

# MIKROBIOMNOVINY

## Informační servis

České mikrobiomové společnosti ČLS JEP, z.s.

### Motto měsíce:

„Daruj mikroby,  
zachrániš život“

### Upozornění na akce:

#### Městská knihovna, Praha:

ČMS ve spolupráci s Městskou knihovnou v Praze vás srdečně zvou na další přednášky z cyklu Známe své spolubydlící?

Místo konání: malý sál  
Ústřední městské knihovny  
Mariánské náměstí, Praha 1  
Čas konání: 19:00

#### 21. 9. 2024

Doc. RNDr. Monika Dolejská,  
Ph.D.: Antimikrobiální  
rezistence – kde se problém  
vzal, co ho pohání a kam  
směřuje? [ZDE](#)



#### Konference:

#### 21. -23. 10. 2024

EUSEV 2024, 11th European  
Seminar In Virology,  
Bertinoro (Italy) [ZDE](#)



#### 23. - 29. 10. 2024

18th Congress of the  
International Union of  
Microbiological Societies,  
Florence (Italy) [ZDE](#)



## Editorial

Nejdražší čtenáři,

Máme za sebou vrchol sezóny a tato autorka doufá, že jsi Světový den mikrobiomu oslavil poctivě a zodpovědně. Přijmi prosím červencové číslo Mikrobio(m)novin jako opožděný dárek a ponoř se s námi do rozmanitého světa, v němž planetě i Tobě osobně vládou bytosti velké sotva pár mikrometrů.

Že může transplantace střevního mikrobiomu zachránit život, to už jsme na stránkách MN probrali opakovaně. Stejně tak už dávno víme, že do banky nepatří jen zlato a peníze. Ovšem téma FMT je stále aktuální a v komerčním prostoru se množí i vysoce neseriózní poskytovatelé bankovních služeb. Abychom si v tom udělali jasno, vyzpovídala Hanka Sechovcová dva odborníky na slovo vzaté, bankéře z pražských nemocnic MUDr. Jiřího Vejmelku a prof. Františka Dušku. Pokud by Vás téma zaujalo nebo Vám něco v rozhovoru chybělo, [napište nám](#). Zeptáme se za Vás a odpovědi zveřejníme na našich stránkách nebo přidáme do příštího čísla.

I v mikrobio(m)novinkách nahlédneme do světa pokročilých aplikací vědeckých poznatků. Tentokrát si povíme o prvním geneticky modifikovaném probiotiku. Teoreticky skvělá zpráva pro notorické paříče – bakterie za vás mohou vyřešit i kocovinu, ALE – legislativně to nebude až tak snadné. Evropská unie nevidí ráda, když živé GMO pouštíme do kanalizace, což je celkem oprávněné. Možná si tedy i nadále budeme muset vystačit s aspirinem a lákem z okurek.

Antibiotika jsou skvělý sluha, ale zlý pán. Jasně, nic nového pod sluncem. Ale věděli jste, že dysbióza (třeba ta postantibiotická) může mít vliv na kvalitu spermií, plodnost, a dokonce i na zdraví potomků? My v redakční radě to máme na paměti, o svou mikrobiotu s láskou pečujeme a důkazem je další krásný zdravý potomek – GRATULUJEME našemu skvělému kolegovi Jirkovi Vejmelkovi k narození princezny Klárky a přejeme Klárce z celého srdce, aby ji život bavil stejně jako její rodiče, a aby byla zdravá a spokojená.

A když už jsme u těch gratulací, tak nesmíme zapomenout na člena RR Jakuba Hurycha, který letos získal Cenu mladého vědce SPP za svou publikaci o laktobacilech. Článek si můžete přečíst zde:

<https://probiotika-prebiotika.cz/cena-za-nejlepsi-puvodni-vedeckou-publikaci/>

A poslední přání patří vám, našim čtenářům – užijte si pohodové léto, dopřejte si darů zahrádek, odpočinku, pohybu a hlavně dobré společnosti. Věříme, že k letní pohodě přispějí i naše noviny.

Lucie Najmanová

## Téma měsíce:

### Fekální mikrobiální terapie



Vážení a milí čtenáři Mikrobio(m)novin. V rozhovoru tohoto čísla se zaměříme na téma fekální mikrobiální terapie (FMT) a budeme se ptát hned dvou odborníků MUDr. Jiřího Vejmelky (JV) z Interní kliniky 3. LF Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní Thomayerovy nemocnice a prof. MUDr. Františka Dušky, Ph.D. (FD) z Kliniky anesteziologie a resuscitace 3. LF Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady. Ač by se na první pohled mohlo zdát, že tyto obory, potažmo lékaři, nemají mnoho společného, opak je pravdou. Spojuje je právě FMT.

*MUDr. Jiří Vejmelka (\*1985) absolvoval 2. LF Univerzity Karlovy v Praze a poté se rok věnoval pracovnímu lékařství. Od roku 2011 působí na Interní klinice 3. LF Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní Thomayerovy nemocnice. Věnuje se vnitřnímu lékařství, metabolické péči, funkčním onemocněním trávicího traktu a zaměřuje se na možnosti léčebného ovlivnění střevní mikrobioty. Patří mezi zakládající členy České mikrobiomové společnosti ČLS JEP, je členem výboru společnosti a členem redakční rady Mikrobio(m)novin. Podporuje edukační aktivity vč. sympozií a workshopů s mikrobiomovou tematikou.*

Prof. MUDr. František Duška, Ph.D. pracuje na Klinice anesteziologie a resuscitace 3. LF Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady. Nastoupil s odhodláním na trnitou cestu výzkumu dynamiky střevní mikrobioty u kriticky nemocných a je investigátorem randomizované kontrolované studie zkoumající bezpečnost a účinnost multidárcovské fekální mikrobiální transplantace na postantibiotické průjmy u kriticky nemocných. Ve Fakultní nemocnici Královské Vinohrady se podílel na zahájení provozu fekální banky. Je členem řídicího výboru Evropské společnosti intenzivní medicíny (ESICM) a České společnosti intenzivní medicíny (ČSIM).

