

Helena Tlaskalová-Hogenová, Danko Eklová a kolektiv

Mikrobiom a zdraví



Mutaflor®

Escherichia coli (Nissle 1917)

Vaše volba pro přirozené zdraví střev

Probiotický lék

- profylaxe relapsu ulcerózní kolitidy
- poruchy flóry tlustého střeva a jejich následky
- vhodný pro těhotné a kojící ženy



Zkrácená informace o přípravku MUTAFLOR®

Složení: 1 enterosolventní tvrdá tobolka obsahuje: $2,5\text{--}25 \times 10^9$ CFU *Escherichia coli* (Nissle 1917). **Indikace:** K léčbě dospělých a dospívajících od 12 let. Profylaxe relapsu ulcerózní kolitidy. Poruchy flóry tlustého střeva a jejich následky; průjem, zácpa, meteorismus, colitis, alergie, ekzémy; novotvorba střevní flóry po jejím poškození antibiotiky, sulfonamidy nebo ozářením; uroinfekce. Aktivace obranyschopnosti organismu. **Dávkování a způsob podání:** Dospělí a dospívající od 12 let: 1.–4. den 1 tobolku Mutafloru, pak 2 tobolky denně. Při akutním průjmu: 1. den 3krát denně 2 tobolky a poté pokračovat 2 tobolkami denně (obvykle stačí celkově 20 tobolek). Při zvlášť úporné zácpě lze podávat až 4 tobolky denně. Při profylaxi relapsu ulcerózní kolitidy se doporučuje 1.–4. den podávat 1 tobolku denně, pak 2 tobolky denně. V případě ulcerózní kolitidy existují zkušenosti z kontrolovaných studií s délkou podávání 12 měsíců. K prevenci relapsu ulcerózní kolitidy se má Mutaflor užívat průběžně. Celá denní dávka se podává s jídlem, nejlépe spolu se snídaní, nerozkousaná a zapijí se dostatečnou tekutinou. **Kontraindikace:** Přecitlivělost na kteroukoli složku přípravku. **Zvláštní upozornění:** Nemá. **Interakce:** Antibiotika a sulfonamidy mohou účinnost Mutafloru snížit. **Těhotenství a kojení:** Přípravek mohou užívat těhotné a kojící ženy. **Účinky na schopnost řídit a obsluhovat stroje:** Nemá žádný vliv na schopnost řídit nebo obsluhovat stroje. **Nežádoucí účinky:** Časté: flatulence (na začátku léčby). **Farmakokinetické vlastnosti:** Tobolky jsou acidoresistentně potaženy a rozpouštějí se v terminálním ileu. **Doba použitelnosti:** 1 rok. **Uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2–8 °C). **Velikost balení:** 20 a 100 tobolek. **Držitel rozhodnutí o registraci:** ARDEYPHARM GmbH, Loerfeldstr. 20, 58313 Herdecke, Německo. **Registrační číslo:** 49/442/00-C. **Datum revize textu:** 18. 4. 2019.

Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis. V udržovací terapii pacientů s ulcerózní kolitidou je přípravek hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Před předepsáním léku se, prosím, seznámte s podrobnými informacemi v platném Souhrnu údajů o přípravku.

Určeno pro odbornou zdravotnickou veřejnost. Datum přípravy: 10/2024



Distributor v ČR:
S&D Pharma CZ, spol. s r.o.
Pisnická 22, 142 00 Praha 4

www.sdpharma.cz



***Děkujeme společnostem, které v této publikaci inzerují
nebo její vydání jiným způsobem podpořily
(v abecedním pořadí):***

- Bencos s.r.o.
- Bristol-Myers Squibb spol. s r.o.
- Česká mikrobiomová společnost
České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně, z.s.
- DYNEX TECHNOLOGIES, spol. s r.o.
- Ewopharma, spol. s r. o.
- FAVEA Plus a.s.
- Gedeon Richter Marketing ČR, s.r.o.
- Kosmetika CAPRI spol. s r.o.
- STADA PHARMA CZ s.r.o.
- S&D Pharma CZ, spol. s r.o.

