

# MIKROBIOMNOVINY

## Informační servis

České mikrobiomové společnosti ČLS JEP, z.s.

### Motto měsíce:

"Z klku do krypty když koukal, o střevě si píseň broukal."

*Neznámý hudební mikrob  
v básnickém střevě*

### Upozornění na akce:

**ČMS připravuje** první metodický seminář o analýze mikrobiomu!  
Více v odkazu [ZDE](#)



### Konference:

**8. 4. 2025**

19. Sympozium Společnosti pro probiotika a probiotika, Praha [ZDE](#)



**16. 6. - 19. 6. 2025**

3rd Food, Microbiota and Immunity 2025, Praha [ZDE](#)



## Editorial

Milé čtenářky, milí čtenáři

Máme tu téměř jaro a vy už se určitě těšíte, co nového vám letos v Mikrobio(m)novinách přineseme. V první řadě musíme poděkovat všem, kdo vyplnili naši anketu. A těm osmi, kteří čtou Editorial zde slavnostně slibují, že s ním stejně nepřestaneme 😊. Tak nějak by to bez něj nebylo úplně.

Anketou jste nám sdělili, že si noviny našly své pravidelné čtenářky a čtenáře a dodali jste nám optimismus do další práce. Otázku, zda psát delší a podrobnější články či raději čtení ke kávě, jsme nerozlouskli, hlasování vyšlo těsně 53:47 (%). Redakční rada se tedy rozhodla vykonat zázrak (takový ten, co se stává přibližně jednou za 300 let) a vyhovět všem. Snížíme sice z kapacitních důvodů periodicitu, ale čísla budou obsáhlejší a budeme postupně zavádět novinky, o které jste si psali. Zároveň ale sem tam pošleme nějaký tematický článek, buď z aktuálního, nebo i archivního čísla, aby si i milovníci čtení ke kávě přišli na své. A to nejčastější přání, větší zaměření na klinicky relevantní témata (možnosti využití poznatků v praxi, rozhovory s lékaři, přesah do běžného života) začneme plnit hned.

**13. 9. 2025 - 16. 9. 2025**

47th ESPEN Congress, Praha

[ZDE](#)**8. 10. - 9. 10. 2025**First Conjoint Meeting of  
RIKEN and International  
Society of Microbiota, Tokyo,  
Japan. [ZDE](#)

V prosinci loňského roku v prestižním časopisu The Lancet Gastroenterology & Hepatology vyšel článek, který nám mluví z duše a jehož shrnutí vám dnes s největší radostí servírujeme jako hlavní chod. Začneme také postupně představovat skupiny, které se u nás věnují mikrobiomovému výzkumu (první pokus o networking před několika lety nevyšel, tak to zkusíme jinak). Do dalších čísel pak také plánujeme novou rubriku, kde se lékaři podělí o své zkušenosti z praxe, to ale až příště.

Dnes se kromě mezinárodního konsensu můžete těšit ještě na shrnutí článku, kterak volba antibiotika ovlivňuje riziko klostridiové kolitidy, v okénku si můžete přečíst rozhovor o využití sekvenační technologie ONT v klinické praxi a samozřejmě nechybí pozvání na akce s mikrobiomovou tematikou.

Přejeme Vám příjemné čtení, a hlavně úspěšný a příjemný celý rok 2025.

Lucie Najmanová



## Mezinárodní konsensus ke klinickému využití testování mikrobiomu

Jak se má zachovat lékař, když přijde pacient s rozsáhlým výsledkem analýzy svého mikrobiomu od některé z mnoha komerčních firem působících na trhu, a žádá jeho „opravu“? Může být analýza střevního mikrobiomu klinikům k užitku? Jak rozeznat dobře a špatně provedenou analýzu? A jak ji interpretovat? Opravdu nemůžeme pro pacienty udělat něco víc, když se o mikrobiomu publikují nové poznatky v podstatě každý den? Takové otázky si kladou mnozí lékaři, a i z toho důvodu jsme v České mikrobiomové společnosti ČLS JEP s nadšením uvítali článek vydaný v prosinci 2024 v prestižním časopise The Lancet Gastroenterology and Hepatology[1].

Komplexní analýza mikrobiomu a následně jeho cílená manipulace se v klinické praxi využívají dosud jen ve velmi omezeném měřítku. V ČR je schválen pouze přenos fekální mikrobioty (tzv. fekální transplantace, FMT) u rekurentní klostridiové infekce. Ve stadiu klinické studie je FMT také jako podpůrná terapie při léčbě melanomu pomocí inhibitorů kontrolních bodů imunity (ICI). Tyto léky, jako např. nivolumab nebo pembrolizumab, pomáhají imunitnímu systému lépe rozpoznávat a ničit nádorové buňky.

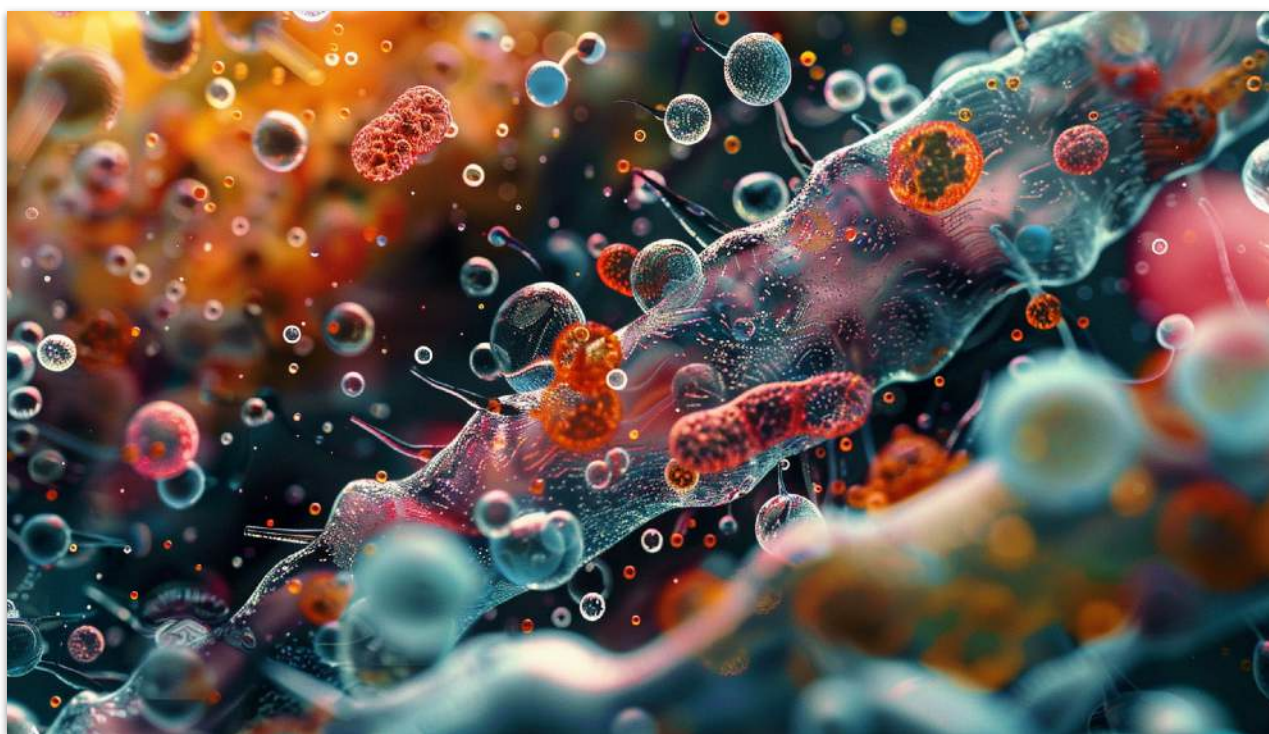
Pro tuto zdrženlivost existují velmi dobré důvody, mimo jiné:

