....	16
3.2.3 Probiotické organismy	16
3.2.4 Příklady probiotických organismů.....	18
3.3 Prebiotika	21
3.3.1 Definice a Historie	21
3.3.2 Kritéria výběru prebiotik	22
3.3.3 Účinky prebiotik	23
3.3.4 Umělá výživa	24
3.4 Enterální výživa	24
3.4.1 Definice.....	24
3.4.2 Indikace enterální výživy.....	24
3.4.3 Typy enterálních přípravků.....	28
4 MATERIÁL METODY.....	29
4.1 Použité kultury	29
4.2 Použité média	30

4.3	Testované enterální výživy	31
4.4	Růst testovaných laktobacilů a <i>E. coli</i> v enterální výživě.....	32
5	VÝSLEDKY.....	35
5.1	<i>Lactobacillus</i>	35
5.2	<i>Escherichia coli</i>	37
6	DISKUZE.....	39
7	ZÁVĚR.....	42
8	ZDROJE.....	43
9	PŘÍLOHY.....	48

1 ÚVOD

Střevní mikrobiota člověka je různorodá mikrobiální komunita, kde můžeme nalézt až 100 triliónů bakterií, které společně poskytují výhody pro naše zdraví. Každý z nás má svoji jedinečnou mikrobiotu, stejně jako tomu je u otisků prstů. Bakterie obsažené ve střevech jsou důležité pro tvorbu vitamínů, zlepšují vstřebatelnost fosforu, vápníku a železa a je zde předpoklad, že chrání před vznikem alergií.

Dříve se prosazoval názor, že pokud budeme mít v nadbytku „hodné“ bakterie jako jsou laktobacily a bifidobakterie, ovlivní to rovnováhu celé mikrobioty. Ovšem tak to není, vliv bakterií na náš organismus ovlivňuje i genetická výbava, která je opět u každého z nás jedinečná. Tudíž osídlení mikrobioty závisí jak na genetice, tak i na věku, pohlaví, životním stylu a naší stravě. Bylo prokázáno, že skladba našeho mikrobiomu může souviset s řadou nemocí. Například za autoimunitní choroby jako například Crohnova nemoc či ulcerózní kolitidu může vymýcení střevních helmintů. Je to tím, že užíváme čím dál častěji antibiotika, pohybujeme se v čím dál více hygieničtějším prostředí, a proto se nedostáváme do kontaktu s tolika mikroorganismy a cizorodými látkami jako dříve. Tím pádem se nám mění složení bakterií ve střevech, což je jedna z příčin proč autoimunitních chorob přibývá. Pacientům s autoimunitními chorobami je podávána enterální výživa. Tedy nutričně přesně podávaná výživa do trávicího traktu nemocného.

2 CÍL A HYPOTÉZA

Hypotézou bakalářské práce je, že růst určitých skupin bakterií bude v enterální výživě odlišný, vzhledem ke složení výživ vyráběných různými producenty.

Cílem práce je zjistit, jak enterální výživa ovlivňuje růst a množení střevních bakterií v podmínkách in vitro.

3 LITERÁRNÍ REŠEŘŠE

3.1 Střevní mikrobiota

3.1.1 Definice a funkce

Střevní mikrobiota je velká a různorodá mikrobiální komunita, která obývá střevní trakt, kde můžeme nalézt až 100 trilionů bakterií a více než 800 odlišných druhů, jenž společně poskytují výhody pro naše zdraví (Rolhion and Chassaing, 2016). Složení mikrobiální komunity je ovlivněno genotypem, stavem imunity, věkem, stravou a prostředím ve kterém žijeme. V důsledku těchto rozdílů má každý hostitel odlišnou střevní mikrobiotu (Montalto et al., 2009).

Hlavní funkce střevní mikrobioty:

- inhibice vstupu a množení patogenních bakterií
- vznik a absorpce vitamínů
- řízení střevního imunitního systému
- ochrana před bakteriální infekcí
- tvorba produktů mikrobioty a jejich účinky na prokrvení střevní sliznice a motility (Zbořil et al., 2005).

3.1.2 Historie zkoumání

První vědecké zdůvodnění výzkumu bakterií, spojené se střevní mikrobiotou, proběhlo v 18. a 19. století. Hlavním představitelem byl francouzský chemik Louis Pasteur, který se stal průkopníkem studia mléčného a alkoholového kvašení. Roku 1857 důsledkem laboratorní nehody objevil chiralitu molekul kyseliny hroznové, tím vznikl nový vědecký obor – stereochemie. Louis Pasteur dále prokázal, že u některých druhů mikroorganismů probíhá kvašení a provedl metodu tepelné pasterace, jenž právě nežádoucím kvašením brání (Gal, 2008). Zabýval se výzkumy o mikrobiálních nemocech a přišel na způsob, jak oslabit mikroorganismy a využít je proti onemocněním. Díky němu bylo v roce 1885 zahájeno očkování proti vzteklině (Zbořil et al, 2005).

Roku 1861 byla vyvrácena teorie samoplození použitím Pasteurových baněk s labutím hrdlem. Provedl experimenty, které prokázaly, že ve sterilním prostředí se mikroorganismy samy od sebe nemnoží (Gillen and Sherwin, 2008).

Dalším důležitým představitelem této doby byl německý vědec Robert Koch, který vyvinul polotuhé kultivační médium. Dále experimentoval s barvením bakterií pomocí anilinových barev, kdy použil Ehrlich methylovou modř a objevil původce tuberkulózy, cholery a sněti slezinné (Blevins and Bronze, 2010).

Rok 1885 byl považován za počátek studií o fyziologii mikrobioty trávicího traktu, a to díky neméně důležitému Theodoru Escherichovi, který popsal *Bacterium coli* nyní *Escherichia coli* (Zbořil et al, 2005). Escherich zkoumal složení střevní mikrobioty u nemocných dětí a zjišťoval, které bakterie tato onemocnění způsobují. Zajímal se také o rozdíly mezi kravským a mateřským mlékem, kde zjistil, že v kravském mléce je vysoký podíl sodíku, a proto není vhodné jako kojenecká výživa (Schulman et al., 2007).

3.1.3 Hlavní druhy střevních bakterií

Střevní mikrobiota dospělého člověka obsahuje přibližně 10–100 bilionů mikrobiálních buněk. Směrem od úst počet mikroorganismů v trávicím traktu stoupá. V tenkém a tlustém střevě je něco okolo 10^{14} mikrobiálních buněk. V jednotlivých částech tlustého střeva jsou nepatrné rozdíly v bakteriálním zastoupení (Kohoutová et Bureš, 2013).

Střevní mikrobiota zahrnuje všechny 3 domény života, (bakterie, archea a eukaryota) stejně tak i viry (Camp et al., 2009).

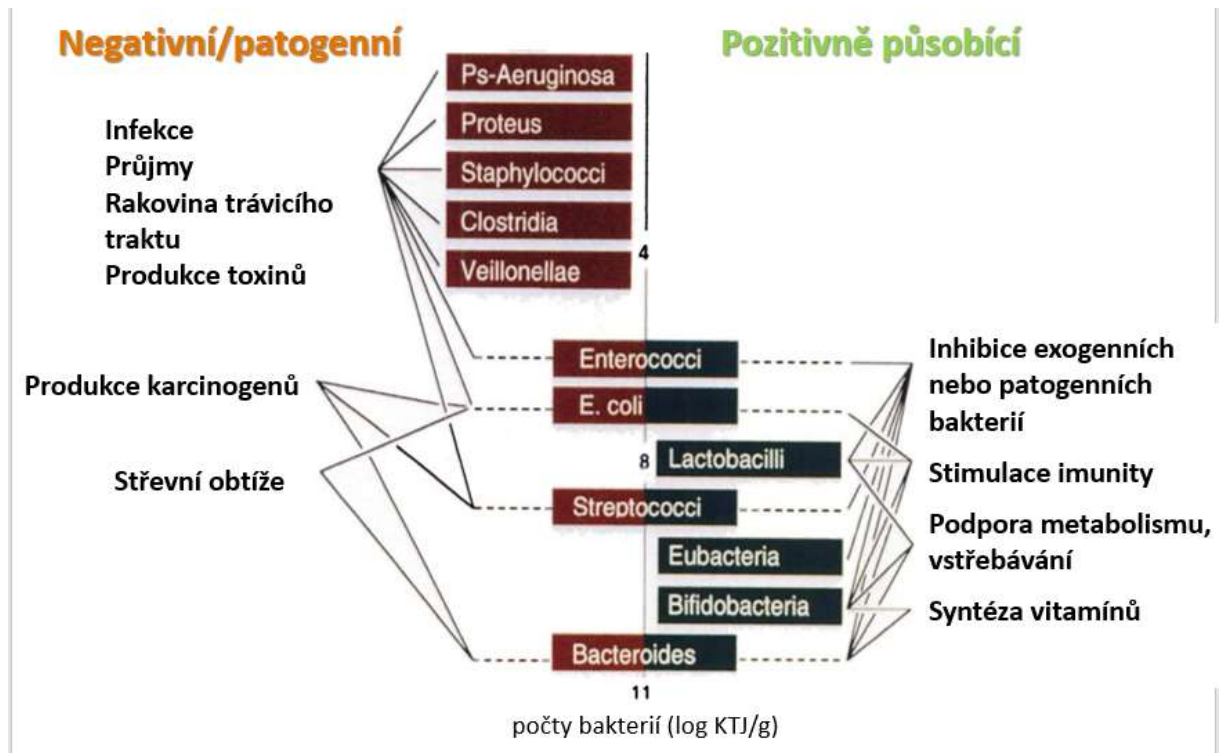
Prokaryotní organismy dále dělíme na anaerobní rody bakterií (*Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Peptococcus*, *Clostridium*, *Fusobacterium*), fakultativně aerobní (*Enterococcus*, *Enterobacteriaceae*) a mikroaerofilní (*Lactobacillus*) (Kohoutová et Bureš, 2013).

V lačníku tenkého střeva jsou především zastoupeny aerobní bakterie, ale můžeme zde nalézt i koliformní a anaerobní bakterie, které se zde vyskytují častěji než v žaludku. Směrem dál, přesněji v kyčelníku tenkého střeva, se vyskytují v malém množství enterobakterie. Dalšími jsou koliformní bakterie, bakteroidy, bifidobakterie, fusobakterie a klostridie. V tlustém střevu se od ileocekální chlopně tvoří 1/3 sušiny výkalů s živými bakteriemi, dále zde dominují *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae* a enterokoky. Ze zástupců anaerobních bakterií zde převládá *Bacteroides fragilis* a *Eubacterium* sp., časté jsou i koky a *Clostridium* sp.

Mikrobiota člověka je velmi rozdílná v odlišných geografických oblastech a velice záleží na stravovacích návycích člověka, jimiž může být ovlivněna.

Všechny mikroorganismy žijící v trávicím traktu člověka, dohromady s imunitním slizničním systémem chrání organismus před patogeny (Lata et Juránková, 2011).

Obrázek 1 Složení převládajících střevních bakterií a jejich účinky na zdraví (Gibson and Roberfroid, 1995)



3.1.4 Metabolismus střevních bakterií

Hlavní metabolické aktivity střevních mikroorganismů jsou spojeny s trávením sacharidů a proteinů. Živiny obsažené v potravě podporují růst střevních organismů, kde můžeme nalézt jak bakterie sacharolytické, tak i hnilobné. Hlavními metabolity katabolismu sacharidů jsou hlavně acetát, propionát a butyrát (Macfarlane and Macfarlane, 2012).

Mastné kyseliny s krátkým řetězcem jsou rychle absorbovány a usnadňují absorpci vody a elektrolytů. Dále jsou velice významným zdrojem acetyl-koenzymu A, který je potřebný při syntéze lipidů a buněčných membrán.

Butyrát je hlavním zdrojem energie pro kolonocyty a předpokládají se u něj protinádorové vlastnosti. Funguje jako dietní faktor, jenž řídí zánětlivou odpověď ve střevním lumenu. Zatímco acetát je metabolizován systémově, a to hlavně ve svalech. Propionát je přepraven do jater, kde je využit k tvorbě ATP (Bláha et Víšek, 2011).

Trávením proteinů vzniká daleko více konečných produktů, jimiž jsou mastné kyseliny, aminy, fenoly, thioly, indoly, CO₂, H₂, H₂S. Velká část mastných kyselin je pohlcena ze střeva a metabolizována v různých tělesných tkáních, což významně přispívá k denní spotřebě energie (Macfarlane and Macfarlane, 2012).