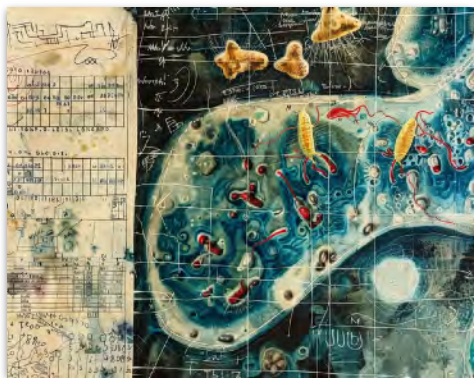
**Pane doktore Vejmelko, FMT je Vašemu oboru vlastní. Mohl byste nám popsat o jakou léčbu se jedná? Jedná se o novou metodu?**

**JV:** Jsem rád, že používáte termín fekální mikrobiální terapie – je totiž přesnější než fekální bakterioterapie. Léčebně totiž přenášíme do trávicího traktu pacienta nejenom dárcovské bakterie, ale i další součásti střevní mikrobioty a rovněž postbiotika, kterým je přisuzován značný efekt. Jedná se tedy o léčbu, kdy se do trávicího traktu pacienta aplikuje stolice zdravého a pečlivě vyšetřeného dárce s cílem obnovit střevní mikrobiální ekosystém pacienta, který onemocněl závažnou klostridiovou střevní infekcí. Využijeme tedy zdravou dárcovskou mikrobiotu k léčbě pacienta, u něhož došlo k rozvratu jeho vlastní střevní mikrobioty a rozvinul se střevní zánět vyvolaný toxigenním kmenem *Clostridioides difficile*.

Metoda není nová, byla dle dostupných informací užita např. k léčbě průjmů již ve 4. století v Číně. V moderní historii pak léčil touto metodou pacienty s pseudomembranózní kolitidou americký chirurg Ben Eiseman roku 1958. Onemocnění infekcí *Clostridioides difficile* je typicky spjato s rekurencemi, kterým lze efektivně (až v 90 %) předejít touto léčbou, což bylo prokázáno ve vícerych klinických studiích (van Nood et al., 2013; Kelly et al., 2016). Navíc americká FDA schválila bakteriální směs připravenou na bázi lidské stolice k léčbě rekurentní infekce *Clostridioides difficile* u dospělých pacientů – suspenzi střevní mikrobioty k aplikaci do konečníku klyzmatem (v roce 2022) a také kapsle se spórami střevní mikrobioty k orálnímu užití (2023). Určitým milníkem v dostupnosti této léčby se staly tzv. dárcovské banky stolice – první taková vznikla v roce 2012 v USA.

**Pane profesore, pod Vaším oborem anesteziologie a resuscitace si čtenáři „na první dobrou“ asi nevybaví zrovna téma fekální mikrobiální terapie. Můžete nám, prosím, říct, kdy se tato léčba realizuje u pacientů v intenzivní péči a také co Vás k využití této léčby vedlo?**

**FD:** Jedná se o experimentální použití v rámci klinické studie. Intenzivní péče se zabývá léčbou kriticky nemocných pacientů, to znamená těch, u kterých dochází k selhávání životních funkcí a vyžadují jejich monitoraci a podporu, například umělou plicní ventilaci. Mnoho pacientů přijímáme z důvodu sepse nebo přijdou s jiným vyvolávajícím onemocněním, ale komplikují se bakteriálními infekcemi. Ve výsledku 70 % našich pacientů je léčeno širokospektrými antibiotiky, což má – v kombinaci s dalšími faktory – na střevní mikrobiom velmi nepříznivý vliv. Snižuje se jeho diverzita, symbiotických bakterií ubývá a přibývá potenciálně patogenních a k antibiotikům rezistentních kmenů, které se pak mohou stát původci dalších infekcí. Klinicky se tato dysmikrobie může projevit úpornými průjmy, které komplikují proces zotavování a často přetrvávají dlouho po vysazení antibiotik.



Účinná léčba není známa, proto v prospektivní randomizované klinické studii zkusíme, jestli aplikace „prospěšných“ mikrobů od dárce do tlustého střeva (FMT) neurychlí obnovení složení původního střevního mikrobiomu a ústup průjmů.

**Pane doktore, co je to dárcovská banka stolice a k čemu slouží? Zní to poněkud netradičně. Kde jinde ve světě jsou takovéto banky k dispozici?**

**JV:** Od roku 2012, kdy byla studenty MIT založena v Somerville v USA první banka stolice – OpenBiome, již vzniklo ve světě a také v Evropě několik obdobných zařízení (2012 v Rakousku, 2013 ve Velké Británii, 2014 ve Francii, v Německu a Norsku, 2015 v Nizozemí, 2016 ve Španělsku, ale např. také v Hong Kongu). Zabývají se bezpečným výběrem vhodného dárce stolice, jeho pečlivým vyšetřením, zpracováním dárcovské stolice, ukládáním stolice v nízké teplotě (-80 °C) za přísně sledovaných podmínek a také karanténizací, která ještě bude zmíněna. V neposlední řadě pak banka zajistí logistiku dodávky dárcovské stolice do zdravotnického zařízení, které se věnuje léčbě pacientů s infekcí *C. difficile*. Následně pak banka sleduje efektivitu a monitoruje i případné nežádoucí události. Cílem je tedy zvýšit bezpečnost a efektivitu této terapie. Česká dárcovská banka stolice Restore – Restart, z.s. vznikla v roce 2022 jako výsledek několikaletého úsilí, první dávky mikrobioty dárcovské stolice začala zpracovávat v polovině roku 2023. Velké poděkování patří laskavým sponzorům, kteří projekt podpořili. Banka poskytuje dárcovskou stolicí pouze k léčbě rekurentní a střevní infekce způsobené *C. difficile*. Léčba je pak realizována zkušenými týmy ve zdravotnických zařízeních v České republice, která nemají k dispozici dárce stolice nebo nemají svou lokální banku, což je aktuálně situace např. i některých velkých nemocnic. Se závažnými rozvraty mikrobioty a klostridiovou kolitidou se setkáváme čím dál častěji a je velmi dobře, že existuje zařízení tohoto typu.