- obrovská komplexita mikrobiálních systémů a faktorů, které je mohou ovlivňovat, jež ve svém součtu velmi komplikují interpretaci výsledků analýz;

- problematické rozlišení příčinných souvislostí (značná část dostupných vědeckých dat ukazuje na korelaci konkrétního parametru mikrobiomu s určitým zdravotním stavem, ovšem není jasné, zda se jedná o příčinu, následek, či výsledek sekvence postupných vzájemně se ovlivňujících změn) ;
- vysoká specifita mikrobiomu pro konkrétní typ hostitele, a tudíž problematický přenos poznatků ze zvířecích preklinických modelů do humánní medicíny;
- rychlý vývoj laboratorních i bioinformatických postupů, který znemožňuje v současnosti stanovit „zlatý metodický standard“;
- limitované povědomí klinických specialistů o tomto novém a prudce se vyvíjejícím multidisciplinárním oboru;
- absence regulačních mechanismů pro transfer výzkumných poznatků do klinické praxe.

V kontrastu s tím je komerčně a sociálními sítěmi živený zájem laické veřejnosti o zavedení diagnostiky a terapie založené na analýze a manipulaci mikrobiomu do rutinní praxe. Řada soukromých poskytovatelů využila tento rostoucí zájem veřejnosti a absenci regulačních mechanismů, a nabízí testování mikrobiomu (v naprosté většině střevního na základě analýzy vzorku stolice), interpretaci výsledků a v řadě případů i produkty nebo personalizovaná doporučení zaměřená na zlepšení zdraví.

Ve vědecké komunitě vyvolává tento stav značné znepokojení, neboť neexistuje standardizovaný laboratorní protokol, všeobecně akceptovaná metoda bioinformatického zpracování dat a nejsou ani nastaveny podmínky indikace těchto testů, což výrazně omezuje jejich interpretovatelnost a použitelnost. V důsledku toho dochází k plýtvání prostředků pacientů i zdrojů zdravotního systému, např. neodůvodněné vyžadování dalších vyšetření pacientem nebo předepisování zbytečné medicíny. Závažným problémem může být vzbuzování neoprávněných očekávání na straně pacientů se závažnými zdravotními problémy.



Tato situace vedla k vytvoření mezinárodního expertního panelu 69 předních odborníků a odborníků z 18 zemí, kteří se věnují výzkumu lidského mikrobiomu. Cílem bylo shrnout a standardizovat osvědčené postupy testování mikrobiomu při léčbě lidských onemocnění, zhodnotit mezery ve znalostech a budoucí směry výzkumu v této oblasti a pomoci připravit půdu pro rozvoj diagnostiky lidského mikrobiomu v klinické praxi založené na důkazech.



Konsensu bylo dosaženo s využitím delfské metody (Metoda delfská - Sociologická encyklopedie[2]) následujícím způsobem: celý panel se nejprve podílel na identifikaci pěti klíčových oblastí. Následně byly vytvořeny tematicky zaměřené pracovní skupiny, tvořené panelisty/kami patřičných odborností. Pracovní skupiny formulovaly v rámci své oblasti konkrétní výroky (statements), které by měly být dle jejich názoru součástí obecných zásad/doporučení. Dalším krokem byla diskuse konkrétních výroků v rámci celého panelu. Všichni členové a členky panelu vyjádřili svůj postoj k jednotlivým výročkům na škále od 1 (plně souhlasím) do 5 (zcela nesouhlasím). U všech tvrzení, která nedosáhla hodnocení 1, byli experti a expertky vyzváni k vysvětlení svého postoje a navržení jiné formulace. Konkrétní tvrzení bylo zařazeno do výběru pouze v případě, že se 80 % panelistů shodlo na hodnocení 1 nebo 2. Ostatní tvrzení byla přeformulována a zařazena do dalšího kola. Výsledkem procesu je soubor 35 obecných zásad a doporučení, u kterých bylo po dvou kolech hlasování dosaženo nejméně 80% shody. Tyto zásady přehledně shrnuje obr. 1. V plném znění jsou uvedeny na konci tohoto čísla jako první "mikro suplementy".

Doporučení panelu se v principu shodují s našimi stanovisky [3]. Za zvlášť důležitá považujeme doporučení týkající se interpretace výsledků a zprávy pro zákazníka, konkrétně:

**#26 Uvádění poměru Firmicutes (nově Bacillota) a Bacteroidetes (nově Bacteroidota) se nedoporučuje.**

**#27 Neexistuje dostatek důkazů pro uvádění jakéhokoli indexu dysbiózy; nicméně výzkum v tomto ohledu je žádoucí.**

**#28 Obecně není k dispozici dostatek informací, aby bylo možné uvést referenční rozmezí („zdravé“, „normální“ hodnoty) relativního zastoupení jednotlivých taxonů.**

**#30 Panel nedoporučuje, aby poskytovatel testování udílel na základě výsledků analýzy mikrobiomu jakékoli terapeutické rady.**

V některých případech ovšem bylo zjevně dosažení konsensu obtížné a postupným přeformulováním se výrok sice stal většinově přijatelným, ale z praktického hlediska obtížně uchopitelným.

Například #18: „Součástí testování mikrobiomu by mělo být srovnání s odpovídající zdravou kontrolní skupinou, které by usnadnilo interpretaci výsledků konkrétního pacienta.“ V tomto případě je termín „odpovídající zdravá kontrolní skupina“ sice nenapadnutelný, ale obtížně definovatelný. Pojem „zdravá“ totiž může zahrnovat mnoho stavů od nepřítomnosti jakékoli nemoci až po nepřítomnost pouze té nemoci, která je testována. Pojem „odpovídající“ zase není dobře definován ani co do velikosti skupiny (samozřejmě čím větší, tím důvěryhodnější je výsledek srovnání), ani ve smyslu dalších parametrů, které všechny mohou stav mikrobiomu ovlivňovat (např. věk, pohlaví, etnikum, geografická lokalizace, BMI, životní styl včetně diety, historie užívání antibiotik apod.). Pro reálnou aplikaci tohoto pravidla by tedy bylo vhodné definici zdravé kontrolní skupiny zpřesnit.

Komentář si zaslouží také výrok #4 „Laboratoře, které provádějí testování mikrobiomu, by měly zaručovat vysoký standard kvality v práci s patientskými daty a zajistit ochranu údajů pacientů. Tyto laboratoře by měly být akreditované, registrované a jejich činnost by měla podléhat regulaci.“ Je pochopitelné, že mezinárodní orgán nemůže reflektovat konkrétní zákonné normy a zvyklosti jednotlivých zemí, proto je formulace „činnost by měla podléhat regulaci“ velmi obecná. Potřeba akreditace, odborného dozoru i kontroly kvality je nezpochybnitelná, nicméně reálné provedení komplikuje fakt, že v České republice není zcela zjevné, jaký orgán a na základě jakých parametrů by měl akreditaci udělovat a kontrolu provádět. V této věci je zapotřebí iniciovat odbornou diskuzi.