Helena Tlaskalová-Hogenová, Danka Eklová a kolektiv

Mikrobiom a zdraví

Upozornění pro čtenáře a uživatele této knihy

Všechna práva vyhrazena. Žádná část této tištěné či elektronické knihy nesmí být reprodukována a šířena v papírové, elektronické či jiné podobě bez předchozího písemného souhlasu nakladatele. Neoprávněné užití této knihy bude trestně stíháno.

Automatizovaná analýza textů nebo dat ve smyslu čl. 4 směrnice 2019/790/EU a použití této knihy k trénování AI jsou bez souhlasu nositele práv zakázány.

prof. MUDr. Helena Tlaskalová-Hogenová, DrSc., MUDr. Danka Eklová a kolektiv

Mikrobiom a zdraví

Editorky:

prof. MUDr. Helena Tlaskalová-Hogenová, DrSc.

MUDr. Danka Eklová

Kolektiv autorů:

MUDr. Václava Adámková, Ph.D.

prof. RNDr. Pavel Anzenbacher, DrSc.

RNDr. Petr Baldrian, Ph.D.

prof. MUDr. Jiří Beneš, CSc.

RNDr. Šárka Bobková, Ph.D.

MUDr. Michaela Brichová

RNDr. Kristýna Brožová

MUDr. Jan Březina, Ph.D.

Mgr. Eva Budinská, Ph.D.

doc. RNDr. Monika Cahová, Ph.D.

MUDr. Jan Cibulka, Ph.D.

RNDr. Štěpán Coufal, Ph.D.

Mgr. Martina Čarnogurská

RNDr. Ondřej Černý, Ph.D.

Mgr. Adéla Čmoková, Ph.D.

doc. MUDr. Pavel Drastich, Ph.D.

MUDr. Danka Eklová

Mgr. Natalie Galanová

doc. MUDr. Jan Gojda, Ph.D.

prof. MUDr. Jarmila Heissigerová, Ph.D., MBA

doc. MUDr. Iva Hoffmanová, Ph.D.

prof. MUDr. Cyril Höschl, DrSc., FRCPsych.

MUDr. Jan Hrbáček, Ph.D.

doc. RNDr. Jiří Hrdý, Ph.D.

MUDr. Tomáš Hrnčíř, Ph.D.

Ing. Tomáš Hudcovic, CSc.

Mgr. Kateřina Chudá

Mgr. Lea Jakob

MUDr. Hana Jeligová

RNDr. Zuzana Jirásková Zákostelská, Ph.D.

MVDr. Kateřina Jirků, Ph.D.

RNDr. Milan Jirků

Mgr. Lenka Jourová, Ph.D.

doc. MUDr. Pavel Kohout, Ph.D.

MUDr. Alena Kokešová, Ph.D., MBA

doc. Mgr. Miroslav Kolařík, Ph.D.

Mgr. Klára Kostovčíková, Ph.D.

RNDr. Hana Kozáková, CSc.

prof. MUDr. Martina Koziar Vašáková, Ph.D.

MUDr. František Kožíšek, CSc.

prof. MUDr. Eva Kubala Havrdová, CSc.

MUDr. Miloslav Kverka, Ph.D.

RNDr. Zuzana Lhotská, Ph.D.

prof. MUDr. Milan Lukáš, CSc., AGAF

Mgr. Alena Moudrá, Ph.D.

doc. Ing. Šárka Musilová, Ph.D.

MUDr. Jaroslav Myšák, Ph.D.

Mgr. Lucie Najmanová, Ph.D.

doc. Ing. Věra Neužil Bunešová, Ph.D.

prof. MUDr. Jiří Nevoral, CSc.

doc. MUDr. Zuzana Ozaniak Strážová, Ph.D.

prof. MUDr. Hana Papežová, CSc., FAED

prof. MUDr. Karel Pavelka, DrSc.

RNDr. Petra Procházková, Ph.D.

doc. MUDr. Filip Rob, Ph.D.

RNDr. Radka Roubalová, Ph.D.

doc. RNDr. Ivan Rychlík, Ph.D.

RNDr. Ing. Daniel Sánchez, Ph.D.