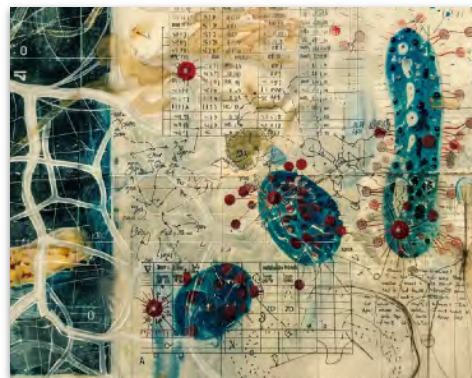
**Pane profesore, jak často se setkáváte u Vašich pacientů s tzv. klostridiovou střevní infekcí a jakým mechanismem fekální mikrobiální terapie pomáhá?**

**FD:** Kolitida vyvolaná *C. difficile* je odhalena u cca 20 % pacientů s postantibiotickými průjmy. Standardem terapie jsou pořád speciální protiklostridiová antibiotika a jiné metody léčby jsou v kontextu intenzivní péče stále experimentální – tzn. jejich účinnost a bezpečnost je potřeba nejprve zjistit v řádně sestavené a kontrolované klinické studii. To je přesně to, co děláme – do naší klinické studie jsou zařazováni pacienti s jakýmkoli postantibiotickým průjmem, včetně infekcí způsobených *C. difficile*. Naší hypotézou je, že velká přesila přirozených symbiotických mikrobů ze stolice dárců potlačí růst patogenních klostridií.

**Pane doktore, bylo by možné tuto léčbu využít i u jiných diagnóz? Nebo to není možné?**

**JV:** Využití v případě jiných diagnóz, než závažná klostridiová střevní infekce je předmětem klinického výzkumu. Velmi nadějně jsou výsledky ve zvýšení efektu imunoterapie např. melanomu, pokud FMT využijeme. Efekt se popisuje rovněž v případě ulcerózní kolitidy, syndromu dráždivého tračníku a v situacích, kdy je závažně narušena struktura a funkce

střevní mikrobioty (to jsou např. ty další případy závažných průjmů na JIP, o kterých mluvil prof. Duška). Nyní např. podrobně analyzujeme výsledky klinické studie, která byla určena pacientům se syndromem dráždivého tračníku, kterým jsme aplikovali směsnou dárcovskou mikrobiotu od zdravých a podrobně vyšetřených dárců. Vzhledem k tomu, že je ale mikrobiota pro každého jedinečná a vztah mezi mikrobiotou a imunitním systémem se utváří dlouhodobě a není doposud zcela rozklíčován, jsou potřeba klinické studie. Klinické studie se skutečně řídí přísným designem, aby prokázaly efektivitu této léčby v případě dalších diagnóz a také poskytly vodítko k tomu, jak vybírat vhodného dárce, kolikrát a jakým způsobem tuto léčbu realizovat. Metoda je tedy kromě léčby rekurentní klostridiové střevní infekce prakticky metodou experimentální. Paradoxně je o tuto metodu velký zájem, ačkoliv by bylo v tuto chvíli logické se zaměřit spíše na prevenci poškození mikrobioty a také na přirozené postupy, jak kultivovat prostředí pro naši střevní mikrobiotu (dostatek pohybu, pestrá strava s adekvátním množstvím vlákniny, psychohygiena atp.). Navíc je nutné zdůraznit, že doposud neznáme zcela konstelaci přenášené mikrobioty, což může být pro imunitní systém příjemce značná výzva a reakci organismu na tuto terapii nelze vždy spolehlivě predikovat. Teoreticky existuje i riziko přenosu onemocnění, která doposud nebyla popsána. Přece jenom přenášíme mikrobiotu, která je zásadní pro funkci střeva a potažmo celého organismu.



### **Pane profesore, mohl byste, prosím, říct, jaká jsou úskalí a omezení této léčebné metody?**

**FD:** Hlavním úskalím je dostupnost dárců – doba, kterou by trvalo shánění a vyšetřování příbuzného dárce může být pro kriticky nemocného moc dlouhá. Proto využíváme čerstvě zamrazenou stolicu nepříbuzných dárců.

K možným nežádoucím účinkům přistupujeme s maximální pokorou – a velmi bedlivě je sledujeme, zejména vzhledem k tomu, že v kritickém stavu může být narušena přirozená střevní bariéra. Průběžně výsledky včetně nežádoucích účinků předkládáme nezávislé mezinárodní komisi odborníků (Data and Safety Monitoring Boardu), jejíž zprávy předkládáme Etické komisi a SÚKLu. První kontrola výsledků po zařazení prvních osmi pacientů dopadla dobře, ale samozřejmě sledování pokračuje a na závěry je brzy. V žádné indikaci bych použití FMT nedoporučil v intenzivní péči mimo kontext řádně vedených klinických studií – prostě proto, že o bezpečnosti této metody toho nevíme dost.

### **Pane profesore, jaký by měl být ideální dárce stolice pro pacienta, který je v těžkém stavu hospitalizován na anesteziologickém lůžku a rozvinula se u něj závažná klostridiová střevní infekce?**

**FD:** Jak jsem již zmínil výše, FMT není metoda první volby pro léčbu klostridiové kolitidy pro nemocné v intenzivní péči. V naší studii používáme karanténovanou zmrazenou stolicu od nepříbuzných altruistických dárců. Slovem karanténovanou myslím, že je použita až tehdy, pokud dárce přijde na druhé vyšetření po 2-3 měsících, a je opět negativní na všechny

přenosné nemoci. Zabrání se tím riziku přenosu infekcí, které byly v čase darování stolice v inkubační době.

**Nyní otázka pro oba. Čemu přisuzujete zvýšený zájem o problematiku fekální mikrobiální terapie? Proč se objevují dotazy, zda by bylo možné využít tuto léčbu u jiných onemocnění než rekurentní a závažná klostridiová střevní infekce? Z jakého důvodu se tedy veřejnost k FMT tolik upíná a je jí považována „za všemocnou“?**

**JV:** Je dobře, že máme zájem o mikrobiotu a chceme ji poznat a příznivě ovlivnit. Díky tomuto zájmu se také rozvíjí nové modifikace této terapie tak, aby byla tato co nejbezpečnější a měla dostatečný efekt. Je správné se soustředit právě na střevní mikrobiotu, která má v organismu pozici „headquarters“. Mnohdy ale máme představu, že existuje jakási kouzelná zkratka k eubióze a stačí jednorázově podat „skvělou“ mikrobiotu a vše bude v pořádku. Vztah mezi námi a mikroby se ale utváří dlouhodobě a klíčové je právě vytvořit vhodné prostředí pro zdraví prospěšné mikroby a pro vyvážený rozhovor mezi organismem a mikroby. Všechny racionální postupy jsou dlouhodobé. V dnešní akcelerované době ale mnohdy vyžadujeme léčbu, která opraví mikrobiotu hned. Myslím, že je to vůči našim mikrobům „nekorektní a také poněkud hanlivé“. Takto jednoduchá mikrobiota rozhodně není.