### **Závěr:**

Mezinárodní panel dospěl ke shodě v tom, že mikrobiom je důležitou složkou lidského těla a jeho stav nezpochybnitelně souvisí s lidským zdravím, ale dosud nebyla standardizována metoda analýzy, a interpretace výsledků vzhledem ke zdraví jedince zatím není dostatečně průkazná. Pro široké použití v klinické praxi je nutný další výzkum. Testování by vždy mělo být

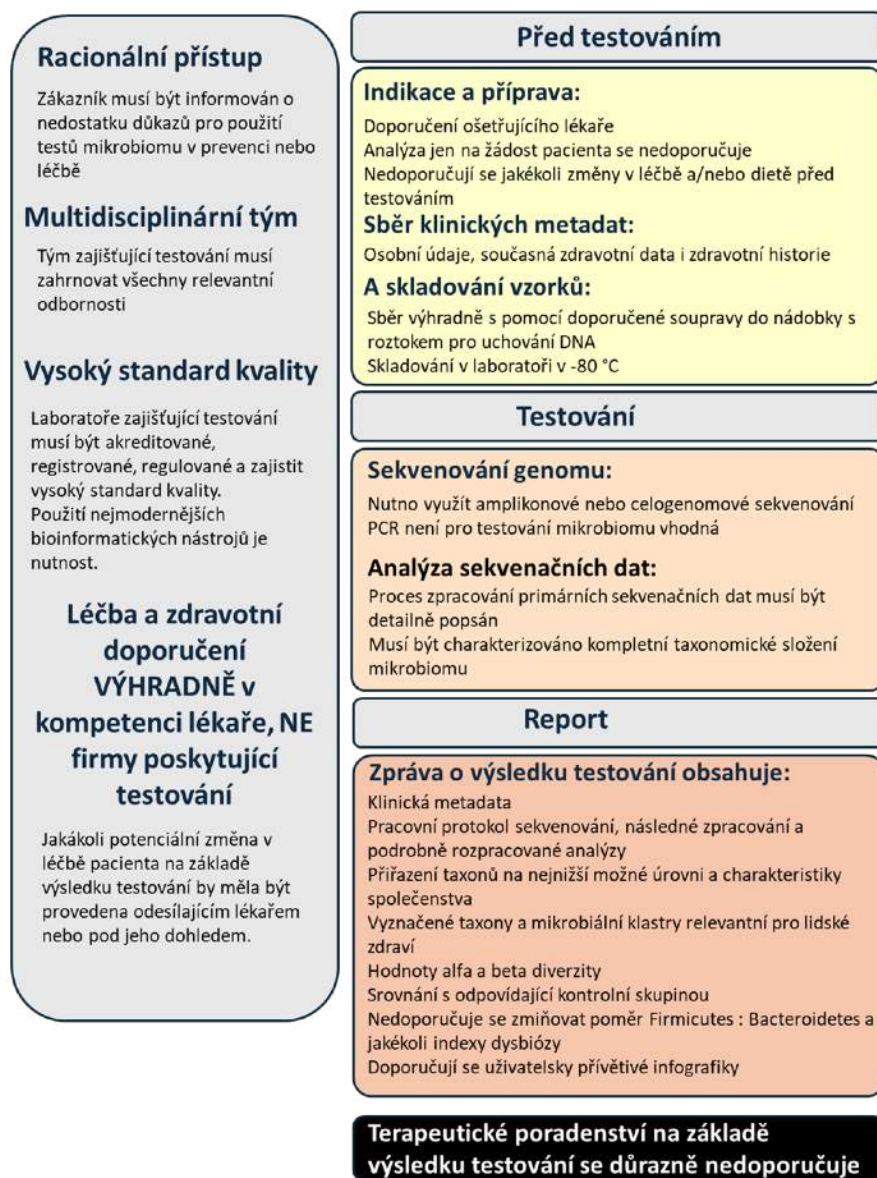


indikováno ošetřujícím lékařem, poskytovatelé musí podléhat akreditaci a přísné kontrole kvality a musí být zajištěno srovnání s relevantní zdravou kohortou.

**Ani při dodržení všech těchto podmínek však poskytovatelé služby nemohou na základě výsledku testování vynášet zdravotní doporučení a upravovat léčbu.**

Klient/pacient by měl být vždy důkladně informován o tom, že se nejedná o evidence-based metodu a pro konkrétní doporučení stále neexistuje dostatek důkazů.

**Obr. 1** Obecné zásady a minimální požadavky na zajištění testování mikrobiomu.



Lucie Najmanová a Monika Cahová

Literatura:

[1] Porcari, Serena et al. "International consensus statement on microbiome testing in clinical practice." The lancet. Gastroenterology & hepatology vol. 10,2 (2025): 154-167. doi:10.1016/S2468-1253(24)00311-X

[2] [https://encyklopedie.soc.cas.cz/w/Metoda\\_delfsk%C3%A11](https://encyklopedie.soc.cas.cz/w/Metoda_delfsk%C3%A11)

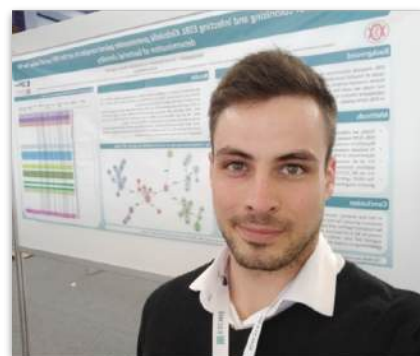
[3] <https://www.mikrobiom-cms.cz/stanoviska-cms/komercni-analyza-mikrobiomu/>

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

Drazí a milí čtenáři, ani tentokrát jsem neodolala rozhovoru s uživateli nanoporové technologie. Podařilo se mi totiž potkat člověka, který tuto technologii využívá nejen v ryze vědeckém prostředí, ale i v **klinické** praxi. Myslím, že pro mnohé z vás bude stejně jako pro mě zajímavé dozvědět se, jaké je praktické využití této nové technologie a jaké s nimi již existují rozsáhlé zkušenosti.

### Mgr. Matěj Bezdíček, Ph.D.

Matěj Bezdíček vystudoval obor Mikrobiologie a molekulární biotechnologie na Přírodovědecké fakultě Masarykovy univerzity v Brně. Titul Ph.D. získal v roce 2022 na Lékařské fakultě Masarykovy univerzity a v roce 2024 získal atestaci z klinické mikrobiologie. Od roku 2015 pracuje v Centru molekulární biologie a Genetiky pod Interní Hematologickou a Onkologickou Klinikou ve Fakultní nemocnici Brno, kde se věnuje diagnostice oportunních infekcí, nemocniční epidemiologii multirezistentních bakterií a zavádění moderních laboratorních metod do klinické praxe.



### Kde všude technologii nanopore využíváš?

Využívám ji zejména v oblasti nemocniční epidemiologie, při studiu mikrobiomu a zkoušíme ji také v diagnostice, i když tam jsme zatím ve fázi testování, co všechno nanopore zvládne v porovnání se současnými, standardně využívanými metodami.

### Můžeš mi povědět více o tom, co je to nemocniční epidemiologie a k čemu tam technologie nanopore využíváte?

Nemocniční epidemiologie se zaměřuje na prevenci, sledování a kontrolu infekcí spojených se zdravotní péčí (tzv. nozokomiálních infekcí). Studuje šíření patogenů v nemocničním prostředí, identifikuje rizikové faktory pro vznik infekcí a navrhuje opatření ke snížení jejich výskytu. Je to také jeden z klíčových nástrojů pro boj s rezistencí na antimikrobiální látky, tedy zejména antibiotika a antimykotika. V praxi to funguje tak, že se u nás setkávají dva typy vzorků - pravidelné odběry, které slouží jako kontrola šíření nozokomiálních patogenů a multirezistentních bakterií, a vzorky z právě probíhajících tzv. outbreaků (náhlý a zvýšený výskyt konkrétního patogena na konkrétním místě), kdy je snaha co nejdříve situaci podchytit. V případě, že se objeví více případů způsobených stejným patogenem, je potřeba zjistit, zda se jedná o přímý přenos, tedy zda jeden kmen bakterie nakazil více pacientů a opravdu se jedná o lokální outbreak, nebo jestli je to náhoda a onemocnění jsou způsobena různými kmeny a není tedy potřeba přijímat rozsáhlá a nákladná epidemiologická opatření.