Pro správné fungování střevních bakterií jsou důležité i probiotika, která brání růstu patogenních mikroorganismů. Jedním z významných mechanismů probiotik je produkce antibioticky působících biocinů a přeměna glycidů na laktát, který mění pH ve střevech a tím brání růstu patogenních mikroorganismů (Kostiuk a Kotlářová, 2015).

3.1.5 Vývoj střevní mikrobioty

Gastrointestinální mikrobiota je důležitá pro hostitelovo zdraví tím, že brání množení patogenních látek, dochází k metabolickým procesům a udržuje přirozenou imunitu sliznice. Především na počátku života je důležité složení střevní mikrobioty, která poté ovlivňuje vývoj a zdraví gastrointestinálního traktu. Případná pozitivní manipulace s mikrobiotou v kojeneckém věku může zabránit rozvoji některých nemocí v dospělosti (Thum et al., 2012).

Kolonizace lidského střeva je závislá na mnoha faktorech, mezi něž patří například délka těhotenství, zdravotní stav matky, gestační věk, léčba antibiotiky, způsob a typ krmení dítěte a další. Je vědecky prokázána odlišnost osídlení trávicího traktu u kojenců narozených vaginálním porodem a u kojenců narozených císařským řezem. Kojenci narození vaginálním porodem mají vyšší počet bifidobakterií a laktobacilů, na rozdíl od kojenců narozených císařským řezem, kde kolonizace střev bifidobakteriemi byla opožděna přibližně o měsíc. Dále u kojenců narozených císařským řezem dominují *E. coli* a klostridie, které u starších kojenců mohou způsobit ekzémy a sípání (Musilova et al., 2015).

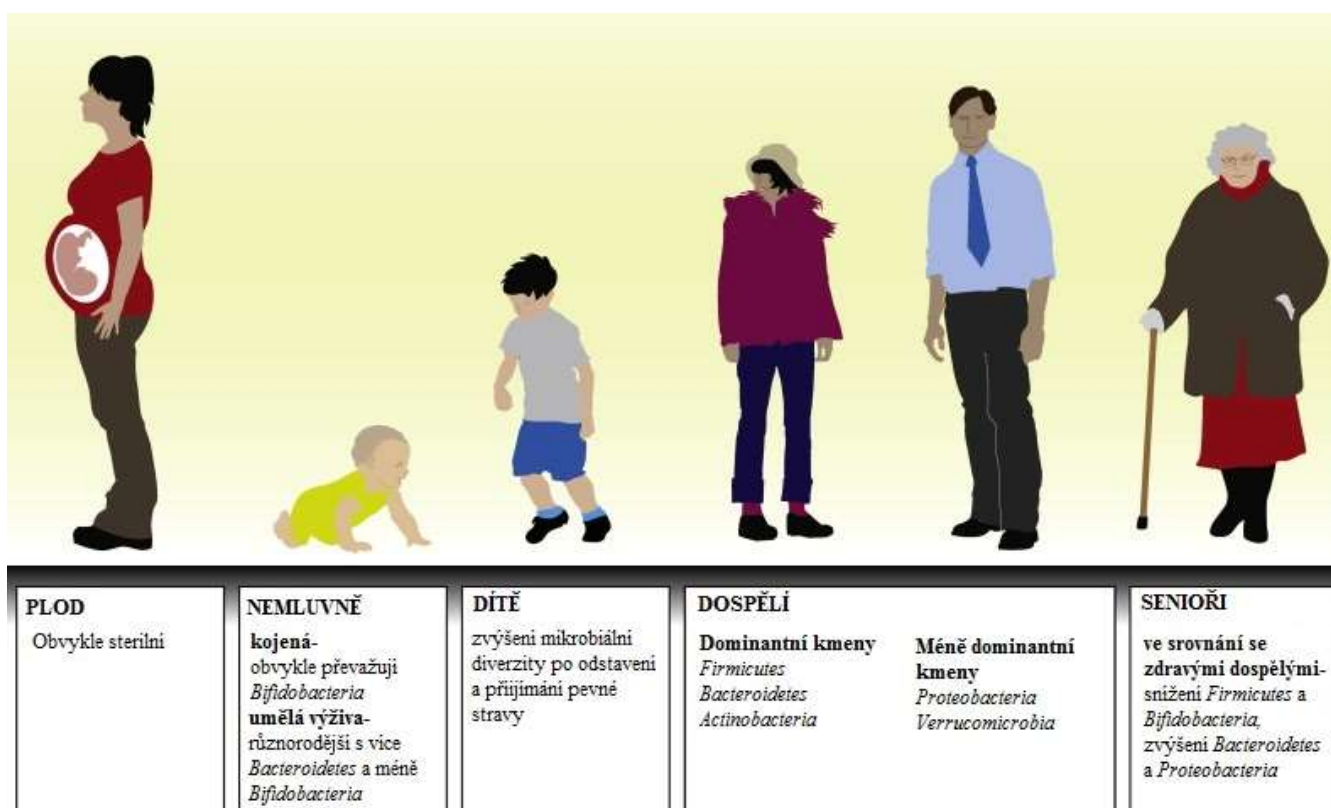
U novorozenců je kolonizační proces zcela ovlivněn kojením. Osídlení střeva mikroby začíná aerobními a fakultativně aerobními druhy, tedy laktobacily a streptokoky. Díky těmto mikrobům se snižuje oxidoredukční potenciál, a tím se střevo kolonizuje anaerobními mikroby, jako jsou rody *Bacteroides* a *Bifidobacterium*. Mezi kojenými a nekojenými dětmi je v mikrobiomu zcela určitě rozdíl, ale ten mizí ihned po odstavení. Po 6. měsíci ubývá bifidobakterií, a naopak přibývá laktobacilů a nekultivovatelných kmenů. Přibližně ve dvou

letech života dítěte, zásluhou odstavení a zavedení další výživy, dochází ke konečnému formování mikrobiomu (Frühauf, 2011).

Narušení mikroflóry v raném dětství může způsobit řadu onemocnění v pozdějším věku (Quigley, 2013).

Celkový pokles zdraví i životních podmínek u stárnoucích lidí může souviset se změnami v jejich mikrobiotě. Mikrobiota u starších lidí nad 65 let vykazuje větší rozdíly než u lidí dospělých či dětí. Podle studií ELDERMET v Irsku a CENIT ve Španělsku, u skupiny lidí nad sto let se v mikroflóře navýšily fakultativní anaeroby, jako jsou *Proteobacteria* a *Bacilli*, dále se snížily bakterie, jako jsou *Faecalibacterium prauznitzii* a klastř *Clostridium*. Bylo také uvedeno, že se u těchto lidí snížila hladina *Bacteroides*, *Bifidobacterium* a *Enterobacteriaceae*, zatímco *Clostridium* spp., byly zvýšené ve srovnání s dospělými (Rodríguez et al., 2015).

Obrázek 2 Zdravá mikrobiota v různých životních fázích (Duncan and Flint, 2013)



Složení střevních bakterií v běžné populaci lidí, lze rozdělit do tří hlavních enterotypů: *Ruminococcus*, *Bacteroides* a *Prevotella*. Každý enterotyp je charakterizován četným zastoupením daného rodu bakterií, po kterých se jednotlivé skupiny jmenují. Jednotlivé enterotypy mohou vysvětlit řadu rizikových onemocnění, jako je rakovina tlustého střeva, obezita a ateroskleróza. Avšak tyto rizika mohou být částečně ovlivněna i stravou a životním

stylem člověka. Například strava bohatá na živočišné tuky a bílkoviny je spojena s převahou rodu *Bacteroides*, což mají zejména pacienti trpící na obezitu. Naopak strava s vyšším obsahem sacharidů může podporovat rozvoj *Prevotella* spp. (Breban, 2016).

3.2 Probiotika

3.2.1 Definice

Probiotika jsou živé mikroorganismy především lidského původu, jenž působí příznivě na střevní mikrobiální rovnováhu hostitele (Frič, 2010). Jsou to přípravky nebo produkty, které pozměňují mikroflóru hostitele a tím působí blahodárnými účinky na zdraví hostitele (Schrezenmeir and de Vrese, 2001).

Principem probiotik je jejich podávání ve formě živých mikroorganismů, což vede ke změně střevní mikroflóry s následným zlepšením zdravotního stavu hostitele. Slouží jako prevence nebo při léčení některých chorob (Frič, 2010).

Roku 2013 Mezinárodní vědecká asociace pro probiotika a prebiotika (ISAPP) uspořádala setkání klinických i vědeckých odborníků, aby projednali oblast probiotik. Znovu přehodnotili koncept definice probiotik, ale s tím, aby zachovali definici FAO (Organizace OSN pro výživu a zemědělství) / WHO pro probiotika s malou gramatickou korekcí: “probiotika jsou živé organismy, které, při podávání v přiměřeném množství, přináší zdraví hostiteli“ (FAO/WHO, 2006). Dále byly vyjasněny nesrovnalosti mezi zprávou odborníků FAO / WHO a jejich pokyny s ohledem na pokrok ve vědě, aby výraz „probiotikum“ bylo užitečné pro spotřebitele při definici různých výrobků na trhu. Byla přijata tato stanoviska:

- Můžou být použity mikrobiální probiotické druhy, které byly prokázány ve správně řízených studiích
- Jakýkoli výrobek s tvrzením „obsahuje probiotika“ musí být dále doložen
- Výrobky, které udržují živé kultury, které jsou tradičně spojeny s fermentovanými potravinami, a pro které neexistují žádné důkazy o přínosu zdraví, kromě probiotik
- Nedefinované, fekální, mikrobiální transplantace, musí být mimo probiotickou složku
- Noví komenzálové zahrnující definované kmeny z lidských vzorků s odpovídajícími důkazy o bezpečnosti a účinnosti jsou „probiotiky“ (Hill et al., 2014).

3.2.2 Historie

Lilly a Stillwellem (1965) použili termín probiotika, jehož význam pochází z řeckého jazyka „pro život“. Popisovali probiotika jako látku vylučovanou jedním organismem, který stimuluje růst druhého organismu, a porovnávali je s antibiotiky. Parker (1974) byl první, kdo použil termín probiotikum, ve smyslu, který se používá i dnes. Tento termín byl definován, jako probiotika organismů a látek, které se podílejí na střevní mikrobiální rovnováze. V této definici o probiotických látkách jsou zahrnovány taktéž látky, jako antibiotika. Roku 1989 se Fuller pokusil zlepšit definici Parkera. Jeho definice zněla, že probiotika jsou živé mikrobiální doplňkové krmivo, které blahodárně působí na střevní mikrobiální rovnováhu hostitele (Schrezenmeir and de Vrese, 2001). Poslední platnou definici probiotik vypracovali společně organizace FAO a WHO roku 2001, která zní: “probiotika jsou živé organismy, které, při podávání v přiměřeném množství, přinášejí zdraví hostiteli“ a tato definice byla přijata a schválena Mezinárodním vědeckým pracovištěm: Asociace pro probiotika a probiotika (Hill et al., 2014).

Ilija Iljič Mečnikov patří mezi zakladatele učení o probiotikách. Byl to ruský mikrobiolog a imunolog, držitel Nobelovy ceny za výzkum imunitního systému. Mečnikov je autorem antibioly, která popisuje schopnost mikroorganismů potlačovat růst jiného mikroorganismu. Mečnikov se nechal inspirovat bulharskými zemědělci, kteří konzumovali velké množství kyselého mléka a dožívali se vysokého věku. Přisuzoval tento účinek mikrobu *Lactobacillus bulgaricus*, který izoloval z tohoto mléka ve 20. století (Frič, 2010).

3.2.3 Probiotické mikroorganismy

Mezi probiotické mikroorganismy jsou řazeny nepatogenní *Escherichia coli*, laktobacily, bifidobakterie, streptokoky, enterokoky a kvasinky *Sascharomyces* (Nevoral, 2005).

Tabulka 1: Nejčastěji používané probiotické mikroorganismy (Nevoral, 2012)

Laktobacily	Gram pozitivní koky	Bifidobakterie	Kvasinkové mikroorganismy
<i>L. acidophilus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. casei rhamnosus</i>	<i>Lactococcus cremoris</i>	<i>B. adolescentis</i>	
<i>L. casei Shirota</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>B. animalis</i>	
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgarius</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>B. infantis</i>	
<i>L. reuteri</i>	<i>Streptococcus diacetylactis</i>	<i>B. longum</i>	
<i>L. brevis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>B. thermophilus</i>	
<i>L. cellobiosus</i>	<i>Escherichie coli</i>		
<i>L. curvatus</i>			
<i>L. fermentum</i>			

Pro použití mikroorganismů jako probiotik, musí být prokázána jejich nezávadnost a použitelnost.