**FD:** Lidský mikrobiom je fascinující a komplikovaná oblast lidské biologie – interakci mezi mikrobiotou a lidským tělem zdaleka nerozumíme dokonale a–s výjimkou recidivujících klostridiových infekcí – je robustních dat o účinnosti a bezpečnosti v jiných indikacích je velmi málo.



**Jaký je Váš osobní názor na komerční využití mikrobioty lidského těla včetně té střevní?**

**FD:** Ve světle výše uvedeného se trochu lekám, že marketing privátních zařízení bude rychlejší než solidní věda. Mám jednu radu: pokud zařízení fekální mikrobiální terapii v jakékoli formě nabízí za úplatu jako „všelék“, pryč odtamtud.

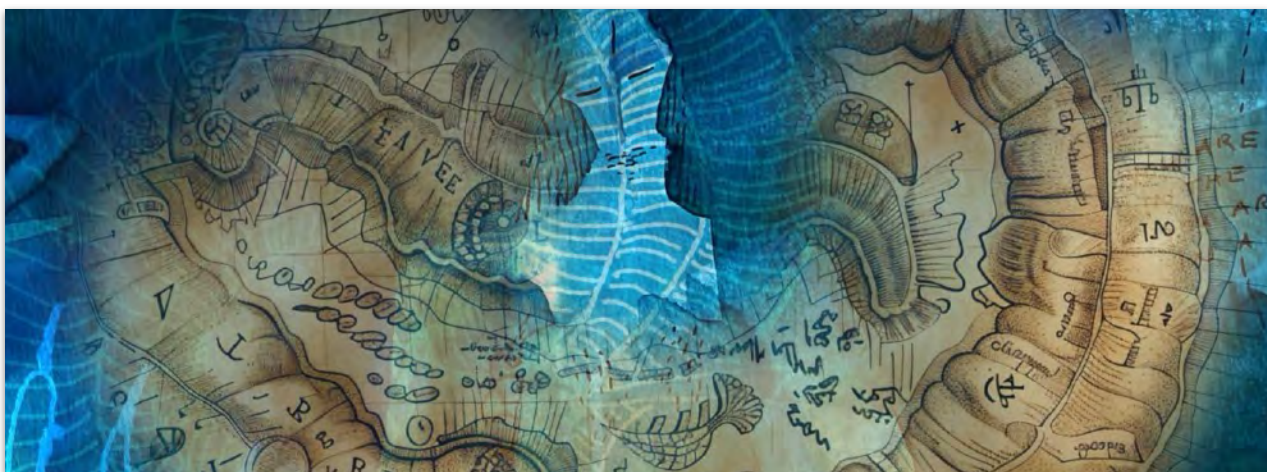
**JV:** Mikrobiota je pro nás všechny na této planetě společná, chrání nás a neměli bychom ji

komeracionalizovat. Naopak bychom měli společně investovat do ochrany mikrobioty, dodržovat striktní pravidla při podávání antibiotik (ale i jiných léků) a motivovat sebe a své okolí k péči o mikrobiotu lidského těla v rámci životosprávy, jak zde již bylo hezky zmíněno. Je dobře, že si význam mikrobioty připomínáme nejen 27. června, kdy jsme oslavili Světový den mikrobiomu.

**Myslíte si, že je strategické si uložit vlastní stolici do banky, aby to byla jakási záloha pro případ, že bude mikrobiota z různých důvodů selhávat, např. po antimikrobiální léčbě?**

**FD:** Teoreticky to smysl dává, pokud by taková stolice byla skladována v certifikované a akreditované bance za kontrolovaných podmínek, ideálně v nemocnici, ve které se pacient léčí a měli jsme k tomu medicínská data a legislativní podklad. Toto vše nám ale zatím chybí.

**JV:** Otázkou spíše je, zda si myslíme, že v tuto chvíli je naše mikrobiota v tak dobré kondici, že bychom ji měli skladovat, a to v domnění, že se jedná o správně „naladěnou“ mikrobiotu, která nás v budoucnu zachrání. Uvažme řadu negativních faktorů, které na mikrobiotu působí (proběhlé vlny covidu, stres, zneužívání návykových látek, ale i antibiotik, analgetik, inhibitorů protonové pumpy, zvýšená konzumace vysoce průmyslově zpracovaných potravin atp.). I pro dárcovské banky je nyní složité najít vhodného dárce stolice, který je zcela zdravý, neměl (ideálně) nikdy antibiotika, neužívá jiné léky, není závislý na návykových látkách, nedrží žádnou specifickou dietu a umí pracovat se stresem, který současná doba přináší v nemalé míře.



**Myslíte si, že má tato léčba budoucnost nebo bude postupně modifikována, aby se zvýšila její bezpečnost a účinnost?**

**JV:** V tuto chvíli se jedná o dostupnou metodou, jejíž bezpečnost zvyšují právě dárcovské banky stolice. Je fascinující sledovat, jak se metoda vyvíjí a stává se nezbytnou součástí a také de facto motorem klinického výzkumu s cílem rozšířit indikace této metody. Určitě je na místě ale trpělivost a také ostražitost. V souvislosti s touto metodou bylo již popsáno několik závažných nežádoucích událostí, a dokonce došlo v USA k úmrtím v souvislosti s možným přenosem multirezistentního patogena v době, kdy se dárce na přítomnost těchto patogenů ještě rutinně netestovali.

Je tedy z tohoto pohledu dobře, že jistou „renesancí“ prožívají tzv. mikrobiální lyzáty a další mikrobiotu modulující strategie jako např. fágová terapie. Jsem rád, že mohu s nadšením sledovat pokroky v těchto komplexních léčebných přístupech a jsem vděčný, že jsme dárcovskou bankou přispěli ke zvýšení dostupnosti a bezpečnosti fekální mikrobiální terapie v ČR.

**FD:** Fekální mikrobiální terapie má jistě potenciál, ale jsme na začátku dlouhé cesty výzkumu – je potřeba bádát dvěma směry. Na místě prvním poznávat biologickou podstatu a na místě druhém provádět řádně kontrolované prospektivní studie klinické k objektivnímu odlišení naší víry a přání od skutečné účinnosti. Je možné, že transplantace stolice je jen jakési dřevní stádium, a že v budoucnosti bude možné „opravovat“ individuální mikrobiotu na míru připravenými lyofilizáty bakterií a substrátů podle principů precision medicine. Ale je to zatím spíše sen.