Prvními kroky u takovýchto vzorků jsou jednoduché základní analýzy, jako je ribotypizace<sup>1</sup>, MLST<sup>2</sup> nebo u nás v laboratoři velmi oblíbená HRM-PCR<sup>3</sup>. Tyto analýzy umožňují rychlou reakci na nastalou situaci, což, spolu s nízkou cenou, je jejich největší výhodou. Nicméně některé kmeny se mohou lišit opravdu jen těžko detekovatelnými změnami v DNA a tam s úspěchem

nyní využíváme nanopore technologii, která je s příchodem nové verze sekvenační chemie dostatečně přesná a zároveň levná. Například u rodu *Acinetobacter* se nám nedařilo klasickou REP-PCR<sup>4</sup> ani pomocí MLST metody odlišit jednotlivé kmeny, kdežto po sekvenaci nanopore technologií jsme dokázali rozpoznat ve vzorku několik klastrů, které odpovídají běžné epidemiologické situaci. Tato precizní a přesná detekce nám již umožnila zavést v nemocnici celou řadu opatření, kdy byly nozokomiální infekce způsobeny překvapivým zdrojem.

### **Jaký přístroj používáte a když říkáš levná, kolik si pod tím mám představit?**

Používáme novou verzi sekvenátoru PromethION, konkrétně PromethION 2 Solo, kde se s cenou dostáváme na třetinu oproti menšímu MinIONu. V jednom sekvenačním běhu analyzujeme obvykle 96 izolátů, přičemž naplnit kapacitu pro nás vzhledem ke sběru vzorků z celé nemocnice není problém. Při pokrytí sekvenovaných genomů 150-400x, v závislosti na velikosti genomu konkrétní bakterie, nás analýza vzorku včetně izolace a přípravy knihovny vyjde zhruba na 800 Kč.

### **Pořád se mluví o tom, že data z Nanopore technologie nedosahují kvality short-readových sekvenátorů. Dělal jste nějaké porovnání?**

Při analýze izolátů využíváme přístup *de novo* sestavení genomů<sup>5</sup>, nikoliv mapování získaných dat k referenci<sup>6</sup>. U mapování zůstává zhruba pětina dat nevyužita, přitom však mohou nést velmi důležité informace. Proto jsme i v minulosti používali hybridní analýzu, kdy jsme kombinovali krátká čtení z Illuminy s dlouhými čteními z MinIONu, která tvořila kostru genomu. Stovky kmenů, které prošly právě přes hybridní přístup, jsme znovu analyzovali pouze za použití dat z PromethIONu. Kmeny se od sebe lišily v průměru o tři nukleotidy na genom o velikosti zhruba 5,5 milionu bazí, což považuji za velmi slušný výsledek, a proto jsme pro tento typ analýz dali zelenou pouze PromethIONu.



### **Jaké další výhody pro vás tento přístup má?**

Vlastně nám to dost zjednodušilo celý proces, v konečném důsledku šetří čas i peníze. Kromě jednoduché odpovědi na otázku, zda jsou kmeny shodné nebo ne, dostaneme informace o genech rezistence, genech

virulence, dokážeme poskládat celé plazmidy a sledovat jejich šíření. I když zatím standardem zůstává MLST analýza, kterou potřebujeme zejména pro srovnání s jinými nemocnicemi z celého světa, můžeme si ji *in silico* vytáhnout přímo ze sekvenačních dat. Věřím ale, že brzy se standardem stane samotné sekvenování, vzhledem k výhodám, které tento přístup přináší. Díky možnosti zpracovávat ONT data v real-time režimu lze s očekávaným rozšířením portfolia



dostupných bioinformatických nástrojů předpokládat, že nahradí i „klasické“, rychlejší metody v „real-time“ epidemiologii.

### **A jak používáte PromethION při analýzách mikrobiomu?**

Sekvenujeme zejména celý gen pro 16S rRNA, protože na rozdíl od metagenomického sekvenování (WMGS) se nemusí díky PCR kroku tolik řešit množství a kvalita vzorku, která může být u některých klinických vzorků problematická. Také zde nehrozí problém s velkým množstvím lidské DNA, jejíž přítomnost analýzu komplikuje a násobně prodražuje. Začali jsme s kitem přímo od Oxford Nanopore Technologies, ale nevyhovoval nám – při sekvenacích mock komunit<sup>7</sup> jsme nedosahovali správného zastoupení bakterií. Proto jsme si na základě literatury nechali nasynťetizovat vlastní primery s extenzemi pro nanopore sekvenování. Následně jsme přizpůsobili bioinformatickou pipeline a nyní jsme s výsledky spokojeni, protože oproti sekvenaci krátkými čteními dosahujeme lepší rozlišitelnosti. Nyní sekvenujeme zhruba 300-400 tisíc čtení na vzorek a zavádíme i primery pro mykobiom, kdy si díky dlouhým readům dokážeme přesekvenovat ITS1, ITS2 a divergentní oblasti<sup>8</sup>. Celkové náklady se i zde pohybují kolem 800 Kč na vzorek. Tyto přístupy používáme zejména u vzorků stolice u specifických pacientů a chystáme se na analýzu vzorků z bronchoalveolární laváže.

### **Zmínil jsi i diagnostiku, jak se zde uplatňuje nanopore technologie?**

Využití této metody v diagnostice je zatím v experimentální fázi, ale věřím, že zejména u imunokompromitovaných pacientů infekcemi bude mít velkou budoucnost. U těchto infekcí je obtížné uplatňovat standardní postupy, protože se často nejedná o klasické patogeny, ale v podstatě o téměř jakoukoliv bakterii či plíseň z okolního prostředí. Navíc může být přítomno více mikrobů najednou a jejich rozlišení je složité. Musíme se ale ještě vypořádat s problematickým vstupním materiálem a zejména náročnou interpretací získaných výsledků.

### **Děkuji za velmi podnětný a zajímavý rozhovor. Máš ještě nějakou radu na závěr?**

Určitě. Každému, kdo začíná s nanopore sekvenováním, doporučuji velmi dobře optimalizovat izolaci DNA. Jednou z mála nevýhod této technologie je, že je méně robustní, co se týká požadavků na vstupní materiál, než short-readové sekvenátory. Aby bylo dosaženo co nejlepšího výstupu, DNA by měla být velmi čistá, v dostatečném množství a ideální délka fragmentů vstupujících do analýzy by se měla pohybovat mezi 10-35 kb. Rozdíly v kvalitě a množství získaných dat pak mohou být v závislosti na kvalitě vstupního materiálu markantní.

**Tento rozhovor ukazuje, že nanopore technologie má velký potenciál nejen ve výzkumu, ale i v klinické praxi. Děkuji dr. Matějovi Bezdíčkovi za podnětné informace a těším se na další novinky v této oblasti!**

Petra Vídeňská

### **Vysvětlivky k odborným termínům**

**1Ribotypizace** - Metoda pro charakterizaci bakteriálních kmenů na základě variací v ribozomální DNA (rDNA). Používá se k určování genetických příbuzností mezi mikroorganismy a ke sledování epidemiologie infekcí.

**2MLST (Multilocus Sequence Typing)** - Molekulární metoda typizace bakterií založená na sekvenování několika vybraných genů. Používá se k rozlišování kmenů mikroorganismů na základě variací v jejich genomu.

**3HRM-PCR (High-Resolution Melting PCR)** - Metoda polymerázové řetězové reakce s vysokorozlišovací analýzou tání DNA. Slouží k detekci mutací, polymorfismů a genetických variací v DNA vzorcích.