Základní požadavky pro užívání probiotických mikroorganismů:

- Pozitivní vliv na zdraví hostitele
- Zdravotně nezávadné
- Izolace ze stejného živočišného druhu, jako příjemce
- Nesmí být toxické ani patogenní
- Dostatečné množství bakterií, jenž musí přežít v trávicím ústrojí
- Schopnost imunomodulace
- Schopnost kolonizace a adherence
- Stabilita jejich vlastností během transportu a skladování
- Příznivé organoleptické vlastnosti (Nevoral, 2005)

Jednotlivá probiotika se vzájemně liší z genetického hlediska a mají tím pádem různé vlastnosti a funkce jako například:

- Tvorba peptidů s baktericidními účinky
- Regulace funkce střevní bariéry
- Změna funkce střevních epitelů a vyžívání slizniční imunity k inhibici patogenů
- Podmínění k eliminaci toxinů
- Vznik steroidů z cholesterolu
- Vliv na absorpci, motilitu, sekreci ve střevech (Frič, 2010)

3.2.4 Příklady probiotických mikroorganismů

Rod *Lactobacillus*

Laktobacily jsou grampozitivní, mikroaerofilní, nesporulující bakterie, které produkují především kyselinu mléčnou jako konečný produkt fermentace cukrů. Rod *Lactobacillus* zahrnuje velké množství druhů, některé bakterie patří k důležitým v oblasti mikrobiologie potravin, výživy člověka, nebo pro jejich využití jako probiotik (Salvetti et al., 2012). Z taxonomického hlediska rod *Lactobacillus* obsahuje v současné době až 224 druhů a patří do čeledi *Lactobacillaceae* (Euzéby, 2017).

Laktobacily potřebují glukosu jako zdroj uhlíku, který přeměňují na jeden a více produktů.

Existují dva typy bakterií. První jsou homofermentativní bakterie, kde více než 85 % produktu tvoří kyselina mléčná. Pak jsou heterofermentativní bakterie, které tvoří více produktů kvašení, jako jsou kyselina mléčná, oxid uhličitý, etanol a kyselina octová.

Laktobacily jsou důležité při výrobě potravin, které vyžadují mléčné kvašení. Nalezneme je v mléčných výrobcích (jogurt, sýry), zkvašená zelenina (olivy, nakládaná zelenina, zelí), fermentované maso (salám), a kynuté pečivo. Dále je můžeme nalézt v materiálu rostlinného původu, ve zkažených potravinách či trávicím traktu živočichů (Tannock, 2004). V probiotikách se nejčastěji používají laktobacily druhu *Lactobacillus rhamnosus*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. bulgaricus*, *L. cellobiosus*, *L. curvatus*, *L. fermentum*, *L. brevis* (Nevoral, 2012).

Rod *Lactococcus*

Rod *Lactococcus* patří mezi grampozitivní, nepohyblivé, kataláza-negativní koky. Druh *Lactococcus lactis* je tradičně považován za bakterie související s mléčnými produkty. Hrají důležitou roli v mlékárenském průmyslu ve spojitosti s fermentovanými produkty. *L. lactis* lze získat z povrchů rostlin, zvířat, životního prostředí, odpadních vod ze dřevařského průmyslu, nebo z lidských klinických materiálů (Švec and Sedláček, 2008).

Rod *Bifidobacterium*

Bifidobakterie jsou grampozitivní, fakultativně anaerobní, nesporulující bakterie. Přirozeně se vyskytují v trávicím traktu člověka. Nejvíce jsou zastoupeny ve střevech kojenců, v dospělosti jejich počet klesá a pak delší dobu zůstává stabilní, opět se snižuje až ve stáří. Bakterie *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis*, *B. breve*, *B. bifidum* se vyskytují především u kojenců a *B. catenulatum*, *B. adolescentis* a *B. longum* subsp. *longum* převládají zase u dospělých jedinců. Mají prospěšné účinky, proto se používají jako probiotika, která napomáhají lidskému zdraví (Arboleya et al., 2016).

Bifidobakterie metabolizují hexózy za vzniku acetátu a laktátu, produkují kyselinu linolovou konjugovanou s bioaktivní mastnou kyselinou, která má příznivé účinky na hostitele. Bylo zjištěno, že bifidobakterie inhibují kolonizaci střev patogenními mikroorganismy. Dále mají protirakovinné, proti-průjmové a imunostimulační vlastnosti. Pomáhají zmírňovat intoleranci laktózy a mají schopnost snižovat cholesterol v krvi (Felis and Delagllio, 2007).

V současné době podle serveru www.bacterio.net rod *Bifidobacterium* obsahuje až 58 druhů a 10 poddruhů (Euzéby, 2017).

Rod *Streptococcus*

Streptokoky můžeme zařadit mezi aerobní a fakultativně anaerobní grampozitivní koky, které jsou uspořádány ve dvojicích nebo do řetízků. Jsou součástí běžné mikroflóry u člověka i zvířat. Patří mezi nepohyblivé, nesporulující, kulovité nebo vejcovité koky, které mají kapsle s kyselinou hyaluronovou. Pro jejich růst vyžadují obohacené médium, jako je například krevní agar.

Streptokoky můžeme klasifikovat na základě antigenní struktury. Takzvaná Lancefieldova klasifikace je založená na specifické detekce antigenu C, který je v buněčné stěně streptokoků. Tyto streptokoky jsou řazeny do 21 skupin označovaných od A do W (kromě I a J). Většina streptokoků způsobující infekci u lidí patří do skupiny A (Parija, 2012).

Významným streptokokem je *Streptococcus thermophilus*, který je zásadní v potravinářském průmyslu, protože je často používán pro výrobu mléčných výrobků, a je považován za druhý nejčastěji používaný startér po druhu *Lactococcus lactis*. Tato bakterie patří do skupiny termofilních bakterií mléčného kvašení a je používána v kombinaci s *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* nebo *Lactobacillus helveticus* pro výrobu jogurtů a sýrů (Hols et al., 2005).

Escherichia coli

Escherichia coli je gram negativní fakultativně anaerobní bakterie, které netvoří spory. Byla poprvé izolována z výkalů dítěte roku 1885 rakouským pediatrem Theodorem Escherichia. Můžeme ji nalézt v zažívacím traktu lidí i zvířat. Existují *E. coli* kmeny, které jsou neškodné, symbiotické, a jiné, které jsou patogeny lidí a zvířat. Jsou schopné redukovat dusičnany na dusitany, další jejich vlastnost je fermentace glukózy a jiných sacharidů, což vede k produkci kyselin a plynů. *E. coli* se *Shigella* a *Salmonella* mají schopnost fermentovat laktósu. Další kmeny kromě laktósy fermentují D-mannitol, D-sorbitol, maltosu, D-xylosu a D-mannosu (Welch, 2006).

Rod Enterococcus

Enterokoky byly dříve klasifikovány jako skupina D streptokoků. Tyto enterokoky mají však jiné charakteristické rysy, podle kterých byly odděleny od streptokoků.

Charakteristické rysy:

- Uspořádání ve dvojicích v krátkých řetězcích
- Dvojice oválných koků
- Růst v přítomnosti 40 % žluči
- Růst v přítomnosti 6,5 % NaCl
- Růst při 45°C a pH 9,6

Enterococcus má v současné době 56 druhů a 2 poddruhy (Euzéby, 2017). *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* jsou významné druhy, které způsobují infekci u lidí. Enterokoky jsou gram pozitivní, mají kulovitý tvar a jsou uspořádány ve dvojicích v krátkých řetězcích. Kultivují se převážně v teplotním rozmezí 35-37°C, kde kolonie rostou na krevním agaru (Parija, 2012).

Saccharomyces boulardii

Tato kvasinka byla vyizolována v Indočíně z plodů liči a od poloviny 20. století se používá k léčení. *Sacharomyces boulardii* má mnoho vlastností, díky kterým jsou potenciálním probiotickým činidlem, to znamená, že přežívají v gastrointestinálním traktu při optimální teplotě 37°C, a to jak *in vitro*, tak *in vivo*. Dále inhibují růst řady mikrobiálních patogenů (Czerucha et al., 2007).

3.3 Prebiotika

3.3.1 Definice a historie

Roku 1995 byl prvně použit termín „prebiotikum“ Gibsonem a Roberfroidem, kteří definovali prebiotika jako nestravitelné látky, které konzumací příznivě ovlivňují hostitele, a to selektivní stimulací růstu, nebo aktivitou určitých kmenů střevní mikrobioty. Roku 2004 Glenn Gibson navrhuje upravenou verzi definice prebiotik, s tím, že se jedná o selektivně fermentované látky. Následně roku 2007 Marcel Roberfroid zformuloval 3 kritéria pro prebiotické substance:

- Vůči žaludečním kyselinám a hydrolytickým enzymům v trávicím traktu se musí jednat o látky rezistentní
- Musí být fermentovatelné střevními bakteriemi
- Selektivní stimulace růstu a aktivity střevních bakterií, které mají blahodárné účinky na zdravotní stav hostitele (Rada, 2010)

Jednoduše můžeme říct, že prebiotika jsou „potrava“ pro probiotické bakterie (Rada, 2010).

Poprvé, kdy přijde člověk do kontaktu s prebiotiky, se jedná o mateřské mléko nebo mléčnou kojeneckou výživu, která ale nedokáže plně nahradit mateřské oligosacharidy. Nicméně má alespoň příznivé účinky na bifidobakterie ve střevě. Co se týká kojenecké výživy, na trhu jsou často dostupné takové výživy, které jsou obohaceny o různé probiotické druhy bakterií, deriváty oligosacharidů nebo kombinace galaktooligosacharidů s fruktooligosacharidy (Bronský, 2011). V mateřském mléce mají prebiotickou funkci oligosacharidy mateřského mléka, které chrání kojence před bakteriálními a virovými infekcemi, toxiny a plísněmi. Existují studie, podle kterých přítomnost oligosacharidů v mateřském mléce omezuje růst nepříznivých bakterií, a naopak podporuje růst bifidobakterií (Nevoral, 2012).

Mateřské mléko je nejlepší možnou výživou pro kojence z hlediska jeho zdravého vývoje a celkového růstu. Kojení je považováno za nejlepší prevenci proti alergiím, nižšímu výskytu

obezity a diabetu. Lidské mléko je jedinečné především svými ochrannými složkami, což jsou nukleotidy, mastné kyseliny, oligosacharidy, imunoglobuliny, cytokiny, imunitní buňky, lysozymy, laktoferin a další imunomodulační faktory (Musilová et al., 2016). Mateřské mléko je považováno za dynamickou bioaktivní tekutinu, která se mění během laktace v kompozici od kolostra až po „zralé“ mléko (Bravi et al., 2016). Hlavní složkou mateřského „zralého“ mléka jsou bílkoviny, které jsou zastoupeny přibližně 0,9 až 1,2 g ve 100 ml mléka. Obsah tuků ve 100 ml mléka je 3,2 až 3,6 g a poslední důležitou složkou je laktóza, která činí 6,7 až 7,8 g na 100 ml mléka (Ballard and Morrow, 2013). Kolostrum, což je mléko produkované v prvních dnech po porodu, obsahuje více bílkovin, vitamínu A, vitamínu B-12 a vitamínu K. Během následujících 4 týdnů se mléko postupně mění a je považováno za takzvané „zralé mléko“ (Bravi et al., 2016).

Umělá příprava oligosacharidů mateřského mléka je však v současné době nemožná, neboť mají komplikovanou strukturu. Jako nejčastěji používaná prebiotika do potravin, se používají galaktooligosacharidy, které se připravují syntézou galaktózy a laktózy (Rada, 2010). Některé přípravky umělé výživy obsahují galaktooligosacharidy živočišného původu a fruktooligosacharidy rostlinného původu, a to v poměru 9:1, a protože nejsou zcela selektivní, mohou podporovat růst potenciálně škodlivých bakterií (Musilová a Rada, 2015).

Kromě kojenecké výživy můžeme prebiotika nalézt i v dalších potravinách, jako jsou zmrzliny, sušenky, rostlinné tuky, mléčné kysané výrobky a další (Rada, 2010).

3.3.2 Kritéria výběru prebiotik

Podle Wanga (2009) můžeme prebiotika klasifikovat jako potravinové složky do pěti základních kritérií:

- 1) Prebiotika nejsou v horní části trávicího traktu trávena, nebo jsou jen částečně, tím se dostávají do tlustého střeva.
- 2) Následně jsou prebiotika v tlustém střevě fermentovány potenciálně prospěšnými bakteriemi (Maccfarlane et al., 2008).
- 3) Fermentace v tlustém střevě může vést k zvýšení produkce či změně:
 - Relativního množství mastných kyselin s krátkým řetězcem
 - Zvýšení hmotnosti stolice
 - Mírné redukci pH v tlustém střevě
 - Snížení dusičnanových konečných produktů

- Snížení fekálních enzymů
 - Zlepšení imunitního systému, který je pro hostitele prospěšný
- 4) Důležitá je selektivní stimulace růstu a aktivity střevních bakterií, které jsou spojené s dobrým zdravotním stavem hostitele.
 - 5) Posledním neméně důležitým kritériem je, že prebiotika musí být schopna odolat podmínkám zpracování potravin, přičemž nesmí být změněna jejich vlastnost či struktura, a nadále musí být přístupna pro metabolismus bakterií ve střevě (Markowia a Śliżewska, 2017).