Děkuji za rozhovor a přeji všem zdravou mikrobiotu.

Hana Sechovcová

#### Literární odkazy:

van Nood, Els et al. "Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*." The New England journal of medicine vol. 368,5 (2013): 407-15. doi:10.1056/NEJMoa1205037 [ZDE](#)

Kelly, Colleen R et al. "Effect of Fecal Microbiota Transplantation on Recurrence in Multiply Recurrent *Clostridium difficile* Infection: A Randomized Trial." Annals of internal medicine vol. 165,9 (2016): 609-616. doi:10.7326/M16-0271 [ZDE](#)



Český doporučený postup léčby klostridiové střevní infekce <https://infektologie.cz/DoporPostupy/DP-dg-th-CDI-2022.pdf>

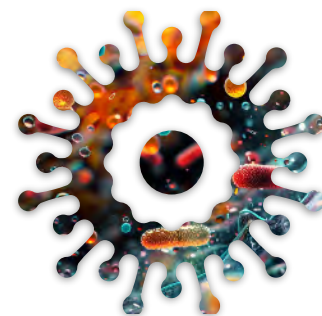
Evropský konsenzus ohledně dárcovských bank stolice

<https://gut.bmj.com/content/68/12/2111>

Dárcovská banka stolice Restore - Restart vč. kontaktu k navázání spolupráce <https://bsrr.cz/>

Stanovisko výboru ČMS - Fekální mikrobiomová terapie

<https://www.mikrobiom-cms.cz/stanoviska-cms/fekalni-mikrobiani-transplantace/>



## Metodické okénko aneb proč o střevním mikrobiomu stále h...o, pardon, STOLICI víme

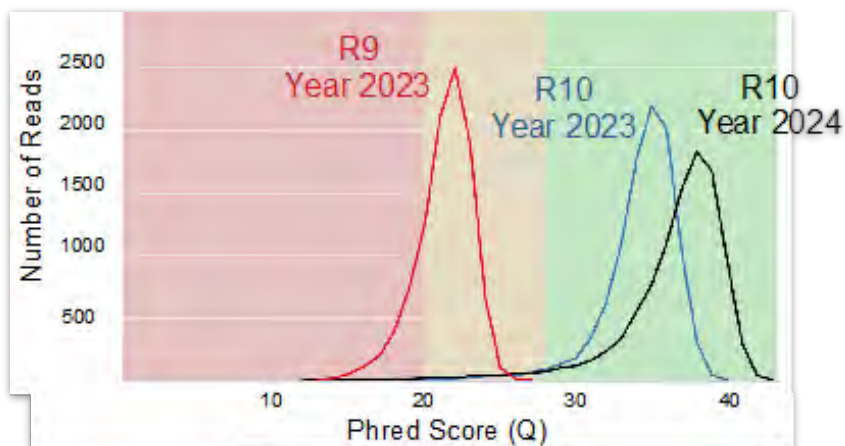
Jak jsem již předdeslala v minulém čísle, dneska se ujme metodické sekce někdo jiný. Firma [Seqme](#) se nabídla s námi podělit o zkušenosti, které mají se sekvenováním celého genu 16S rRNA pomocí technologie nanoporů (více jsem o této technologii psala v minulém čísle). A protože to vypadá, že třetí generace sekvenování se stane běžnou součástí našich metagenomických životů, budeme se zkušenostem uživatelů věnovat i v příštím čísle.

### Možnosti sekvenačního čtení (tzv. long readů) technologie Oxford Nanopore na příkladu sekvenování genu pro 16S rRNA s následnou identifikací bakterií

Technologie dlouhého čtení (tzv. long ready) Oxford Nanopore umožňuje sekvenovat celý gen pro 16S rRNA. Historicky měla data získaná touto technologií nižší přesnost, poslední pokroky v jejím vývoji však přinesly významnou změnu v přesnosti sekvenačních dat. Kombinace nové flowcellly s novou chemií, vyšší frekvencí záznamu elektrického signálu,



novým softwarem a vylepšenými algoritmy basecallingu umožňuje získávat dlouhé ready s vysokou kvalitou (Obr. 1).

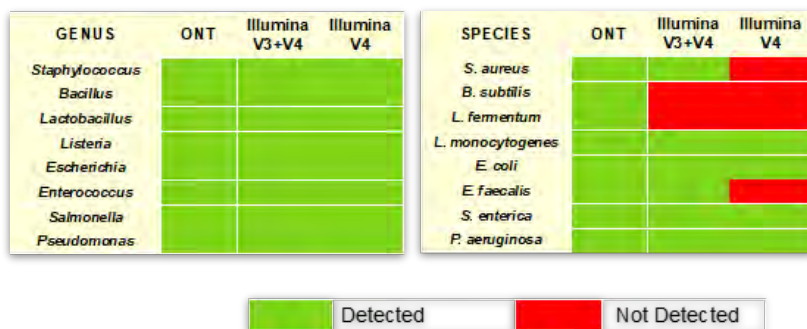


**Obrázek 1.** Kvalita 10 000 long readů genu pro 16S rRNA získaných pomocí technologie Oxford Nanopore (ONT). Graf znázorňuje distribuci phred skóre celého genu. Data byla získána pomocí flowcellly R9 (červená), R10 s doporučenými parametry v průběhu roku 2023 (modrá) a R10 s aktualizovanými parametry sekvenování v průběhu roku 2024 (černá). Ve všech případech byl basecalling proveden pomocí identického algoritmu.

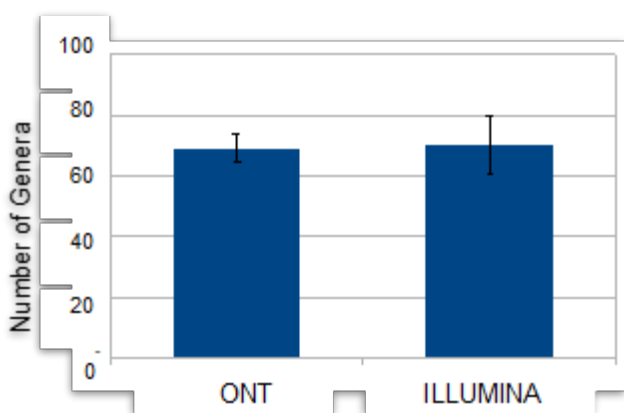
Vysoká kvalita dat otevírá nové možnosti pro využití dlouhých readů při analýze mikrobiálních vzorků. Se zlepšenou kvalitou dat a délkou sekvence se lze ponořit do přesnějšího dešifrování komplexních mikrobiálních komunit. Jedním z příkladů lepšího rozlišení bakterií je analýza kontrolního vzorku, tzv. mock komunity, sekvenované technologiemi ONT nebo Illumina (Obr. 2). Sekvenováním 16S rDNA kontrolního vzorku jsme byli schopni rozlišit mikroby na úrovni rodu pomocí technologií krátkého i dlouhého čtení. Ale pouze 16S rDNA plné délky byla schopna přesně rozdělit vzorek na úrovni druhů.