**4rep-PCR (Repetitive Element Palindromic PCR)** – Metoda využívající opakující se palindromické sekvence v genomu k charakterizaci a porovnávání mikrobiálních kmenů. Používá se k epidemiologickým studiím a analýze genetické příbuznosti bakterií.

**5De novo sestavování genomu** – Proces skládání genomové sekvence z krátkých nebo dlouhých čtení bez předchozí znalosti referenční sekvence. Používá se zejména u dosud neznámých nebo málo popsanych organismů.

**6Resekvenování** – Sekvenování genomu s využitím již existující referenční sekvence. Používá se ke zjištění mutací, strukturálních variant nebo genetických odchylek od známého genomu.

**7Mock komunita** – Uměle vytvořená směs známých mikroorganismů, která se používá pro testování sekvenačních metod a bioinformatických pipeline. Slouží k ověření přesnosti a citlivosti analýz mikrobiálních komunit.

**8Divergentní oblasti v 28S rRNA** – Variabilní sekvence v genu pro 28S ribozomální RNA, které se liší mezi druhy a umožňují jejich taxonomickou identifikaci. Nejčastěji se analyzují D1, D2 a D3 domény, které jsou užitečné ve fylogenetických studiích.

## Mikrobio(m)novinky a zajímavosti



### Je možné obnovit lidský střevní mikrobiom změnou diety a je možné zde opět nalézt bakteriální druhy, které byly ztraceny?

Není žádným překvapením, že strava významně ovlivňuje složení střevního mikrobiomu a tím i zdraví člověka. Moderní životní styl a konzumace průmyslově zpracovaných potravin vedou ke změnám v mikrobiomu, včetně ztráty některých bakteriálních druhů.

Studie vědecké skupiny Fuyonga Li et al., publikovaná v Cell (2025) [1], se zaměřila na otázku, zda lze střevní mikrobiom obnovit změnou stravy a zda se v něm mohou znovu objevit dříve ztracené bakterie – konkrétně *Limosilactobacillus (Lactobacillus) reuteri*. Studie se také věnovala otázce výhod diety neobsahující vysoce průmyslově zpracované potraviny pro kardiometabolické zdraví – a výsledky ukázaly, že tyto benefity existují.

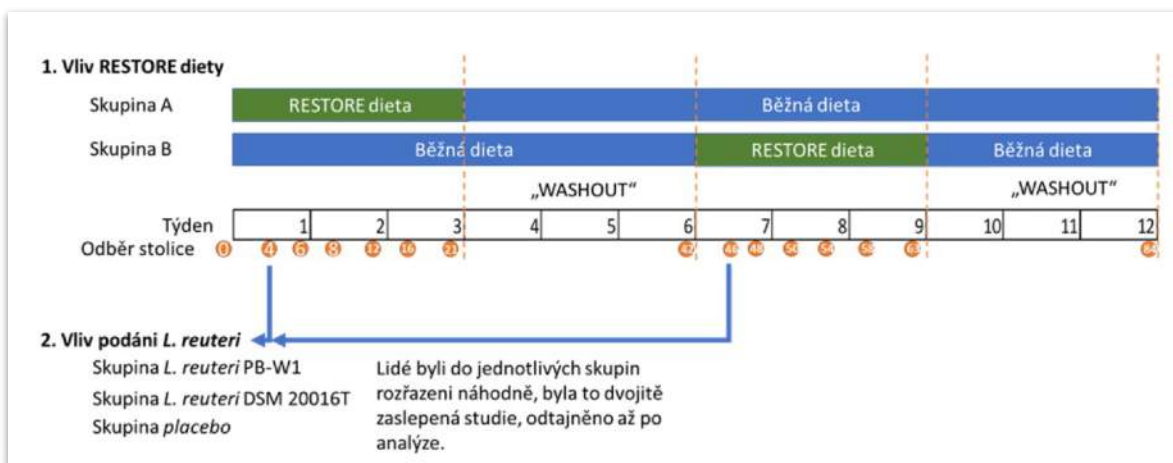
Vědci testovali Restore (ozdravovací) dietu, inspirovanou stravou venkovských obyvatel Papuy-Nové Guineje, kterou bylo možné sestavit i v Kanadě. Dieta zahrnovala například fazole, sladké brambory, rýži, okurky, zelí, topinambury, hrách a cibuli – tedy potraviny bohaté na prebiotické látky podporující růst *L.reuteri*. Důležité bylo vyřazení vysoce průmyslově zpracovaných potravin, mléčných výrobků a pšenice. Pro bakterii *L. reuteri* je příznačné, že se vyskytuje ve střevním mikrobiomu osob, které nekonzumují průmyslově zpracované potraviny a byla dominantní ve fekálních mikrobiomech venkovských obyvatel Papuy-Nové Guineji. Je bezpečná a považována za prospěšnou s ohledem na mikrobiom.

Účastníci (n=30) byli rozděleni do dvou skupin: jedna konzumovala RESTORE dietu po dobu 3 týdnů, zatímco druhá pokračovala ve své běžné stravě. Poté následovala washout fáze (období bez intervence) po dobu 3 týdnů a poté si skupiny vyměnily role. V paralelní studii dostávali titíž účastníci jednorázovou dávku buď:

- *L. reuteri* PB-W1 (kmen izolovaný ze stolice obyvatel Papuy-Nové Guineji)
- *L. reuteri* DSM 20016T (typový kmen z Německa)
- placebo (maltodextrin)

Probiotikum bylo podáno vždy 4. den po začátku dietární intervence, tedy 4. a 46. den studie. Pro lepší přehlednost se podívejte na schéma níže (obr. 1):

Obr. 1 Schéma studie:



Restore dieta měla významný dopad na složení střevního mikrobiomu. Její konzumace vedla k poklesu alfa diverzity, což znamená, že došlo ke snížení celkové druhové rozmanitosti mikrobiomu. Na druhou stranu beta diverzita ukázala významnou změnu složení střevní mikrobioty účastníků studie na počátku a po intervenci *L. reuteri*, což svědčí o tom, že dieta ovlivnila zastoupení jednotlivých mikroorganismů.

Pomocí statistických analýz bylo zjištěno, že účastníci s vyšší počáteční rozmanitostí mikrobiomu byli méně náchylní k jeho změnám v souvislosti se změnou diety. Dále bylo prokázáno, že restore dieta ovlivnila složení střevního mikrobiomu i na úrovni jednotlivých bakteriálních taxonů – více než polovina detekovaných druhů se během diety významně změnila. Zvýšil se podíl potenciálně prospěšných bakterií, jako jsou *Bifidobacterium* a *Faecalibacterium*, které jsou spojovány s pozitivními účinky na lidské zdraví.

Restore dieta měla také vliv na přežití *L. reuteri* ve střevním mikrobiomu. Zatímco kmen PB-W1 byl po konzumaci diety detekován v mikrobiomu ve vyšších koncentracích, u kmene DSM 20016T (typový laboratorní kmen) takový efekt pozorován nebyl. Výsledky naznačují, že dietní složení mohlo hrát roli ve zlepšení přežívání kmene PB-W1.

Co se týká podání *L. reuteri*, oba testované kmeny (PB-W1 a DSM 20016T) byly detekovatelné ve stolici účastníků již 2 dny po konzumaci, jak pomocí kultivace, tak metodou kvantitativního PCR (qPCR). Naopak ve skupině s placebem nebyly bakterie detekovány. Statistická analýza ukázala, že kmen PB-W1 byl ve vzorcích detekován ve vyšších koncentracích než DSM 20016T, a to významně ve všech časových bodech měření. PB-W1 také přežíval ve střevě déle, zatímco DSM 20016T rychleji mizel.