3.3.3 Účinky prebiotik

Prebiotika můžeme nalézt v přírodních produktech, ale přidávají se také do potravin. Účelem těchto konzumovaných doplňků stravy, je zlepšit jejich zdravotní a nutriční hodnotu.

Nejčastěji se používají prebiotika jako inulin, fruktooligosacharidy, laktulosa a deriváty galaktosy a β -glukanů. Tyto zmíněné prebiotika slouží jako médium pro probiotika. Stimulují jejich růst a nejsou v nich přítomny mikroorganismy.

Enzymy trávicího traktu neštěpí prebiotika, tudíž prochází až do tlustého střeva, kde jsou fermentovány sacharolytickými bakteriemi (př. rod *Bifidobacterium*). Množství prebiotik, které jsou spotřebovány, má z velké části vliv na složení střevní mikrobioty a její metabolickou aktivitu. Tato účinnost prebiotik je způsobena metabolismem lipidů, zvýšenou vstřebatelností vápníku, účinkem na imunologický systém a přizpůsobením funkce střev (Van Loo et al., 2005).

Molekulární struktura prebiotik určuje fyziologické účinky a typy mikroorganismů, které používají prebiotikum jako zdroj uhlíku a energie ve střevech. Konečné produkty metabolismu uhlohydrátů jsou většinou kyselina octová, kyselina máselná a kyselina propionová, které jsou využívány jako zdroj energie pro hostitele. Důsledkem fermentace sacharidů může *Bifidobacterium* nebo *Lactobacillus* produkovat některé sloučeniny, které inhibují vývoj gastrointestinálních patogenů a také způsobují snížení pH v trávicím traktu.

Bovee-Oudenhoven a kol. (1997) zkoumali použití laktulózy při prevenci před *Salmonella Enteritidis* na potkanech. Zjistili, že důsledkem laktulósové fermentace se okyselovala střeva, což způsobilo snížení vývoje patogenů. Dále bylo prokázáno, že díky prebiotikům, se zvyšuje absorpce minerálů, a to především hořčíku a vápníku (Markowiak a Śliżewska, 2017).

3.3.4 Umělá výživa

V prvním roce života kojence stoupá spotřeba energie více než dvakrát, zatímco v dalších letech života se spotřeba energie zvyšuje jen nepatrně. Dítě, které nemůže být kojeno, je dokrmováno průmyslově vyráběnými přípravky výživy. Pokud kojeneček nepřijímá mateřské mléko do 4. měsíce, používají se počáteční mléka. Tyto mléka jsou co nejpodobnější mlékům mateřským. V porovnání s kravským mlékem mají méně bílkovin, jiný poměr kaseinu a syrovátky, a to tak, aby byl v poměru 20 (kasein): 80 (syrovátka). Počáteční mléko se vyrábí většinou z bílkoviny kravského mléka, avšak je možné použít i bílkovinu sóji (Nevoral and Paulová, 2007).

Dalšími přípravky jsou pokračovací mléka, která jsou vhodná pro kojence starších 6. měsíce. Tato mléka by se neměla používat jako náhrada mateřského mléka, ale měla by tvořit část smíšené stravy (Frühau, 2009).

3.4 Enterální výživa

3.4.1 Definice

Enterální výživu lze definovat jako přijímání výživných roztoků do trávicího ústrojí popíjením či sondou. Enterální výživa je podávána pacientům, kterým funguje trávicí trakt, ale z jakéhokoliv důvodu nejsou schopni přijmout pevnou potravu. Podávání enterální výživy je kontraindikativní v případě porušení trávicího traktu, jako je krvácení do střev, ileus (střevní neprůchodnost) a úplná ztráta funkce střev (Dasty, 2012).

3.4.2 Indikace enterální výživy

Indikace enterální výživy je především u lidí, kteří potřebují výživový zákrok pro malnutrici nebo jsou ohroženi malnutricí a je třeba zachovat správný chod trávicího ústrojí (Komoňová, 2010). Dále je u stavů, kdy více než 7 dní není možné pokrýt výživové potřeby člověka běžnou stravou, kdy jeho výživové nároky jsou zvýšené (Floriánková, 2014).

Mezi aplikace enterální výživy řadíme popíjení-sipping, nazoenterální sondu nebo perkutánní gastro či jejunostomii. Enterální výživa se používá také jako jedna z možností léčby například Crohnovy choroby (Komoňová, 2010).

Crohnova nemoc

Crohnova choroba je označovaná za chronicky nespecifický zánět, který postihuje jakoukoli část či úsek trávicí trubice. Stěny zažívací trubice postihuje transmuralně (procházejíc celou stěnou) a to ve všech vrstvách. Crohnova nemoc je řazena do idiopatických střevních zánětů, což znamená, že vzniká z neznámé příčiny (Souček et al., 2011). Tato nemoc probíhá ve vlnách, kdy dojde ke zhoršení zánětu a jindy zase ke zklidnění. Nicméně je v současné době medikamentózně a chirurgicky nevyлéčitelná. Mezi převažující příznaky patří průjem, bolest břicha a úbytek na váze. Pacienti si z počátku nemusí všimnout určitých projevů, většinou si několik let stěžují na bolesti a průjmy. Léčba Crohnovi choroby se zaměřuje především na prevenci vzplanutí v případě, že je nemoc v klidné fázi. Tato léčba probíhá na základě umělé výživy, která je určena především pacientům trpícím malnutricí. U pacientů s funkčním trávicím traktem se volí enterální výživa, pokud pacient není schopen absorbovat dostatečné množství živin, výživa je podávána parenterálně nebo se volí kombinace enterální s parenterální. Co se týká stravy pacientů, žádné specifické omezení není, nicméně existují potraviny, které Crohnovu chorobu zhoršují (Šachlová, 2011). Dietu tak můžeme rozdělit dle období zhoršení zánětu a období zklidnění zánětu, viz. Tab.2 a Tab.3.

Tabulka 2: Potraviny určené/neurčené v období zhoršení zánětu (Šachlová, 2011).

	Vhodné	Nevhodné
Maso	krůtí, králičí, kuřecí, telecí, libové vepřové	marinovaná masa, uzené, tučné ryby a tučné vepřové
Uzeniny	libová šunka, šunka pro děti, šunková pěna	silně kořeněné a tučné uzeniny
Mléčné výrobky	kysané mléčné výrobky, tvarohové a přírodní sýry, jogurtová mléka s probiotiky	čerstvé mléko, plísňové sýry, syrečky
Pečivo	bílý chléb a pečivo, piškot	čerstvě kynuté, celozrnné

Přílohy	brambory, bramborová kaše, noky, těstoviny, rýže	fritované přílohy a kynuté knedlíky
Nápoje	nesycená voda, slabý ovocný čaj	alkohol, silná káva a čaj, čokoláda
Koření a ochucovadla	zelené bylinky, málo soli	kořeněné pokrmy
Ovoce a zelenina	ředěné džusy, zeleninové pyré a ovocné kaše	syrové ovoce a zelenina, semínka a ořechy

Tabulka 3: Potraviny určeně/neurčené v období zklidnění zánětu (Šachlová, 2011).

	Vhodné	Nevhodné
Maso	libové, drůbež, ryby bez kůže	tučná, smažená, uzená, nakládaná, škvarky, slanina, pikantní konzervy
Uzeniny	krůtí a králičí rolády, šunka	ostré klobásy
Mléčné výrobky	zakysané výrobky, sýry tavené i krájené, přírodní tvaroh, nápoje s probiotiky	čerstvé mléko
Bezmasá jídla	ovocné knedlíky, žemlovky, rýžové nákypy	smažená a tučná
Moučníky	málo sladké a málo tučné	příliš tučné a příliš sladké
Těsta	odpalované, krupicové, třené, piškotové	kynutá
Ovoce	oloupaná jablka, meruňky, broskve, ovocné pyré, ovocné kaše a pěny	hrušky, syrové ovoce se slupkami a zrníčky, ořechy a semena
Zelenina	kořenová, oloupaná rajčata, špenát, mladé kedlubny, dýně	houby, květák, ředkev, brokolice, luštěniny

Polévky	zeleninové a netučné vývary, zahuštěné nasucho opraženou moukou	omezit polévky z luštěnin a příliš tučné a kořeněné
Příkrmy	těstoviny, rýže, vše z brambor, knedlíky s kypřícím práškem	omezit smažené a kynuté
Omáčky	rajská, pažitková, svíčková, šťávy zahustit nasucho opraženou moukou	pálivá paprika, pepř a kari koření v omáčce
Tuky	čerstvé máslo, olivový olej	slanina, škvarky
Koření	zelené natě – celerová, libeček, pažitka, petržel, kopr, dle tolerance vývar z cibule, česneku, hub a kmínu	ostré koření

Crohnovu chorobu nelze léčit specificky. Léčbu můžeme rozdělit na:

- Dietní – která je popsána výše, kde v akutním stádiu jsou použity jen tekutiny a následně dieta dle stavu nemocného
- Medikamentózní – kde se používají ve formě tablet, čípků či klyzmat sulfonamidy, antibiotika, imunopresiva nebo u systémových onemocnění kortikoidy
- Chirurgická – která je použita v případě abscesů, perforace, obstrukce či jiných závažnějších problémů (Klener a kol., 2006).

Pacienti trpící idiopatickými střevními záněty se potýkají s mnoha problémy, které ovlivňují jejich kvalitu života. Proto existuje specifický dotazník pro lidi trpící Crohnovou nemocí, který je znám jako Inflammatory Bowel Disease Questionnaire (IBDQ).

Tento dotazník, který byl vytvořen na kanadské univerzitě McMaster roku 1988, obsahuje 32 otázek rozdělených do čtyř skupin: střevní, systémová, sociální a emociální. Přičemž otázky jsou hodnoceny Likertovou sedmi stupňovou škálou, na které platí čím více bodů, tím lepší kvalita života (Gabalec, 2009).

Indikace enterální výživy u dětí:

Existují dva typy enterální výživy, a to doplňková a úplná. Doplňková enterální výživa je léčebně přidávána jako doplněk k normální stravě. Počátek nutriční podpory u dětí je indikován na základě jejich věku. Děti, co nedokážou sníst více než 60-80 % stravy déle jak 10 dnů, musí být u nich zahájena nutriční podpora dle Evropské společnosti pro dětskou gastroenterologii, hepatologii a výživu. U dětí ve věku nad jeden rok dochází k zahájení enterální výživy do 5 dnů a u kojenců již do 3 dnů při snížení příjmu potravy (Karásková et al., 2013). Úplná enterální výživa plně kompenzuje běžnou stravu. Je podávána sondou nebo formou sippingu, pokud dítě nedokáže přijmout více jak 25 % stravy (Heuschkel, 2009).

3.4.3 Typy enterálních přípravků

Dnes se používají pouze polymerní a oligomerní přípravky enterální výživy. Dříve se zařazovali i elementární přípravky obsahující aminokyseliny, glukózu, fruktózu a MCT tuky (se středním řetězcem), které se dnes již nepodávají. Polymerní přípravky obsahují celou škálu proteinů, mezi něž patří mléčné bílkoviny (kasein, syrovátka), vaječný bílek, vaječný albumin a sójový protein. Sacharidy jsou zastoupeny ve formě škrobu, maltodextrinu a sacharózy. A tuk je obsažen ve formě kukuřičného či slunečnicového oleje, másla a hovězího tuku. Polymerní přípravky neobsahují lepek a ani laktózu. Oligomerní přípravky jsou specifické zdrojem proteinů, jelikož obsahují dipeptidy a tripeptidy vzniklé hydrolyzou užitých bílkovin (kasein, syrovátka, vaječný bílek, sójový protein). Zastoupení sacharidů je v podobě maltodextrinů, disacharidů a monosacharidů. Tuky jsou ve formě MCT tuků (se středním řetězcem), nachytné z kokosového oleje nebo oleje světlice barviřské. Oligomerní přípravky jsou nákladnější a jsou připraveny pro pacienty s poruchou digesce a absorpce potravin (Dastyh, 2012).