Ačkoli sekvenování oblasti V3+V4 genu pro 16S rRNA technologií Illumina poskytuje v metagenomice bakterií lepší rozlišení, V4 je preferovanější kvůli technologickým limitacím nových generací sekvenátorů Illumina. Délka knihovny ampliconů V4 je přibližně 420 nukleotidů, což je kompatibilní s nastavením sekvenování PE250. Tento režim sekvenování umožňuje nejen získat vyšší kvalitu čtení (ve srovnání se čtením PE300), ale s ohledem na délku ampliconu je možné i lepší spojení párových readů. Ekonomické hledisko hraje také důležitou roli, protože sekvenování PE300 regionu V3+V4 je dražší než PE250 regionu V4.

Podíváme-li se na data získaná sekvenováním vzorku lidské stolice, uvidíme velmi srovnatelný počet identifikovaných rodů mezi technologiemi Illumina (16S rDNA, oblast V4) a ONT (celý gen pro 16S rRNA) s využitím 20.000 a 10.000 čtení (Obr. 3). Vzhledem k tomu, že rozlišovací schopnost mezi krátkými a dlouhými čteními je různá, porovnali jsme počet identifikovaných rodů v jediném vzorku stolice oběma technologiemi několikrát. Podobnou korelaci můžeme vidět v případě různých vzorků, nezávisle na jejich původu (blíže neuvádíme). Počet rodů se může mezi vzorky lišit; počet identifikovaných rodů však dobře koreluje mezi daty získanými technologiemi Illumina a ONT.



**Obrázek 2.** Detekce bakterií na úrovni rodu a druhu v kontrolním vzorku na základě sekvenování celé 16S rDNA technologií ONT a dvou variant sekvenování variabilních oblastí 16S rDNA technologií Illumina (V3+V4 nebo V4).



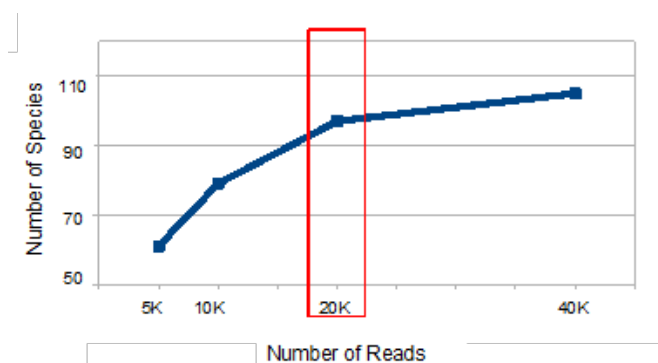
**Obrázek 3.** Počet identifikovaných bakteriálních rodů ve vzorku lidské stolice, několikrát sekvenováno technologií ONT (celý gen pro 16S rRNA) nebo Illumina (V4 oblast genu).

Nicméně rozlišovací schopnost byla mnohem vyšší na základě dat získaných sekvenováním celého genu pro 16S rRNA (obrázek 4), což je demonstrováno na příkladu rodu *Bacteroides*. Dalším příkladem je případ čeledi Enterobacteriaceae. Tato čeleď zahrnuje několik významných rodů včetně *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter* a dalších. Tyto rody zahrnují různé druhy, z nichž některé jsou dobře známými patogeny. Je pozoruhodné zmínit, že celková četnost zastoupení v rámci rodu *Bacteroides* nebo čeledi Enterobacteriaceae byla podobná, pokud porovnáváme data získaná technologií ONT nebo Illumina. Zároveň je také vhodné zmínit, že ne každý long-read lze anotovat až na druhovou úroveň. Existuje pro to několik pravděpodobných důvodů. Jedním z nich jsou sekvenační chyby, které jsou navzdory pokroku stále přítomny v 16S long-readech. Je obtížné říci, zda sekvenační chyby pochází z kroku PCR a/nebo vlastního sekvenování, nicméně obě možnosti mohou být příčinou faktu, že určité nízké procento readů nelze spolehlivě anotovat na úrovni druhu. Dalším důvodem jsou používané databáze. Mnoho databází, i když jsou obecně používány, stále obsahuje špatně anotované sekvence, které, jakmile jsou porovnány s ready vzorku, generují nespolehlivé výsledky.

Jednou ze základních otázek metagenomiky je také počet sekvenačních readů potřebných ke komplexnímu pochopení rozmanitosti vzorku. Počet readů silně závisí na původu vzorku.

Četnost	ONT (%)	V4 (%)	Četnost	ONT (%)	V4 (%)
<i>Bacteroides</i>	0.08	4.54	<i>Enterobacter</i>	0.68	41.30
<i>Bacteroides caccae</i>	0.52	0.00	<i>Enterobacter asburiae</i>	0.10	0.00
<i>Bacteroides cellulosilyticus</i>	0.08	0.00	<i>Enterobacter cloacae</i>	25.69	0.00
<i>Bacteroides dorei</i>	1.32	0.00	<i>Escherichia-Shigella</i>	0.53	11.53
<i>Bacteroides fragilis</i>	0.12	0.00	<i>Escherichia-Shigella coli</i>	11.12	0.00
<i>Bacteroides ovatus</i>	0.31	0.00	<i>Klebsiella</i>	0.08	0.00
<i>Bacteroides stercoris</i>	0.18	0.00	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.60	0.00
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	0.23	0.00	<i>Kluyvera</i>	1.18	0.00
<i>Bacteroides uniformis</i>	0.52	0.00	<i>Salmonella enterica</i>	0.12	0.00
<i>Bacteroides vulgatus</i>	0.77	0.00	<i>Citrobacter</i>	0.08	0.00
<i>Bacteroides xylanisolvens</i>	0.08	0.00	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1.14	0.00
<i>Bacteroides celkem</i>	4.23	4.54	<i>Citrobacter freundii</i>	1.39	0.00
			<i>Enterobacteriaceae celkem</i>	44.72	52.83

**Tabulka 1.** Taxonomické rozlišení rodu *Bacteroides* a čeledi Enterobacteriaceae ve vzorku lidské stolice na základě dat získaných technologiemi ONT nebo Illumina. Čísla označují procentuální zastoupení bakterií určených tou či onou technologií.