Zajímavým zjištěním bylo, že kmen PB-W1 byl výrazněji detekovatelný kultivační metodou než pomocí qPCR, což naznačuje lepší schopnost přežití ve střevním prostředí ve formě životaschopných buněk. U jednoho účastníka byl PB-W1 dokonce detekován v nízké koncentraci po celou dobu studie, což naznačuje možnou individuální kolonizaci.

Závěrem lze říct, že bakterie je možné si vykrmit, ale nemůžeme je systému vnutit, pokud nezměníme podmínky.

Hana Sechovcová a Petra Vídeňská

#### Literatura

[1] Li, Fuyong et al. "Cardiometabolic benefits of a non-industrialized-type diet are linked to gut microbiome modulation." *Cell*, S0092-8674(24)01477-6. 20 Jan. 2025, doi:10.1016/j.cell.2024.12.034

## Jak volba antibiotika ovlivňuje riziko klostridiové kolitidy?

Klostridiová kolitida (CDI, z ang. *Clostridioides difficile* infection) platí za jeden z modelů vážné střevní dysbiózy, v tomto případě jasně asociované s používáním ATB. Nicméně, jednotlivá ATB si z pohledu rizika dysbiózy nejsou rovna a některá nesou vyšší riziko CDI.

Studie Millera a kolegů [1], která analyzovala přes 159 000 případů komunitně asociované CDI (CA-CDI) ve velké databázi pojišťovacích záznamů, přináší detailní pohled na riziko jednotlivých ATB. Formou párové case-control analýzy byl každý pacient s komunitně asociovanou CDI (CA-CDI) spárován s pěti kontrolními pacienty podle věku, pohlaví a období pojištění. Hodnocena byla expozice ATB v období 30 dnů před diagnózou CDI spolu s dalšími rizikovými faktory, jako jsou komorbidity, předchozí kontakty se zdravotní péčí nebo užívání inhibitorů žaludeční kyseliny. Pro analýzu rizika jednotlivých ATB byla použita podmíněná logistická regrese a bayesovská analýza. Dále byla provedena citlivostní analýza s různými délkami expozice ATB (30 až 180 dnů), aby se zohlednil vliv časového okna na odhad rizika.

Výsledky potvrdily, co se běžně traduje v klinické mikrobiologii – tzv. čtyři C (**c**lindamycine, **c**ephalosporins, **c**o-aminopenicilins, **c**iprofloxacin – jako zástupce chinolonů) jsou skutečně nejvíce „difcilogenními“ ATB. Ve srovnání s referenční skupinou, která nebyla vystavena vlivu ATB nejméně tři měsíce před zahájením studie, bylo nejvyšší riziko rozvoje CDI prokázáno u klindamycinu (25x vyšší riziko) a cefalosporinů vyšších generací (8-10x). Nejnižší riziko bylo spojeno s tetracykliny, konkrétně s minocyklinem a doxycyklinem. Studie nejen že kvantifikuje riziko různých ATB, ale také poukazuje na důležitost volby správného časového okna pro hodnocení expozice ATB – delší okna (např. 90 dní místo 30) vedou k nižším odhadům rizika.

Závěry studie mohou pomoci klinikům při rozhodování o ATB terapii s cílem minimalizovat riziko dysbiózy střevního mikrobiomu a ergo i CDI. Navíc je důležité, že rozdíly v riziku existují nejen mezi třídami ATB, ale i mezi jednotlivými zástupci v rámci třídy. Například amoxicilin/klavulanát měl výrazně vyšší riziko než samotný amoxicilin. Fluorochinolony, zejména ciprofloxacin, se pohybovaly v rizikové hladině podobné pozdějším generacím cefalosporinů.

Inu, „ATB nejsou lentilky“ a mají se tedy dávat jen u jasně prokázaných bakteriálních infekcí a jen nezbytně dlouhou dobu - u některých to platí ještě více než u jiných. Jinak hrozí scénář závažných komplikací klostridiové kolitidy, která nezřídka může skončit fatálně.

Tabulka 1. Srovnání rizika CA-CDI u jednotlivých ATB dle studie Millera a kol. (zkráceno)

Antibiotikum	Třída ATB	OR (riziko rozvoje CA-CDI)	95% interval spolehlivosti
Klindamycin	Linkosamidy	25,39	24,11–26,72
Cefixim	Cefalosporiny 3. gen.	12,04	8,84–16,38
Cefdinir	Cefalosporiny 3. gen.	11,02	10,39–11,69
Cefuroxim	Cefalosporiny 2. gen.	9,59	8,79–10,45
Amoxicilin/klavulanát	Aminopeniciliny	8,53	8,23–8,85
Ciprofloxacín	Fluorochinolony	6,83	6,56–7,10
Doxycyklin	Tetracykliny	0,96	0,89–1,02
Minocyklin	Tetracykliny	0,79	0,67–0,93

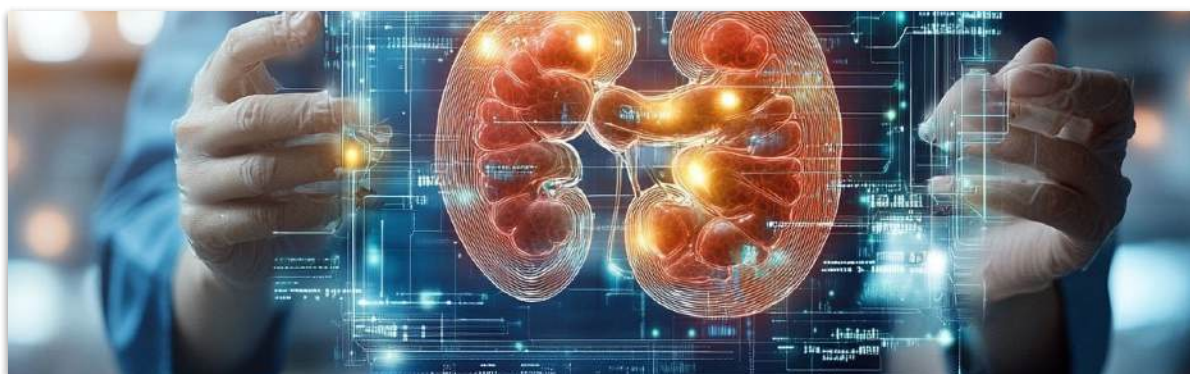
OR (Odds Ratio) vyjadřuje relativní riziko vzniku CDI při užívání daného antibiotika ve srovnání s referenční skupinou. Hodnota OR vyšší než 1 znamená zvýšené riziko, hodnota nižší než 1 znamená snížené riziko. Například klindamycin (OR = 25,39) má výrazně vyšší riziko CDI oproti referenční skupině, zatímco minocyklin (OR = 0,79) je spojen s nižším rizikem.

Interval spolehlivosti (95% CI) udává rozmezí hodnot, ve kterém se OR s pravděpodobností 95 % nachází. Čím užší interval, tím přesnější je odhad OR.