Mezi další skupinu přípravků v enterální výživě patří speciální přípravky, kam můžeme zařadit diabetické přípravky, orgánově specifické přípravky a imunomodulační přípravky, které jsou uzpůsobeny dle pacientova onemocnění (Tomiška, 2009).

4 Materiál a metody

4.1 Použité kultury

Na testování byly použity bakterie ze sbírky mikroorganismů Katedry mikrobiologie, výživy a dietetiky. Jednalo se o dva rody střevních bakterií. Dlouhodobé uchovávání čistých kultur probíhá v zmražené formě s glycerinem (20 % v/v).

Bakterie použité pro testování:

Rod *Lactobacillus*

RU = *Lactobacillus gasseri*

SH = *Lactobacillus paracasei*

JA = *Lactobacillus paracasei*

AM = *Lactobacillus paracasei*

MJ = *Lactobacillus rhamnosus*

FE = *Lactobacillus paracasei*

FJ = *Lactobacillus rhamnosus*

Lactobacillus paracasei (SH) byl izolován z mléčného výrobku, ostatní laktobacily byly izolovány ze stolice kojenců.

Rod *Escherichia*

EC1 = *Escherichia coli*

EC2 = *Escherichia coli* kmen Nissle 1917

EC3 = *Escherichia coli*

EC4 = *Escherichia coli*

Jediná *Escherichia coli* Nissle 1917 = EC2 byla původně izolována z probiotického produktu, ostatní kmeny *Escherichia coli* byly izolovány ze stolice.

4.2 Použitá média

Pro vytvoření ředící řady při rozbořech byl používán ředící roztok. Médium Wilkins-Chalgren bujón bylo používáno pro rutinní kultivaci testovaných bakteriálních kultur. Agar Wilkins-Chalgren se sojovým peptonem byl používán pro stanovení počtu bakterií.

Příprava médií

Produkty, které byly použity do médií jsou značky Oxoid UK.

1) Wilkins-Chalgren bujón se sójovým peptonem

- Bylo naváženo 33 g Wilkins-Chalgren bujónu, 0,5 g cysteinu a 5 g sójového peptonu do baňky (Erlenmeyerova)
- Poté byl přidán 1 l destilované vody, kde byla promíchána sypká směs s 1 ml tweenu 80
- Bylo změřeno pH a upraveno pomocí 1 M NaOH, aby hodnota dosahovala 7
- Pomocí automatické pipety bylo napipetováno 9 ml roztoku do penicilínek
- Penicilínky byly vloženy do vodní lázně, kde byly probublány a uzavřeny špuntem a hliníkovým víčkem
- Následně proběhla sterilace v autoklávu po dobu 15 minut při 120 °C

2) Ředící roztok

- Bylo naváženo 5 g tryptonu, 5 g nutrientbrothu 2, 2,5 g yeast extractu a 0,25 g cysteinu do baňky (Erlenmeyerova)
- Poté byl přidán 1 l destilované vody, kde byla promíchána sypká směs s 1 ml tweenu 80
- Bylo změřeno pH a upraveno pomocí 1 M NaOH, aby hodnota dosahovala 7

- Pomocí automatické pipety bylo napipetováno 9 ml roztoku do penicilínek
- Penicilínky byly vloženy do vodní lázně, kde byly probublány a uzavřeny špuntem a hliníkovým víčkem
- Následně proběhla sterilace v autoklávu po dobu 15 minut při 120 °C

3) Wilkins-Chalgren agar se sójovým peptonem

- Bylo naváženo 4,3 g Wilkins-Chalgren agaru, 0,05 g cysteinu a 0,5 g sojového peptonu do baňky (Erlenmeyerova)
- Poté bylo přidáno 100 ml destilované vody, kde byla promíchána sypká směs s 0,1 ml tweenu 80
- Baňka s namíchaným agarem byla uzavřena alobalem
- Následovala sterilace v Papinově hrnci po dobu 60 minut
- Nakonec byla uskutečněna temperace agaru ve vodní lázni při teplotě 48 °C

4.3 Testované enterální výživy

Byly použity 4 enterální výživy k testování růstu bakterií, a to Modulén IBD, Fresubin Original Vanilka, Fresubin Energy Fibre Jahoda a Nutridrink Compact Neutral. Všechny provedené rozbory byly provedeny před dobou expirace enterálních výživ.

Modulén IBD

Jde o dietní nápoj od výrobce Nestlé Netherland, který je určen k popíjení či podání sondou pro pacienty s Crohnovou nemocí. Použitý výrobek měl šarži 23010346AD, trvanlivost do 10/ 2014.

Fresubin Original Vanilka

Jedná se o výživu od firmy Fresenius Kabi, která neobsahuje vlákninu, je bez laktózy, purinu a cholesterolu. Speciální výživa určená pacientům s malnutricí nebo u pacientů, u kterých je kontraindikována vláknina. Použitý výrobek má šarži 29KF1122, trvanlivost do 06/2017.

Fresubin Energy Fibre Jahoda

Výživa od firmy Fresenius Kabi, která obsahuje vlákninu a všechny ostatní živiny v takovém poměru, aby pomohli nemocným pacientům s průjemem či zácpou, nechutenstvím a malnutricí. Navíc je obohacen o vlákninu. Použitý výrobek má šarži 29KE1007, trvanlivost do 05/2017.

Nutridrink Compact Neutral

Jedná se o tekutou vysokoenergetickou výživu určenou pro zvláštní lékařské účely. Podáváno pacientům s podvýživou a souvisejícím onemocněním. Použitý výrobek má šarži 07/10/17, trvanlivost do 10/2017.

4.4 Růst testovaných laktobacilů a *E. coli* v enterální výživě

Čistá kultura laktobacilů a *E. coli* byla rozmrazena a přeočkována 0,5 ml roztokem do 2 bujónů v penicilínkách. Ty byly následně po dobu 24 hodin při 37 °C kultivovány v termostatu. Po kultivaci byla zkontrolována čistota kultur fázově kontrastním mikroskopem značky Nikon ECLIPSE E200. Následně byly vhodné kultury naředěny pomocí desítkového ředění, aby kolonie narostly v počítatelném množství. Bakterií bylo 10^8 (ředění 10^0) v 1 ml narostlé kultury. Pomocí ředícího roztoku byla zředěna narostlá kultura tak, že byl nabrán 1 ml roztoku do ředícího roztoku a tento roztok měl koncentraci v 1 ml 10^7 bakterií (ředění 10^{-1}), pokračovalo se tímto způsobem dál, že bylo nabráno opět z tohoto roztoku 1 ml a byl dán do dalšího ředícího roztoku, kde vznikl roztok o koncentraci 10^6 bakterií (ředění 10^{-2}). Tímto způsobem bylo pokračováno až do koncentrace 10^1 bakterií (ředění 10^{-7}). Ke kultivačnímu stanovení počtu bakterií byly použity ředění 10^{-3} , 10^{-6} a 10^{-7} .

Rozbor 0 hodin:

Bylo odebráno 0,5 ml roztoku z 10^{-7} ředění a dáno do Petriho misky. Následně bylo přelito agarem a zamícháno krouživým pohybem. Tímto způsobem bylo zaočkováno i ředění 10^{-6} a opět do dvou misek. Při zaočkování byl kladen důraz na přesnost, aby nedošlo ke kontaminaci.

Poté byly misky uzavřeny do anaerostatu, kde bylo anaerobní prostředí. Zde byly kultivovány při teplotě 37 °C po dobu 48 hodin. Po uplynulé době byly misky vytaženy z termostatu a spočítán počet narostlých kolonií.

Mikrotitrační destička:

Do mikrotitrační destičky bylo napipetováno médium, pro 1 kmen byly použity 4 důlky po 90 µl enterální výživy, 2 důlky po 90 µl byly použity na bujón a 2 důlky po 90 µl pro ředící roztok. Do kultivačních médií bylo napipetováno po 10 µl kultury (přibližně 10³ KTJ). Poté byla destička uzavřena, dána do anaerostatu, kde v anaerobním prostředí byla při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Po kultivaci byla mikrotitrační destička otevřena a použita k rozboru 24 hodin. V destičce, ve které byly laktobacily, bylo změřeno pH pomocí pH papírků a množství kyseliny mléčné pomocí přístroje Reflektoquant (RQflex® 10). V případě *E. coli* bylo změřeno pouze pH.

Rozbor 24 hodin:

Z důlků mikrotitrační destičky bylo odpipetováno 10 µl enterální výživy a Wilkins-Chalgren bujón do zkumavek s bujónem. Dále bylo provedeno desítkové ředění do ředících roztoků. Podle toho, jak bakterie narostly v destičce, tak bylo odhadnuto ředění, které bylo následně naočkováno do Petriho misek. Poté bylo napipetováno 0,5 ml roztoku do Petriho misek, přelito agarem a zamícháno krouživým pohybem. Byly naočkovány 3 ředění ve 2 opakováních. Následně byly misky uzavřeny do anaerostatu, kde byly kultivovány při teplotě 37 °C v anaerobní prostředí po dobu 48 hodin. Po kultivaci byly spočítány narostlé kolonie, které byly zkontrolovány pod mikroskopem, zda se jedná opravdu o laktobacily a *E. coli*. Kolonie byly přepočítány na log KTJ/g.

Stanovení počtu bakterií

Narostlé kolonie v Petriho miskách byly spočítány pomocí počítadla a celkový počet byl vynásoben číslem 2 (jelikož pro kultivaci byly použity malé Petriho misky a inokulační dávka je 0,5 ml a ne 1 ml). S každým vyšším ředěním by měl být počet kolonií zhruba 10x nižší. Výpočtem byly získány počty bakterií, tedy počet kolonie tvořících jednotek v 1 ml vzorku (KTJ/ 1 ml). Níže je uveden vzorec pro výpočet:

$P = [(P1 + P2) / 11] * F (KTJ/1 \text{ ml})$

P1, P2 – počet kolonií na dvou po sobě jdoucích počítatelných plotnách

F – převrácená hodnota nejvyššího ředění

KTJ – kolonie tvořící jednotka

Statistické zpracování dat

Pro statistické vyhodnocení růstu bakterií byl použit software Statgraphics Centurion (Multiple range tests) a Microsoft Office Excel 2007 (t-test). V programu Statgraphics Centurion byla použita metoda ANOVA, neboli analýza odchylek. ANOVA rozkládá variabilitu proměnné odezvy mezi různými faktory.

Do tabulek v programu byly zadány jednoduše hodnoty v log KTJ/1 ml a statisticky poměřeny. Statisticky vyhodnocená data byla zapsána do tabulek.

5 VÝSLEDKY

5.1 Testování laktobacilů

Sedm kmenů laktobacilů bylo kultivováno na čtyřech různých enterálních výživách. V **tabulce č. 4** je uveden rozdíl růstu všech kmenů rodu *Lactobacillus* mezi rozborem 0 hodin (před kultivací) a 24 hodin, tedy po 24 hodinové anaerobní kultivaci v enterální výživě.

Všechny testované kmeny laktobacilů byly schopné růst v enterální výživě. Nicméně naměřené hodnoty ukazují, že růst jednotlivých kmenů se nepatrně liší. Je zde patrný vliv typu testované výživy. Ve výživě NutriDrink Compact Neutral byl zaznamenán nejmenší nárůst, a to u kmene *Lactobacillus rhamnosus* (MJ) s hodnotou $3,15 \pm 0,05$ log KTJ/1 ml. Naopak kmen *Lactobacillus paracasei* (SH) s hodnotou $4,74 \pm 0,01$ log KTJ/1 ml narostl nejvíce. Ve výživě Modulen IBD měl nejmenší nárůst *Lactobacillus rhamnosus* (FJ) s hodnotou $3,18 \pm 0,03$ log KTJ/1 ml a největší nárůst *Lactobacillus paracasei* (FE) s hodnotou $4,25 \pm 0,05$ log KTJ/1 ml. Ve výživě Fresubin Original Vanilka nejméně rostl *Lactobacillus paracasei* (JA) s hodnotou $3,61 \pm 0,01$ log KTJ/1 ml, nejvíce *Lactobacillus gasseri* (RU) s hodnotou $4,71 \pm 0,04$ log KTJ/1 ml. Ve výživě Fresubin Energy Fibre Jahoda nejméně rostl *Lactobacillus paracasei* (JA) s hodnotou $3,68 \pm 0,00$ log KTJ/1 ml, nejvíce *Lactobacillus rhamnosus* (MJ) s hodnotou $5,02 \pm 0,00$ log KTJ/1 ml.