**Obrázek 4.** Vliv hloubky sekvenování genu pro 16S rRNA technologií ONT na detekci bakterií na úrovni druhů ve vzorku lidské stolice.

Podle našich zkušeností představuje 20 000 čtení přiměřené množství potřebné k dešifrování rozmanitosti vzorků lidské stolice. Obr. 4 ukazuje srovnání rozlišení vzorku lidské stolice provedené ze souborů dat obsahujících 5 000 (5 K), 10 000 (10 K), 20 000 (20 K) a 40 000 (40 K) readů.

V době rychlého rozvoje sekvenačních technologií je nezbytné ujasnit si všechna pro a proti každé nové aplikaci. Toho lze dosáhnout pouze neustálým získáváním experimentálních zkušeností a sledováním drobných detailů každého technologického přístupu.

Naše dlouholeté zkušenosti s prováděním metagenomického sekvenování a analýzy dat pro naše klienty ukazují, že technologie sekvenování krátkého i dlouhého čtení jsou obě pro daný účel vhodné a cenově srovnatelné.

Nicméně, mají-li být naplněna očekávání, závisí volba technologie na pečlivém posouzení cílů výzkumu a správném experimentálním designu, který by měl být pečlivě sladěn s dostupným rozpočtem a složitostí zkoumané mikrobiální komunity.

Vladimír Vimberg a laboratorní tým společnosti SEQme s.r.o., Dobříš

## Mikrobio(m)Novinky a zajímavosti

### Samčí neplodnost a vliv na zdraví budoucích potomků – také zde hraje mikrobiom jednu z hlavních rolí? Hraje „prim“ tzv. osa střevo - zárodečná linie?



Neplodnost je problém, který postihuje stále více párů, které by si přály založit rodinu. Kdo by to byl řekl, že bude existovat tolik vlivů, které se mohou zamíchat a ovlivnit tak jeden z nejpřirozenějších dějů v biologii? Neplodnost může postihnout jak ženy, tak muže a někdy mají smůlu oba najednou. A teď navíc zjišťujeme, že nám do tohoto

hází vidle i stav střevního mikrobiomu a to dokonce u otců, jejichž práce na celém procesu končí po pár minutách!!!

Ve studii z roku 2024, kterou vedl Argaw-Denboba a byla publikována v časopise Nature [1], se vědci zaměřili na samčí neplodnost, konkrétně u myších samců. Zkoumali, jak střevní mikrobiom ovlivňuje plodnost, počet mrtvě narozených potomků, porodní váhu a zdraví potomků v první generaci (F1). Mikrobiom myšáků byl buď ponechán bez jakéhokoliv zásahu, nebo byl narušen v šestém týdnu života (tedy v době dosáhnutí pohlavní zralosti) po dobu šesti týdnů antibiotiky a laxativy. Výsledky ukázaly, že stav mikrobiomu samců má vliv na početí a zdraví jejich potomků. Studie se soustředila na tzv. „osu střevo - zárodečná linie“ (což je cesta, kterou stav střevního mikrobiomu ovlivňuje reprodukční zdraví samců). Autoři popisují, jak citlivá je tato osa na vlivy prostředí a jak ovlivňuje zdraví potomků.

Je známo, že spermie předávají dědičnou informaci další generaci v genetické (sekvence DNA) a epigenetické (není založena na sekvenci DNA) formě. A tady to začíná být zajímavé: epigenetická složka může být ovlivněna ještě před početím a ovlivnit fenotyp potomstva. Stav střevní mikrobioty budoucích otců tedy hraje určitou roli ve zdravotním stavu potomků (V případě dysbiózy to může být nízká porodní váha, omezený růst či předčasná úmrtnost). Toto riziko je přenášeno přes pohlavní buňky a je způsobeno poruchami střevního

mikrobiomu. Změny ve spermatu zahrnují zhoršenou signalizaci leptinu, změny ve tvaru varlat, změny v profilech metabolitů a sRNA (malých RNA). Tyto změny prostřednictvím epigenetických mechanismů ovlivní komunikaci mezi plodem a placentou, což může vést k problémům s vývojem placenty a narušit zdravé těhotenství a vývoj potomků.

Ve studii byl vytvořen model střevní dysbiózy u myších samců pomocí neabsorbovatelných antibiotik (nABX). nABX neprocházejí epitelem gastrointestinálního traktu a způsobují akutní střevní dysbiózu. Pomocí sekvenace genu pro 16S rRNA bylo potvrzeno, že léčba po dobu 6 týdnů nízkou dávkou nABX vedla k rozvoji střevní dysbiózy, která však po 8 týdnech po přerušení léčby ustoupila. Dysbióza neměla žádné významné účinky na hmotnost nebo přežití samců, ale měli menší varlata, což koreluje s nižším počtem spermií. Přesto nebyl pozorován významný vliv na jejich schopnost plodit potomstvo. Navíc nABX nebyly pomocí hmotnostní spektrometrie detekované v cirkulujícím séru ani varlatech, což potvrzuje jejich specifické působení pouze ve střevě. Ke sledování dopadu indukované dysbiózy mikrobioty na potomstvo byli nABX samci pářeni s neléčenými samicemi. Potomci těchto otců měli statisticky významně nižší porodní hmotnost, menší váhové přírůstky a zvýšenou úmrtnost vůči kontrolní skupině. Studie se dále zabývala reverzibilitou procesu. Autoři zjistili, že po zotavení ze střevní dysbiózy způsobené antibiotickou 6týdenní léčbou (8 týdnů rekonvalescence) a po přidání cyklu spermatogeneze (5 týdnů) dochází k normalizaci a potomci nevykazovali oproti kontrole zvýšenou mortalitu ani zpomalení růstu.

Na závěr je třeba optimisticky poznamenat, že obnovením otcovské mikrobioty před početím lze snížit negativní dopady na zdravotní stav budoucích potomků.