Jakub Hurych

#### Literatura

[1] Miller, Aaron C et al. "Comparison of Different Antibiotics and the Risk for Community-Associated Clostridioides difficile Infection: A Case-Control Study." Open forum infectious diseases vol. 10,8 ofad413. 5 Aug. 2023, doi:10.1093/ofid/ofad413



## Mikrobi představují zajímavé týmy

**Tým:** Integrativní bioinformatika a biostatistika (Masarykova univerzita, RECETOX)

**Vedoucí týmu:** Mgr. Eva Budinská, PhD, matematická bioložka

**Web:** <https://www.recetox.muni.cz/vyzkum/lide/dr-eva-budinska>

### Představení témat:

Jsme multidisciplinární tým vědců, kteří propojují bioinformatiku, výpočetní patologii<sup>1</sup>, transkriptomiku a mikrobiomiku, abychom lépe porozuměli biologii nádorů a přispěli k rozvoji personalizované medicíny - hledáme nové a preciznější způsoby diagnostiky, nebo predikce přežití a odpovědi na léčbu. Pohybujeme se na pomezí různých oborů, ve výzkumu se věnujeme vždy oblasti, kterou je potřeba vylepšit. Takže například mimo aplikované analýzy na reálných nádorových vzorcích teď také vyvíjíme bioinformatickou metodu, která má za cíl predikovat, jak by se měl změnit mikrobiom pacienta neodpovídajícího na imunitní léčbu, aby se přiblížil metabolickému profilu pacienta, který na tuto léčbu odpovídá. Nebo zas vyvíjíme metody analýzy obrazu, které by v obrázcích histopatologických řezů dokázaly najít charakteristiky, které jsou typické pro změny na molekulární úrovni.

Zajímavostí je, že díky našemu multidisciplinárnímu know-how, se nám podařilo s podporou AZV nasbírat vlastní soubor asi 200 nádorů kolorektálního karcinomu - ve spolupráci s Masarykovým onkologickým ústavem. Na těchto vzorcích jsme provedli obrovské množství omicsových analýz od podrobných molekulárních analýz nádoru, přes automatickou analýzu digitálních obrázků, až po analýzu mikrobiomu nádorů i stolice pacientů. Vše teď propojujeme a snažíme se identifikovat nádorové mikroprostředí, zejména interakci nádoru, mikrobiomu a imunitního systému. Samozřejmě, jsme teď také součástí dalších několika evropských nebo národních projektů na toto téma.

### Zásadní projekty:

Projekt OP JAK (CZ.02.01.01/00/22\_008/0004644). SALVAGE: Záchrana životů prostřednictvím výzkumu v oblasti včasné detekce a prevence rakoviny: Molekulární, genomické a sociální faktory

Projekt Horizon Europe (101096888). DISCERN: Discovering the causes of three poorly understood cancers in Europe

Projekt H2020 (825410). ONCOBIOME: Gut OncoMicrobiome Signatures (GOMS) associated with cancer incidence, prognosis and prediction of treatment response.

Projekt AZV (NV16-31966A). Střevobiom: Mikrobální a imunitní profil nádoru ve vztahu k heterogenitě a agresivitě kolorektálního karcinomu.

### Tým:

Jak jsem již zmiňovala výše, náš tým je multidisciplinární, skládá se zejména z expertů a expertek v datové analýze, bioinformatice a biostatistice, ale vždy máme v týmu také experty z biologických nebo lékařských oborů. Hodně pracujeme také se studenty. Nejdůležitější jsou ale naše spolupráce s dalšími expertními týmy, bez kterých by náš výzkum nebyl možný.

### Tužby:

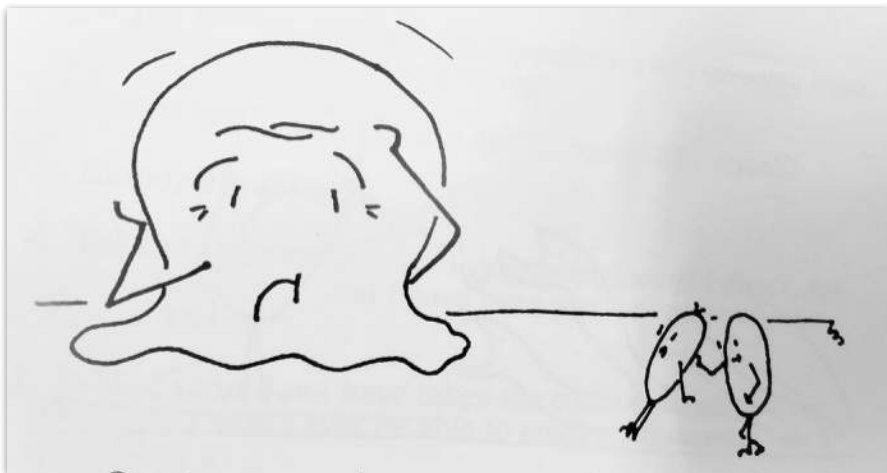
Vždy hledáme šikovné studenty, doktorandy, ale také postdoky, ty zejména v bioinformatice a analýze obrazových dat. Naše práce také generuje mnoho různých hypotéz, nebo nástrojů, které bychom rádi nabídli týmům, které jsou spíše z laboratoře a dokážou třeba některé z těchto hypotéz otestovat. Na myších modelech, nebo jen na buněčných liniích. Vždy nás také potěší nové spolupráce s kliniky a patologi. Pak máme dobrý pocit, že se to posouvá dál, to nás těší nejvíce.

Petra Vídeňská



<sup>1</sup> Poznámka redaktorky: Pokud stejně jako já tápete, co to znamená, zde vysvětlení mého kamaráda Chat GPT: Výpočetní patologie (computational pathology) je interdisciplinární obor, který využívá umělou inteligenci (AI), strojové učení a pokročilé algoritmy ke zpracování a analýze patologických dat, zejména digitálních snímků tkání, histopatologických preparátů a molekulárních profilů. To jste hned zase o něco chytřejší, že?

## Mikrobio(m)humor



Neboj! Tato paměťová buňka trpí těžkou sklerózou!

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.

## Mikrobio(m)divadlo

**Velké a malé světy 29.3.v 17:00**

v Divadle Dobeška - Multimediální představení



Mikroorganismy... Co skrývají? Jakou roli mají v našem světě, jakou roli mají v našich tělech? Existence bakterií byla zpochybňována, popírána, přijímána a ignorována. Jejich příběh je naše historie. Uměleckými prostředky a ve spolupráci s vědci se dotýkáme poznatků z poslední doby odhalené díky laserovým mikroskopům a technologiím vůbec. I my v divadle používáme digitální výtvarné zpracování, kresbu v pohybu na iPadu, loutky a objekty ve světle projektoru, stínohru, tanec. V sobotu odpoledne pro děti od 9 let a zvědavé dospělé. Uvidíte kaleidoskop obrazů, hudby, živé kresby a pohybu. Za každou scénou se skrývá příběh, některý z nich ve skutečnosti trval miliony let. Lístky [ZDE](#) Divadlo [Tineola](#)





## Workshop – Analýza metagenomu

Naučíte se analyzovat metagenomická data, získaná sekvenováním dlouhých čtení.



**Navštivte naše další workshopy v Praze !**

NGS Data Analysis & Programming Essentials | 13-15/5/2025

RNASeq Data Analysis | 21-24/10/2025

Informace a přihlášky: [www.seqme.eu/courses](http://www.seqme.eu/courses)



## Mikro Supplementy

První "mikro supplementy" aneb doplněk k hlavnímu článku: Tabulka níže je neupravený a nezkrácený překlad obecných zásad a minimálních požadavků na testování mikrobiomu, přijatých mezinárodním konsorciem a blíže popsanych v hlavním článku těchto novin.