V tabulce můžeme také nalézt průměrný růst všech kmenů dohromady v jednotlivých enterálních výživách. Z tabulky je tedy vidět, že ve výživě NutriDrink Compact Neutral je průměrný nárůst všech kmenů rodu *Lactobacillus* nižší oproti ostatním výživám. Naopak ve výživě Fresubin Energy Fibre Jahoda je průměrný nárůst bakterií vyšší než u ostatních výživ. Data byla následně statisticky vyhodnocena v programu Statgraphics Centurion pomocí metody ANOVA, kde bylo zjištěno, že mezi výživami ani jednotlivými kmeny není statisticky významný rozdíl.

Tabulka 4: Rozdíl růstu kmenů laktobacilů (24 hodin – 0 hodin) v jednotlivých EV, uvedené hodnoty jsou vyjádřeny v log KTJ/1 ml produktu

	Modulen IBD	Fresubin Vanilka	Fresubin Jahoda	Nutridrink
RU	4,15±0,05	4,71±0,04	4,55±0,01	4,32±0,00
SH	4,23±0,02	4,63±0,02	4,25±0,01	4,74±0,01
JA	3,97±0,03	3,61±0,01	3,68±0,00	3,30±0,04
AM	4,01±0,02	3,72±0,01	3,83±0,02	3,42±0,03
MJ	4,09±0,01	4,47±0,01	5,02±0,00	3,15±0,05
FE	4,25±0,05	4,26±0,00	4,29±0,02	3,98±0,03
FJ	3,82±0,03	3,82±0,02	3,73±0,00	3,19±0,02
průměr	4,07±0,03	4,17±0,02	4,19±0,01	3,73±0,03

Pozn: Nejvýše naměřené hodnoty jsou označeny oranžovou barvou.

V **tabulce č. 5** jsou uvedeny hodnoty laktátu (kyseliny mléčné) pomocí Reflektuquantu a hodnoty pH (měřené pH papírkem). Byla zaznamenána vysoká hodnota laktátu u bakterií *Lactobacillus paracasei* (SH) s hodnotou 33 400 mg/l a (FE) 34 400 mg/l, především se jednalo o výživy Fresubin Original Vanilka a Fresubin Energy Fibre Jahoda. Jelikož na těchto dvou výživách byl nejmenší nárůst bakterií *Lactobacillus paracasei*, je neobvyklé, aby laktát dosahoval takovýchto hodnot. Ovšem je možné, že s tím souvisí zhoustlá konzistence enterální výživy s bakteriemi při rozboru laktátu z mikrotitrační destičky. Tudíž konzistence mohla ovlivnit naměřené hodnoty. Dále můžeme vidět hodnoty pH, které jsou ovlivněny množstvím laktátu (kyseliny mléčné), tedy čím více laktátu, tím nižší pH.

Tabulka 5: Množství laktátu (mg/l) a hodnoty pH (v závorce) po kultivaci laktobacilů

Laktát (pH)	RU	SH	JA	AM	MJ	FE	FJ
MODULEN IBD	2 440 (5,3)	5 850 (4,3)	4 520 (4,7)	3 030 (5,3)	1 910 (5,6)	2 430 (4,4)	2 460 (5,3)
FRESUBIN Jahoda	4 550 (5,1)	26 300 (4,9)	22 400 (4,9)	1 960 (6,0)	3 360 (5,4)	34 400 (4,0)	3 240 (5,3)
FRESUBIN Vanilka	7 900 (4,5)	33 400 (4,0)	13 000 (4,2)	17 600 (4,2)	1 300 (5,5)	7 900 (4,5)	13 600 (4,0)
NUTRIDRINK	1 470 (4,4)	16 900 (4,3)	15 500 (4,3)	710 (4,7)	1 040 (4,5)	21 000 (4,0)	1 470 (4,9)

Pozn: Nejvyšší naměřené hodnoty jsou označeny oranžovou barvou.

5.2 Testování *Escherichia coli*

Čtyři kmeny *Escherichia coli* byly kultivovány na čtyřech různých enterálních výživách.

V **tabulce č. 6** je zaznamenán rozdíl růstu všech testovaných kmenů *E. coli* mezi rozborem 0 hodin a 24 hodin v enterální výživě. Z tabulky vyplývá, že růst jednotlivých kmenů bakterie *E. coli* se významně liší.

Můžeme vidět, že ve výživě Modulen IBD nejméně rostl kmen *E. coli* (EC4) s hodnotou $3,37 \pm 0,11$ log KTJ/1 ml a naopak nejvíce *E. coli* (EC3) s hodnotou $4,23 \pm 0,57$ log KTJ/1 ml. Ve výživě Fresubin Original Vanilka jsou hodnoty téměř srovnatelné, avšak nejméně rostl *E. coli* (EC3) s hodnotou $3,86 \pm 0,00$ log KTJ/1 ml a nepatrně vyšší hodnoty zastupoval *E. coli* (EC4) s hodnotou $4,01 \pm 0,11$ log KTJ/1 ml. Ve výživě Fresubin Energy Fibre Jahoda nejméně rostl *Escherichia coli* Nissle 1917 (EC2) s hodnotou $4,28 \pm 0,02$ log KTJ, nejvíce rostl *E. coli* (EC4) s hodnotou $4,64 \pm 0,12$ log KTJ/1 ml. A na závěr ve výživě NutriDrink nejméně rostl *E. coli* (EC3) s hodnotou $5,16 \pm 0,04$ log KTJ/1 ml a nejvíce *E. coli* (EC1) s hodnotou $5,29 \pm 0,02$ log KTJ/1 ml.

V tabulce můžeme nalézt také průměrný růst všech testovaných bakterií *E. coli* dohromady v jednotlivých enterálních výživách. Je zde vidět, že ve výživě Modulen IBD je průměrný nárůst všech bakterií *E. coli* menší oproti ostatním enterálním výživám. Naopak ve výživě NutriDrink Compact Neutral je průměrný nárůst bakterií *E. coli* vyšší než u ostatních výživ. Také podle naměřených hodnot získaných programem Statgraphics Centurion (tab. 15) můžeme zjistit, že se růst bakterií významně liší od ostatních v enterálních výživách Fresubin Energy Fibre Jahoda a Nutridrink Compact Neutral.

Tabulka 6: Rozdíl růstu kmenů *Escherichia coli* (24 hodin – 0 hodin) v jednotlivých EV, uvedené hodnoty jsou vyjádřeny v log KTJ/1 ml produktu

	Modulen IBD	Fresubin Vanilka	Fresubin Jahoda	Nutridrink
EC1	$3,73 \pm 0,04$	$3,89 \pm 0,04$	$4,57 \pm 0,06$	$5,29 \pm 0,02$
EC2	$4,09 \pm 0,28$	$3,89 \pm 0,01$	$4,28 \pm 0,02$	$5,20 \pm 0,04$
EC3	$4,23 \pm 0,57$	$3,86 \pm 0,00$	$4,58 \pm 0,01$	$5,16 \pm 0,04$
EC4	$3,37 \pm 0,11$	$4,01 \pm 0,11$	$4,64 \pm 0,12$	$5,25 \pm 0,12$
průměr	$3,86 \pm 0,25$	$3,91 \pm 0,04$	$4,52 \pm 0,05$	$5,23 \pm 0,06$

Pozn: Nejvyšší naměřené hodnoty jsou označeny oranžovou barvou.

V **tabulce č. 7** jsou naměřené hodnoty pH po kultivaci v enterálních výživách. Hodnoty pH se pohybovaly od 4,3 do 5,4. Bylo zjištěno, že nejvyšší hodnoty pH byly naměřeny u enterální výživy Fresubin Energy Fibre Jahoda.

Tabulka č. 7 Hodnoty pH v EV po kultivaci (*Escherichia coli*):

	EC1	EC2	EC3	EC4
MODULEN IBD	4,9	5,1	5,2	5,1
FRESUBIN Jahoda	5,1	5,2	5,2	5,4
FRESUBIN Vanilka	4,8	4,7	4,8	4,3
NUTRIDRINK	5,1	5,1	4,9	5,1

6 DISKUZE

Za enterální výživu je brána aplikace farmaceuticky připravených výživných roztoků do trávicího traktu. Podává se buď pomocí nutritivní stomie (gastrostomie, jejunostomie), nazoenterální sondou nebo perorálně (Kohout a Kotrlíková, 2009). Enterální výživa je určená pacientům, kteří trpí nebo u nichž hrozí malnutricie a mají funkční trávicí trakt. Podává se také pacientům, kteří nejsou schopni více než 7 dní pokrýt výživové potřeby člověka běžnou stravou (Floriánková, 2014). Přínosem enterální výživy mimo dodání potřebné energie a důležitých živin je, že zajišťuje výživu enterocytů a s tím související zachování střevní bariéry, bakteriální prevenci a udržení správné peristaltiky (Kohout a Kotrlíková, 2009).

Hypotézou této bakalářské práce je, že různé druhy enterálních výživ s rozdílným složením by měly napomáhat růstu probiotických bakterií (laktobacilů), a to takových, které mají příznivý vliv na lidský gastrointestinální trakt. Naopak by měly tyto enterální výživy utlumit růst potencionálně patogenních bakterií (*E. coli*). Na základě testovaných bakterií ve sterilních enterálních výživách bylo zjištěno, že výživa podporuje nejen růst laktobacilů, ale i *E. coli*.

Laktobacily patří mezi probiotika, které musí přežít cestu žaludkem a kolonizovat střevní sliznici přinejmenším takovou dobu, aby měly pozitivní vliv na zdraví člověka (Kostiuk a Kotlářová, 2015). *Lactobacillus* sp. má vlastnost bránit růstu a tvorbě toxinů bakterií, jako je *Helicobacter pylori*, *Salmonella* a další. Vliv na růst enteropatogenních bakterií je spojená s produkovanými antimikrobiálními látkami bakteriálního mléčného kvašení, jako je kyselina mléčná, která je zodpovědná za snížení intestinálního pH (Koliba, 2012). V trávicím traktu zdravých jedinců se vyskytují rody jako laktobacily, bifidobakterie a enterokoky. Dále přes trávicí ústrojí jedince se dostávají bakterie rodů *Streptococcus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Staphylococcus* a *Streptococcus*. V tlustém střevě se vyskytují převážně anaerobní druhy rodů *Bacteroides*, *Peptostreptococcus* a *Eubacterium* (Votava, 2005). V této bakalářské práci byly testovány druhy rodu *Lactobacillus* (*L. gasseri*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*), které byly vyizolované ze stolice kojenců, kromě *L. paracasei* (SH), která byla vyizolovaná z mléčného výrobku. Dále byly testované 4 bakterie druhu *Escherichia coli*, z nichž jedna se používá jako probiotikum a jedná se o *E. coli* kmen Nissle 1917.

Pomocí softwaru Statgraphics Centurion (tab. 13) bylo zjištěno, že na testovaných enterálních výživách, kde rostou druhy rodu *Lactobacillus*, neexistují žádné statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými enterálními výživami při úrovni spolehlivosti 95,0 %.

Z výsledků můžeme však zjistit, že nepatrně vyšší nárůst laktobacilů byl v enterální výživě Fresubin Energy Fibre Jahoda. Což by mohlo být díky obohacení této enterální výživy o vlákninu (inulin, celulóza). Je tedy možné, že růst jednotlivých kmenů byl větší než u ostatních výživ. Ve výživě Fresubin Energy Fibre Jahoda nejlépe rostl *Lactobacillus rhamnosus* (MJ) s rozdílem nárůstu mezi rozbory 0 hodin a 24 hodin je $5,02 \pm 0,00$ log KTJ/1 ml. Růst laktobacilů ve Fresubin Original Vanilka se nijak zvlášť od Fresubin Energy Fibre Jahoda nelišil. Největší nárůst byl zaznamenán u *L. paracasei* (FE) s nárůstem mezi rozbory 0–24 hodin $4,71 \pm 0,04$ log KTJ/1 ml. Kvůli podobnému složení těchto dvou enterálních výživ (Fresubin Original Vanilka a Fresubin Energy Fibre Jahoda), se můžeme domnívat, že laktobacily ve značce Fresubin prosperují. Poslední testované výživy Modulen IBD a Nutridink Compact Neutral nevykazovaly nijak zvlášť vyšší hodnoty v nárůstu laktobacilů.