Hana Sechovcová

### Literatura:



[1] Argaw-Denboba, Ayele et al. "Paternal microbiome perturbations impact offspring fitness." Nature vol. 629,8012 (2024): 652-659. doi:10.1038/s41586-024-07336-w [ZDE](#)

## Geneticky modifikovaná probiotika: Nový horizont ve zdravotní péči

Na nedávné konferenci IPC 2024 jsme mohli slyšet o novince ze světa probiotik. Startup ZBiotics [1] nedávno uvedl na trh první geneticky modifikované probiotikum [2]. Toto probiotikum je navrženo tak, aby rozkládalo acetaldehyd, vedlejší produkt metabolismu alkoholu, který je spojen s příznaky kocoviny. Modifikovaný kmen *Bacillus subtilis* obsahuje gen pro acetaldehyd dehydrogenázu, která umožňuje snížit hladiny acetaldehydu v těle a potenciálně zmírnit účinky kocoviny. Pro modifikaci bakterií nebylo potřeba použít technologii CRISPR. Společnost místo toho využila starší metodu zvanou homologní rekombinace, při které dojde k výměně jednoho úseku DNA za jiný.

Budoucí vývoj probiotik může zahrnovat i sofistikovanější návrhy k vytvoření probiotik - například schopných produkovat širokou škálu terapeutických sloučenin, přizpůsobených individuálním zdravotním potřebám jedince. Další významná studie od Sawabe a kolektivu z roku 2024 [3] se zabývala konstrukcí a charakterizací hypervezikulujícího kmene *Escherichia coli* Nissle 1917. Tento modifikovaný kmen vykazuje zvýšenou produkci vezikul, do kterých může zabalit terapeutické látky, které si sám vyrobí. Mohou to být proteiny, lipidy nebo nukleové kyseliny, které mají léčebný účinek. Vezikuly slouží jako malé "doručovací balíčky",

kteře mohou tyto molekuly cíleně transportovat do specifických buněk v gastrointestinálním traktu, což zvyšuje účinnost léčby.

Jak technologie postupuje, klíčové bude udržet rovnováhu mezi inovací a bezpečností. Je nezbytné, aby nové produkty nejen zlepšovaly naše zdraví, ale aby zůstaly bezpečné pro širokou veřejnost i pro naše životní prostředí. Evropa se svým opatrným přístupem k regulaci geneticky modifikovaných probiotik se již nyní liší od ostatních velkých hráčů na trhu, jako jsou Spojené státy a asijské země. Jistě bude velmi zajímavé sledovat, jak se tato oblast bude vyvíjet. Aktuálně máme v ČR poměrně přísná pravidla a velmi pečlivý dohled Ministerstva životního prostředí (kategorie I a II) a SUJB (kategorie III a IV) i nad uzavřeným nakládáním s GMO. Uzavřené znamená, že si GMO můžeme používat v laboratoři, ale rozhodně se nesmí stát, že by nám něco „uteklo“ ven. Z tohoto pohledu byste se po požití takového probiotika také mohli stát nechtěnými zločinci, protože po opuštění toalety vám mohou nasadit klepeta za vypouštění živých geneticky modifikovaných mikroorganismů do přírody (ač teda nazývají kanalizaci přírodou...) Dobrá, s těmi klepety trošku přeháníme, ale rozhodně se jedná o nesmírně zajímavou, složitou a nedořešenou právní problematiku – do některého z dalších čísel se pro Vás pokusíme získat informace ze zasvěcenějších míst.

Eliška Pivrcová

#### Literatura:

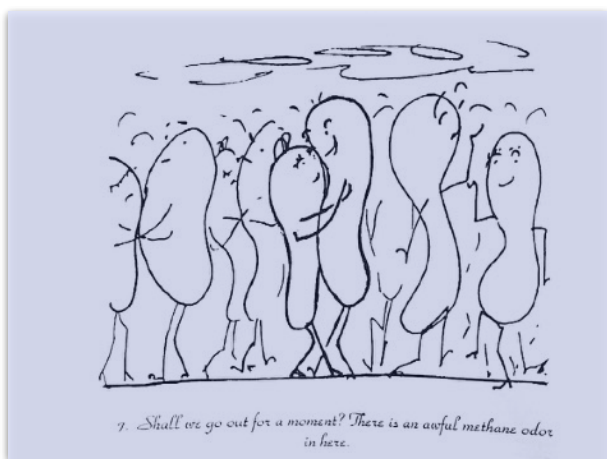


[1] <https://zbiotics.com> [ZDE](#)

[2] Appala Naidu, B et al. "Lyophilized B. subtilis ZB183 Spores: 90-Day Repeat Dose Oral (Gavage) Toxicity Study in Wistar Rats." Journal of toxicology vol. 2019 3042108. 3 Nov. 2019, doi:10.1155/2019/3042108 [ZDE](#)

[3] Sawabe, Tomomi et al. "Construction and characterization of a hypervesiculation strain of Escherichia coli Nissle 1917." PloS one vol. 19,4 e0301613. 2 Apr. 2024, doi:10.1371/journal.pone.0301613 [ZDE](#)

## Mikrobio - humor



Nepůjdeme na chvíli ven? Ten metanový odér je šílený.

Velké poděkování patří rodině pana Leoše Mandela za svolení ke zveřejnění laskavého mikrobiálního kresleného humoru a také RNDr. Iljovi Trebichavskému, CSc., který obrázky Leoše Mandela shromáždil a knižně vydal.

#### Redakční rada Mikrobio(m)novin:

doc. RNDr. Monika Cahová, Ph.D., IKEM, Praha  
Mgr. Lucie Najmanová, Ph.D., Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha  
MUDr. Jakub Hurych, Ph.D., Ústav lékařské mikrobiologie, 2.LF UK a FN Motol, Praha  
Mgr. Petra Vídeňská, Ph.D., Mendelova univerzita v Brně, Ústav chemie a biochemie, Brno  
Ing. Mgr. Hana Sechovcová, Ph.D., Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i., Praha; Česká zemědělská univerzita v Praze  
Mgr. Eliška Pivrcová, Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha  
MUDr. Jiří Vejmelka, Interní klinika 3. LF UK a Fakultní Thomayerova nemocnice, Praha

Grafické zpracování: Mgr. Michaela Bartoňová  
[www.michaelabartonova.cz](http://www.michaelabartonova.cz)

ISSN 3029-5408

Vychází 4-6x/rok

Ilustrační foto jsou generovaná na Ai

Těšíme se na vaše reakce, podněty a zajímavé příspěvky, které můžete zasílat na adresu: [cms@mikrobiom-cms.cz](mailto:cms@mikrobiom-cms.cz)