<b>Obecné zásady a minimální požadavky na zajištění testování mikrobiomu</b>		
	Shoda (%)	Text doporučení
#1	100	Poskytovatelé testování mikrobiomu by měli klienty přiměřeným způsobem seznámit se spolehlivými, transparentními a vědeckými informacemi o poskytovaném testu a jasně informovat zákazníky o nedostatečných důkazech o jeho použitelnosti v klinické praxi.
#2	96	Testování mikrobiomu je komplexní proces, zahrnující sběr biologických vzorků, sekvenování mikrobiálního genomu, bioinformatickou analýzu dat a vydání interpretovatelné zprávy. Tým poskytovatelů testování by proto měl zahrnovat odborníky s multidisciplinárními kompetencemi.
#3	100	Jakékoli změny v klinické péči o pacienty na základě testování mikrobiomu by měli provádět výhradně jejich odesílající lékaři nebo zdravotničtí profesionálové.
#4	100	Laboratoře, které provádějí testování mikrobiomu, by měly zaručovat vysoký standard kvality v práci s patientskými daty a zajistit ochranu údajů pacientů. Tyto laboratoře by měly být akreditované, registrované a jejich činnost by měla podléhat regulaci.
#5	96	Při testování mikrobiomu je nutné využívat ověřené a aktuálně vědeckou komunitou akceptované/doporučované bioinformatické postupy a databáze umožňující co nejpřesnější taxonomické zařazení identifikovaných mikroorganismů.
<b>Postupy předcházející vlastnímu testování mikrobiomu</b>		
#6	80,4	Vzhledem k tomu, že existuje jen málo důkazů o možnosti využití testování střevního mikrobiomu v klinické praxi, nedoporučuje se, aby pacienti žádali o testování mikrobiomu přímo, bez klinického doporučení.
#7	87	Před testováním by měly být shromážděny klíčové klinické údaje o pacientovi, včetně těch, které mohou ovlivnit vlastnosti střevního mikrobiomu; základní informace by měly zahrnovat minimálně věk, pohlaví, BMI, stravovací návyky, informace o kouření a konzumaci alkoholu, frekvenci vyprazdňování, komorbiditách a medikaci a dosavadní zdravotní anamnézu.
#8	100	Pacienti by před testováním neměli přerušovat léčbu nebo měnit obvyklou stravu, pokud to nedoporučí odesílající lékař.
#9	98	Odběr vzorků stolice by měl být proveden tak, aby nemohlo dojít k jakékoli kontaminaci z prostředí a aby bylo zajištěno uchování mikrobiální DNA.
#10	97,5	Odebrané vzorky by měly být odeslány do laboratoří akreditovaných pro sekvenování mikrobiomu v doporučených lhůtách a za podmínek popsanych v návodu k odběrovým soupravám. Po doručení by vzorky měly být skladovány při teplotě -80 °C až do dalšího zpracování.
#11	97,5	Analýza mikrobiomu z jiných biologických vzorků než ze stolice, včetně vaginálních, kožních a ústních stěrů, slin a vzorků mateřského mléka, by měla být zpracována v souladu a aktuálními vědeckými poznatky a klinickými indikacemi.
<b>Analýza mikrobiomu</b>		
#12	98	Vhodné metody pro profilování střevního mikrobiomu zahrnují sekvenování ampliconů a sekvenování celého metagenomu.

#13	90	Multiplex PCR a kultivační metody, ačkoli jsou potenciálně užitečné, nelze považovat za testování mikrobiomu, ani je nelze použít jako náhradu za profilování mikrobiomu.
#14	100	Je nutné uvést postup, jak byla primární (raw) sekvenční data upravena před další analýzou.
#15	92	Analýza mikrobiomu by měla zahrnovat metriky alfa diverzity včetně informace o rozmanitosti společenstva (richness) a vyrovnanosti (evenness) zastoupení jednotlivých taxonů.
#16	92	Analýza mikrobiomu by měla obsahovat informace o beta diverzitě.
#17	98	Úplné taxonomické profilování střevního mikrobiálního společenstva je nezbytnou součástí testování mikrobiomu.
#18	88	Součástí testování mikrobiomu by mělo být srovnání s odpovídající zdravou kontrolní skupinou, které by usnadnilo interpretaci výsledků konkrétního pacienta.
#19	80	Longitudinální hodnocení mikrobiomu pacienta v čase by mohlo být v některých případech užitečné.
#20	90	Metabolomická analýza biologických materiálů a odvozování „metabolického potenciálu“ mikrobiomu pacienta podle jeho taxonomického profilu se v klinické praxi nedoporučuje.
<b>Požadavky na výslednou zprávu</b>		
#21	94	V závěrečné zprávě by měly být uvedeny údaje týkající se anamnézy pacienta.
#22	94	Zpráva by měla stručně popisovat protokol testování, včetně metody odběru a skladování stolice, extrakce DNA, amplifikace, sekvenování a postsekvenční analýzy.
#23	90	V závěrečné zprávě by měly být uvedeny parametry alfa a beta diverzity.
#24	96	Složení mikrobiomu by mělo být popsáno na nejnížší dosažitelné taxonomické úrovni.
#25	80,5	Zpráva by měla zahrnovat všechny taxony, které vykazují významné odlišnosti při porovnání s odpovídající skupinou zdravých kontrol a dále všechny identifikované známé mikrobiální patogeny. Informace o výskytu konkrétních zdravotně významných taxonů a taxonomických skupin, bez ohledu na jejich početnost, mohou být zajímavé, přestože důkazů o příčinné souvislosti s lidskými nemocemi je málo.
#26	86	Uvádění poměru Firmicutes (nově Bacillota) a Bacteroidetes (nově Bacteroidota) se nedoporučuje.
#27	90	Neexistuje dostatek důkazů pro uvádění jakéhokoli indexu dysbiózy; nicméně výzkum v tomto ohledu je žádoucí.
#28	90	Obecně není k dispozici dostatek informací, aby bylo možné uvést referenční rozmezí („zdravé“, „normální“ hodnoty) relativního zastoupení jednotlivých taxonů.
#29	92	Pro snadnou interpretaci zprávy se doporučuje použít uživatelsky přívětivou infografiku - např. sloupcové nebo krabicové grafy zobrazující relativní početnost klíčových taxonů. Prostému vyjmenování taxonů je třeba se vyhnout.

#30	98	Panel nedoporučuje, aby poskytovatel testování udílel na základě výsledků analýzy mikrobiomu jakékoli terapeutické rady.
#31	87,8	Raw data (primární hrubá data) mohou být pacientovi poskytnuta na vyžádání (např. pro nezávislou re-analýzu) ve formě ampliconů nebo metagenomických čtení (podle metody sekvenování).

### Význam testování mikrobiomu v klinické praxi: současnost a budoucnost

#32	90	Neexistuje dostatek důkazů, které by umožňovaly doporučit rutinní používání testování mikrobiomu v klinické praxi.
#33	92	Kvalitativní nebo kvantitativní údaje vycházející z testování mikrobiomu by mohly být pro management některých chorob užitečné, nicméně pro jejich běžné zavedení do klinické praxe zatím není dostatek podpůrných důkazů.
#34	94	Aby se testování mohlo dostat do klinické praxe, je třeba provést studie zaměřené na vyhodnocení významu profilování mikrobiomu u různých onemocnění.
#35	96	Pro podporu a rozšíření možností využití testování mikrobiomu v klinické praxi se doporučuje zveřejňovat informace o potenciálních přínosech i úskalích této metody; zároveň je nezbytné vzdělávat lékaře v základech mikrobiomové vědy a způsobu interpretace informací z reportů o analýze mikrobiomu.



Redakční rada Mikrobio(m)novin:

Šéfredaktorka

Mgr. Petra Vídeňská, Ph.D., Mendelova univerzita v Brně, Ústav chemie a biochemie, Brno

Hlavní editorka

Mgr. Lucie Najmanová, Ph.D., Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha

Redaktoři

doc. RNDr. Monika Cahová, Ph.D., IKEM, Praha

MUDr. Jakub Hurych, Ph.D., Ústav lékařské mikrobiologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha

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, Ph.D., Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha

MUDr. Jiří Vejmelka, MBA, Interní klinika 3. LF UK a Fakultní Thomayerova nemocnice Praha

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

Ilustrační foto jsou generovaná na AI

ISSN 3029-5408