Vláknina tvoří potravu pro bakterie tlustého střeva. Bakterie vlákninu nadále fermentují, díky čemu se snižuje intestinální pH. Ale především vláknina snižuje zastoupení hnilobných bakterií a zvyšuje zastoupení laktobacilů a bifidobakterií (Kokešová, 2009). Díky výzkumům o příznivých účincích vlákniny a jejich fermentačních účincích na střevní mikrobiotu, můžeme dnes najít přípravky enterální výživy s obsahem vlákniny. Testovaný Fresubin Energy Fibre Jahoda obsahoval inulin (z čekanky), který je fermentabilní a působí v tenkém střevě a proximální části tlustého střeva, kde stimuluje růst bifidobakterií a laktobacilů. Díky bakteriální fermentaci se přeměňuje vláknina na mastné kyseliny s krátkým řetězcem, které jsou pro kolonocyty energetickým zdrojem a přispívá ke zlepšení slizniční bariéry tlustého střeva. Dále testovaná výživa obsahovala celulózu, která působí v tlustém střevě, kde zvyšuje objem stolice a působí na střevní svalovinu (Tomíška, 2009).

Escherichia coli se po biochemické stránce od laktobacilů liší, protože nepatří mezi bakterie mléčného kvašení, které enzymaticky přeměňují sacharidy především na kyselinu mléčnou.

E. coli štěpí glukózu, laktózu, některé pentózy za vzniku kyselin a plynů. V první řadě se jedná o smíšenou fermentaci, kde vznikají metabolity jako kyselina mléčná, pyrohroznová, octová a mravenčí, ale žádný z nich významně nepřevládá (Šilhánová, 2002).

V rámci vyhodnocení růstu laktobacilů na enterálních výživách byla měřena i kyselina mléčná a pH. U enterální výživy Fresubin Energy Fibre Jahoda i Fresubin Original Vanilka byl největší podíl kyseliny mléčné v rozsahu od 1 300 - 34 400 mg/l, především u *L. paracasei* (FE). Což nedisponuje s růstem *L. paracasei* v těchto výživách, kde ho bylo zastoupeno nejméně. Je možné, že příčina vysoké hodnoty laktátu je způsobena konzistencí enterální výživy, která po kultivaci zhoustla a špatně se nanášela do Reflektuquantu. Co se týká enterálních výživ NutriDrink a Modulen IBD, bylo množství kyseliny mléčné značně menší. Díky produkci kyseliny mléčné laktobacily, se pH snížilo až na hodnoty 4, což souhlasí s výsledky a je to u mléčných výrobků normální (Lourens-Hattingh and Viljoen, 2001).

Bakterie jsou schopné růst v enterálních výživách ve vysokých počtech, tudíž se nedá říct, že by některá z testovaných enterálních výživ nepřispívala růstu bakterií. Co se týká *E. coli*, pomocí softwaru Statgraphics Centurion (tab. 15) bylo zjištěno, že na testovaných enterálních výživách existují statisticky významné rozdíly u 2 enterálních výživ (NutriDrink Compact Neutral a Fresubin Energy Fibre Jahoda) při úrovni spolehlivosti 95,0 %. Největší nárůst byl zaznamenán v enterální výživě NutriDrink Compact Neutral, kde rozdíl růstu mezi 0-24 hodin *E. coli* byl $5,29 \pm 0,02$ log KTJ/1 ml u (EC1). Druhý nejvyšší zaznamenaný nárůst *E. coli* byl u enterální výživy Fresubin Energy Fibre Jahoda s rozdílem růstu mezi 0-24 hodin $4,64 \pm 0,12$ log KTJ/1 ml u (EC4). Rozdílný nárůst u těchto dvou enterálních výživ by mohl být jejich složením. A to především u Nutridrinku Compact Neutral, který je vysokoenergetický s vysokým podílem glukózového sirupu, který *E. coli* štěpí a využívají. Pro lepší posouzení by bylo vhodné použít k otestování více kmenů *E. coli*. Ačkoli *E. coli* tvoří kyseliny a proto by u nich měl být pokles pH, není tomu tak. Vlastností *E. coli* je rozklad bílkovin, a z toho důvodu je hodnota pH vyšší, ale neměla by přesahovat pH 6 (Pahlow et al., 2003). *E. coli* jsou brány za symbiotické bakterie trávicího traktu, nikdy by však neměly přesáhnout počet zdraví prospěšných bakterií (Lourens-Hattingh and Viljoen, 2001).

7 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo otestovat růst laktobacilů a *Escherichia coli* v enterální výživě. Podařilo se zjistit, že na testovaných enterálních výživách, kde rostly bakterie rodu *Lactobacillus* sp., neexistovaly žádné statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými druhy enterálních výživ. Z výsledků můžeme zjistit, že nejvyšší nárůst laktobacilů byl ve výživě Fresubin Energy Fibre Jahoda ($5,02 \pm 0,00$ log KTJ/1 ml), a naopak nejmenší nárůst ve výživě NutriDrink Compact Neutral ($3,15 \pm 0,05$ log KTJ/1 ml). Dále byla měřena u laktobacilů hodnota laktátu a pH. Hodnota laktátu byla opět nejvyšší u výživy Fresubin Energy Fibre Jahoda (34 400 mg/l) s čímž souvisí i nízká hodnota pH 4.

Růst *E. coli* ve výživách byl téměř podobný jako u laktobacilů, avšak podle softwaru Statgraphics Centurion byly zjištěny statisticky významné rozdíly u dvou enterálních výživ, a to NutriDrink Compact Neutral a Fresubin Energy Fibre Jahoda. Nejvyšší zaznamenaný nárůst *E. coli* byl ve výživě NutriDrink Compact Neutral ($5,29 \pm 0,02$ log KTJ/1 ml) a Fresubin Energy Fibre Jahoda ($4,64 \pm 0,12$ log KTJ/1 ml). Dále bylo u *E. coli* měřeno pH, kde nejvýše naměřená hodnota pH 5,4 byla u výživy Fresubin Energy Fibre Jahoda.

Na základě těchto naměřených dat bylo zjištěno, že enterální výživa podporuje růst nejen laktobacilů, ale také potenciálně patogenních bakterií *E. coli*. Hypotézou bakalářské práce je, že enterální výživa by měla podpořit růst probiotických bakterií (laktobacilů) a potlačit růst potenciálně škodlivých bakterií (*E. coli*). Tedy naměřená data nekorrespondují s hypotézou bakalářské práce.

8 ZDROJE

- Arboleya, S., Watkins, C., Stanton, C., & Ross, R. P. 2016. Gut bifidobacteria populations in human health and aging. *Frontiers in Microbiology*, 7(AUG), 1–9.
- Ballard, O., Morrow, A. L. 2013. Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors. *Pediatric Clinics of North America*, 60(1), 49–74.
- Bláha, V., & Víšek, M. J. 2011. Význam prebiotik v potravě, 2, 25–28.
- Blevins, S. M., & Bronze, M. S. 2010. Robert Koch and the “golden age” of bacteriology. *International Journal of Infectious Diseases*, 14(9), 744–751.
- Bovee-Oudenhoven, I. M., Termont, D. S., Heidt, P. J., & Van der Meer, R. 1997. Increasing the intestinal resistance of rats to the invasive pathogen *Salmonella enteritidis*: additive effects of dietary lactulose and calcium. *Gut*, 40(4), 497–504.
- Bravi, F., Wiens, F., Decarli, A., Pont, A. D., Agostoni, C., Ferraroni, M. 2016. Impact of maternal nutrition on breast-milk composition: a systematic review 1, 2, 646–662.
- Breban, M. 2016. Gut microbiota and inflammatory joint diseases. *Joint Bone Spine*, 83(6), 645–649.
- Bronský, M. J. 2011. Úloha prebiotik v prevenci alergií u dětí. *Lékařská fakulta Univerzity Karlovy*, 12(2), 359–360.
- Camp, J. G., Kanther, M., Semova, I., & Rawls, J. F. 2009. Patterns and Scales in Gastrointestinal Microbial Ecology. *Gastroenterology*, 136(6), 1989–2002.
- Czerucka, D., Piche, T., & Rampal, P. 2007. Review article: Yeast as probiotics – *Saccharomyces boulardii*. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 26(6), 767–778.
- Dastyh, M. M. 2012. Enterální výživa v klinické praxi, 14(4), 152–156.
- Duncan, S. H., Flint, H. J. 2013. Probiotics and prebiotics and health in ageing populations. *Maturitas*. 2013 May; 75(1): 44–50.
- Euzéby, J.P. 2017. List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1997, 47, 590–592. (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. <http://www.bacterio.net>).
- FAO/WHO. 2006. Probiotics in food. Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Report on Joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria (Cordoba, Argentina, 2001). FAO Food and Nutrition Paper 85. Rome. p. 62. ISBN: 92-5-105513-0. Dostupné také z: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512e/a0512e00.pdf>>.

- Felis, G. E., Dellaglio, F. 2007. Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 8(2), 44–61.
- Floriánková, M. 2014. *Zdravý životní styl a jídelníček pro seniory*. Fragment. Praha. 168 s. 978-80-253-2031-0
- Frič, P. 2010. ekosystém a probiotika, 7(11), 408–413.
- Frühauf, M. P. 2011. Mikrobiota v období mezi 6. a 24. měsícem. *Pediatric pro praxi*, 12(3), 214-216. ISSN 1213-0494.
- Frühauf, M. P. 2009. Umělá mléčná kojenecká výživa. *Archives of Disease in Childhood*, 5(2), 1–2.
- Gabalec, L. 2009. Crohnova nemoc – klasifikace, diagnostika, léčba a kvalita života. *Interní Medicína pro Praxi*, 11(6), 16–20.
- Gal, J. 2008. The discovery of biological enantioselectivity: Louis Pasteur and the fermentation of tartaric acid, 1857—A review and analysis 150 yr later. *Chirality*, 20(1), 5–19.
- Gest, H. 2009. Homage to Robert Hooke (1635–1703): New Insights from the Recently Discovered Hooke Folio. *Perspectives in Biology and Medicine* 52(3), 392-399. The Johns Hopkins University Press. Retrieved October 3, 2017, from Project MUSE database.
- Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125(6), 1401–1412.
- Gillen, A. L. 2008. Louis Pasteur’s Views on Creation, Evolution, and the Genesis of Germs. *Answers Research Journal*, 1(1), 43–52.
- Heuschkel, R. 2009. Enteral nutrition should be used to induce remission in childhood Crohn’s disease. *Dig Dis*; 27(3): 297–305
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Sanders, M. E. 2014. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506–514.
- Hols, P., Hancy, F., Fontaine, L., Grossiord, B., Prozzi, D., Leblond-Bourget, N., ... Kleerebezem, M. 2005. New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(3 SPEC. ISS.), 435–463.
- Karásková, E., Vydra, D., Véghová-velgáňová, M. 2013. Léčebná výživa u dětí, 9, 182–185.
- Klener, P. a kol. 2006. *Vnitřní lékařství*. 3 vyd. Praha: Galén. 1158 s. 978-80-7262-430-0.

- Kohout, P. Kotrlíková, E. 2009. *Základy klinické výživy*. Praha, Forsapi.
- Kohoutová, M. D., & Bureš, J. 2013. Střevní mikrobiota a kolorektální karcinom, 15(6), 167–169.
- Kokešová, A. 2009. Imunomodulační účinky probiotik v klinické praxi, *Pediatr. pro Praxi*; 10(3): 169–174.
- Koliba, P. 2012. Probiotika z pohledu gynekologa. *Med. praxi*; 9(8–9): 354–359
- Komoňová, A. 2010. Nové trendy v léčebné výživě – nutriční postupy při léčbě pacienta, 12.
- Kostiuk, M. P., Kotlářová, P. L. 2015. Stimulace střevní imunity, zlepšení střevní funkce: probiotika, 27. <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.940284.5>.
- Lata, J., Juránková, J. 2011. Střevní mikrofóra, slizniční bariéra a probiotika u některých interních chorob. *Interní medicína pro praxi*. 13 (2). 63-69.
- Lourens-Hattingh, A., Viljoen, B. C. 2001. Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*. 11 (1). 1-17.
- Macfarlane, G. T., Macfarlane S. 2012. Bacteria, Colonic Fermentation, and Gastrointestinal Health. *Journal of AOAC International*. 95 (1). 50-60.
- Maccfarlane G.T., Steed H., Maccfarlane S. 2008. Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. *J. Appl. Microbiol*; 104:305–344. doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03520.x.
- Markowiak, P., Śliżewska, K. 2017. Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients*, 9(9), 1021.
- Montalto, M., D’Onofrio, F., Gallo, A., Cazzato, A., & Gasbarrini, G. 2009. Intestinal microbiota and its functions. *Digestive and Liver Disease Supplements*, 3(2), 30–34.
- Musilová, Š., Bunešová, V., Rada, V. 2016. Je mateřské mléko pro novorozence zdrojem prebiotik a probiotik? 17(1), 27–31.
- Musilová, Š., Rada, V. 2015. Vliv oligosacharidů mateřského mléka na střevní mikrobiotu kojenců *Pediatric pro Praxi*, 16(1), 17–19.
- Musilova, S., Rada, V., Vlkova, E., Bunesova, V., & Neval, J. 2015. Colonisation of the gut by bifidobacteria is much more common in vaginal deliveries than Caesarean sections. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway: 1992)*, 104(4), e184–e186.
- Neval, J., Paulová, M. 2007. *Výživa kojenců*. 2. vydání. Praha: Státní zdravotní ústav, 28 s. 978-80-7071-286-3.
- Neval, J. 2005. Prebiotika, probiotika a synbiotika. *Pediatric pro praxi*, 59-65.

- Nevoral, J. (2012). Prebiotika a probiotika v pediatrii. *Pediatric pro Praxi*, 13(3), 167–173.
- Nommsen, L. A., Lovelady, C. A., Heinig, M. J., Lonnerdal, B., Dewey, K. G. 1991. Determinants of energy, protein, lipid, and lactose concentrations in human milk during the first 12 mo of lactation: the DARLING Study. *The American journal of clinical nutrition*;53(2):457–465
- Pahlow, G., Muck, R. E., Driehuis, F., Elferink, S. J. W. H. O., Spoelstra, S. F. 2003. *Microbiology of Ensiling. Agronomy*. 42. 31-94.
- Parija, S. C. 2012. *Microbiology & Immunology*. 2. India: Elsevier India. 684 s. 978-81-3122-810-4.
- Quigley, E. M. M. 2013. Gut Bacteria in Health and Disease. *Gastroenterology & Hepatology*, 9(9), 560–569.
- Rada, V. 2010. Využití probiotik, prebiotik a synbiotik. *Medicína pro Praxi*, 8(1), 8–11.
- Rodríguez, J. M., Murphy, K., Stanton, C., Ross, R. P., Kober, O. I., Juge, N., Collado, M. C. 2015. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26, 10.3402/mehd.v 26.26050.
- Rolhion, N., & Chassaing, B. 2016. When pathogenic bacteria meet the intestinal microbiota. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1707), 20150504.
- Salvetti, E., Torriani, S., Felis, G. E. 2012. The genus *Lactobacillus*: a taxonomic update. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 4, 217-226.
- Schrezenmeir, J., de Vrese, M. 2001. Probiotics, prebiotics, and synbiotics--approaching a definition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2 Suppl), 361S–364S.
- Shulman, S. T., Friedmann, H. C., Sims, R. H. 2007. Theodor Escherich: the first pediatric infectious diseases physician?. *Clinical Infectious Diseases*, 45 (8). 1025-1029.
- Souček, M. a kol. 2011. *Vnitřní lékařství 1. díl*. Praha: Grada. 856 s. 80-247-2110-1
- Šachlová, M. 2011. Jakou volit stravu u pacientů s Crohnovou chorobou? *13(10)*, 403–405.
- Šilhánková, L. 2002. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologii*. Academia, Praha. 364 p.
- Švec, P., Sedláček, I. 2008. Isolated from Surface Waters, *Folia Microbiol.* 53(1), 53–56.
- Tannock, G. W. 2004. A Special Fondness for Lactobacilli. *Applied and Environmental Microbiology*. 70 (6). 3189-3194.

Thum, C., Cookson, A. L., Otter, D. E., McNabb, W. C., Hodgkinson, A. J., Dyer, J., & Roy, N. C. 2012. Can Nutritional Modulation of Maternal Intestinal Microbiota Influence the Development of the Infant Gastrointestinal Tract? *Journal of Nutrition*, 142(11), 1921–1928.

Tomáška, 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>>

Van Loo J., Clune Y., Bennett M., Collins J.K. 2005. The SYNCAN project: Goals, set-up, first results and settings of the human intervention study. *Br. J. Nutr.*; 93:S91–S98.

Votava, M. 2005. *Lékařská mikrobiologie obecná*. Brno, NEPTUN. 351 p.

Wang Y. 2009. Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Res. Int.*; 42:8–12. doi: 10.1016/j.foodres.2008.09.001.

Welch, R. A. 2006. The Genus *Escherichia*. *The Prokaryotes: Prokaryotic Biology and Symbiotic Associations*, 60–71.

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

9 PŘÍLOHY

Tabulka 8: Laktobacily po rozboru 0 hodin, uvedené hodnoty jsou vyjádřeny v log KTJ/1 ml produktu:

Rudolf	4,49±0,05
Shirota Casei	4,92±0,04
JA	5,04±0,03
AM	4,98±0,03
MJ	4,37±0,03
FE	5,11±0,03
FJ	4,84±0,02

Tabulka 9: Laktobacily v EV a Wilkins-Chalgren bujónu po kultivaci (24 hodin, uvedené hodnoty jsou vyjádřeny v log KTJ/1 ml produktu):

	Modulen IBD	Fresubin Vanilka	Fresubin Jahoda	Nutridrink	Wilkins
Rudolf	8,64±0,00	9,2±0,01	9,04±0,04	8,81±0,05	7,79±0,07
Shirota Casei	9,15±0,02	9,55±0,02	9,17±0,01	9,66±0,01	8,94±0,02
JA	9,01±0,06	8,65±0,04	8,72±0,03	8,34±0,07	8,92±0,05
AM	8,99±0,01	8,70±0,02	8,81±0,01	8,40±0,06	8,81±0,03
MJ	8,46±0,02	8,84±0,02	9,39±0,03	7,52±0,08	7,9±0,04
FE	9,37±0,08	9,18±0,03	9,4±0,00	9,09±0,05	8,63±0,03
FJ	8,66±0,05	8,52±0,00	8,57±0,02	8,03±0,01	8,49±0,01

Tabulka 10: *Escherichia coli* po rozboru 0 hodin, uvedené hodnoty jsou vyjádřeny v log KTJ/1 ml produktu:

EC1	4,16±0,08
EC2	4,33±0,05
EC3	4,37±0,04
EC4	4,19±0,15

Tabulka 11: *Escherichia coli* v EV a Wilkins-Chalgren bujónu po kultivaci (24 hodin), uvedené hodnoty jsou vyjádřeny v log KTJ/1 ml produktu:

	Modulen IBD	Fresubin Vanilka	Fresubin Jahoda	Nutridrink	Wilkins
EC1	7,89±0,04	8,05±0,04	8,73±0,02	8,34±0,06	9,45±0,06
EC2	8,42±0,33	8,22±0,04	8,61±0,03	8,08±0,09	9,53±0,02
EC3	8,60±0,61	8,23±0,04	8,95±0,01	8,19±0,08	9,53±0,05
EC4	7,56±0,04	8,20±0,04	8,83±0,03	8,68±0,02	9,44±0,03

Výsledky z programu Statgraphics:

Tabulka 12: Shrnutí statistických výsledků laktobacilů:

	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>
Fresubin Jahoda	7	4,19286	0,488764	11,6571 %	3,68	5,02
Fresubin Vanilka	7	4,17429	0,454564	10,8896 %	3,61	4,71
MODULEN IBD	7	4,07429	0,153173	3,7595 %	3,82	4,25
Nutridrink	7	3,72857	0,624458	16,7479 %	3,15	4,74
Total	28	4,0425	0,476497	11,7872 %	3,15	5,02

	<i>Std. kurtosis</i>
Fresubin Jahoda	-0,19211
Fresubin Vanilka	-1,18719
MODULEN IBD	-0,219336
Nutridrink	-0,57629
Total	-0,454066

Tabulka 13: Vícečetný test laktobacilů podle Scheffeho metody s 95 %spolehlivostí:

	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
Nutridrink	7	3,72857	X
MODULEN IBD	7	4,07429	X
Fresubin Vanilka	7	4,17429	X
Fresubin Jahoda	7	4,19286	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
Fresubin Jahoda – Fresubin Vanilka		0,0185714	0,744196
Fresubin Jahoda – MODULEN IBD		0,118571	0,744196
Fresubin Jahoda – Nutridrink		0,464286	0,744196
Fresubin Vanilka – MODULEN IBD		0,1	0,744196
Fresubin Vanilka – Nutridrink		0,445714	0,744196
MODULEN IBD – Nutridrink		0,345714	0,744196

Tabulka 14: Shrnutí statistických výsledků *E. coli*:

	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>
Fesubin Vanilka	4	3,9125	0,0665207	1,70021 %	3,86	4,01
Fresubin Jahoda	4	4,5175	0,161323	3,57106 %	4,28	4,64
MODULEN IBD	4	3,855	0,385876	10,0097 %	3,37	4,23
Nutridrink	4	5,225	0,0568624	1,08828 %	5,16	5,29
Total	16	4,3775	0,603109	13,7775 %	3,37	5,29

	<i>Std. kurtosis</i>
Fesubin Vanilka	1,33276
Fresubin Jahoda	1,37959
MODULEN IBD	-0,699298
Nutridrink	-0,762521
Total	-0,857968

Tabulka 15: Vícečetný test *E. coli* podle Scheffeho metody s 95 %spolehlivostí:

	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
MODULEN IBD	4	3,855	X
Fesubin Vanilka	4	3,9125	X
Fresubin Jahoda	4	4,5175	X
Nutridrink	4	5,225	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
Fesubin Vanilka – Fresubin Jahoda	*	-0,605	0,488873
Fesubin Vanilka – MODULEN IBD		0,0575	0,488873
Fesubin Vanilka – Nutridrink	*	-1,3125	0,488873
Fresubin Jahoda – MODULEN IBD	*	0,6625	0,488873
Fresubin Jahoda – Nutridrink	*	-0,7075	0,488873
MODULEN IBD – Nutridrink	*	-1,37	0,488873

* označuje statisticky významný rozdíl

Složení enterálních výživ:

NutriDrink Compact Neutral

Složení: voda, glukózový sirup, bílkoviny z kravského mléka, rostlinné oleje (řepkový, slunečnicový), mléčnan draselný, emulgátor (sójový lecitin), hydrogenfosforečnan hořečnatý, cholin chlorid, citronan draselný, citronan sodný, chlorid sodný, chlorid draselný, maltodextrin, L-askorban sodný, mléčnan železnatý, síran zinečnatý, DL-alfa-tokoferyl-acetát, retinyl-acetát, glukonan měďnatý, seleničitan sodný, síran manganatý, nikotinamid, D-pantothenát vápenatý, chlorid chromitý, D-biotin, cholekalciferol, thiamin hydrochlorid, kyselina pteroylmonoglutamová, pyridoxin hydrochlorid, molybdenan sodný, riboflavin, fluorid sodný, jodid draselný, fytomenadion, kyanokobalamin.

Fresubin Energy Fibre Jahoda

Složení: voda, maltodextrin, mléčnou bílkovinu, rostlinné oleje (řepkový olej, slunečnicový olej), sacharózu, pšeničný dextrin, inulin (z čekanky), celulózu (zdroj vlákniny), ochucovadla, kalium-citrát, natrium-citrát, emulgátory (E471, sojový lecitin), prášek z červené řepy k obarvení (maltodextrin, kyselina citrónová), chlorid sodný, chlorid draselný, vit. C, cholin-chlorid, oxid hořečnatý, regulátor kyselosti (E330), pyrofosfát železnatý, síran zinečnatý, niacin, vit. E, kyselina pantotenová, chlorid manganatý, síran měďnatý, vit. B2, vit. B6, fluorid sodný, vit. B1, betakaroten vit. A, kyselina listová, chlorid chromitý, molybdenan sodný, jodid draselný, seleničitan sodný, vit. K1, biotin, vit. D3 a vit. B12

Fresubin Original Vanilka

Složení: voda, maltodextrin, mléčné bílkoviny, rostlinné oleje, sojová bílkovina, cukr, aroma, citronan sodný, chlorid draselný, emulgátory (E322, E471), o-fosforečnan draselný, vitamíny, citronan hořečnatý, regulátory kyselosti (E332, E330, E530), vinan cholinu, stabilizátor (E415), síran železnatý, síran zinečnatý, o-fosforečnan vápenatý, chlorid manganatý, síran měďnatý, fluorid sodný, chlorid chromitý, jodid draselný, molybdenan sodný, seleničitan sodný.

Modulen IBD

Složení: kukuřičný sirup, kasein, sacharóza, mléčný tuk, MCT tuky, kukuřičný olej, emulgátor: sojový lecitin, citrát draselný, fosforečnan vápenatý, citrát sodný, uhličitan vápenatý, chlorid hořečnatý, regulátor kyselosti: E525, chlorid draselný. Vitamíny: C, E, niacin, kyselina pantotenová, B6, thiamin (B1), A, riboflavin (B2), D, kyselina listová, K, biotin, B12. Bivinan cholinu, síran železnatý, síran zinečnatý, oxid hořečnatý, síran manganatý, síran měďnatý, molybdenan sodný, jodid draselný, chlorid chromitý, selenid sodný.