Mgr. Dagmar Schierová, Ph.D.
Mgr. Martin Schwarzer, Ph.D.
MUDr. Markéta Skružná
prof. MUDr. Ilja Stříž, CSc.
RNDr. Petr Šíma, CSc.
RNDr. Marek Šinkora, Ph.D.
RNDr. Milada Šírová, Ph.D.
prof. MUDr. Karel Šonka, DrSc., FCMA
doc. Ing. Bc. Igor Šplíchal, CSc.
RNDr. Dagmar Šrůtková, Ph.D.
prof. MUDr. Jan Štěpán, DrSc.
RNDr. Renata Štěpánková, CSc.

prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc., MBA,
FASN, FERA, FISN
prof. MUDr. Petra Tesařová, CSc.
prof. MUDr. Helena Tlaskalová-Hogenová, DrSc.
Ing. Jiří Trávníček, CSc.
RNDr. Ilja Trebichavský, CSc.
prof. Ing. Bc. Ondřej Uhlík, Ph.D.
MUDr. Luca Vannucci, Ph.D.
MUDr. Jiří Vejmelka
Mgr. Petra Vídeňská, Ph.D.
prof. MUDr. Libor Vítek, Ph.D., MBA

Recenzentka:

prof. MUDr. Klára Látalová, Ph.D.

Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

Vydání odborné knihy schválila Vědecká redakce nakladatelství Grada Publishing, a.s.

Obrázky dodali autoři. Created in BioRender.com.

Cover Illustration © Danka Eklová, OpenAI. ChatGPT, 2024

Cover Design © Grada Publishing, a.s., 2024

© Grada Publishing, a.s., 2024

Vydala Grada Publishing, a.s.

U Průhonu 22, Praha 7

jako svou 9841. publikaci

Šéfredaktorka lékařské literatury MUDr. Michaela Lízlerová

Odpovědné redaktorky Eva Frašková a Petra Královcová

Jazyková korektura a redakce Jiřina Vyorálková

Sazba a zlom Vladimír Fára

Počet stran 520

1. vydání, Praha 2024

Vytiskla tiskárna FINIDR, s.r.o., Český Těšín

Názvy produktů, firem apod. použité v knize mohou být ochrannými známkami nebo registrovanými ochrannými známkami příslušných vlastníků, což není zvláštním způsobem vyznačeno.

Postupy a příklady v této knize, rovněž tak informace o lécích, jejich formách, dávkování a aplikaci jsou sestaveny s nejlepším vědomím autorů. Z jejich praktického uplatnění však pro autory ani pro nakladatelství nevyplývají žádné právní důsledky.

ISBN 978-80-271-7707-3 (pdf)

ISBN 978-80-271-5192-9 (print)

Seznam autorů

MUDr. Václava Adámková, Ph.D.

Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

prof. RNDr. Pavel Anzenbacher, DrSc.

Ústav farmakologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

RNDr. Petr Baldrian, Ph.D.

Laboratoř enviromentální mikrobiologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

prof. MUDr. Jiří Beneš, CSc.

Klinika infekčních nemocí 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Bulovka v Praze

RNDr. Šárka Bobková, Ph.D.

Laboratoř mikrobiální genetiky a genové exprese Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

MUDr. Michaela Brichová

Oční klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

RNDr. Kristýna Brožová

Laboratoř parazitární terapie Parazitologického ústavu Akademie věd České republiky

MUDr. Jan Březina, Ph.D.

Klinika hepatogastroenterologie Institutu klinické a experimentální medicíny v Praze

Mgr. Eva Budinská, Ph.D.

Ústav RECETOX Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně

doc. RNDr. Monika Cahová, Ph.D.

Institut klinické a experimentální medicíny v Praze

MUDr. Jan Cibulka, Ph.D.

Next Fertility centrum (IVF) v Plzni

RNDr. Štěpán Coufal, Ph.D.

Laboratoř buněčné a molekulární imunologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

Mgr. Martina Čarnogurská

Ústav RECETOX Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně

RNDr. Ondřej Černý, Ph.D.

Laboratoř buněčné biologie infekcí Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

Mgr. Adéla Čmoková, Ph.D.

Laboratoř genetiky a metabolismu hub Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

doc. MUDr. Pavel Drastich, Ph.D.

Ambulance biologické léčby Institutu klinické a experimentální medicíny v Praze

MUDr. Danka Eklová

Gedeon Richter Marketing ČR, s.r.o., Praha

Mgr. Natalie Galanová

Laboratoř buněčné a molekulární imunologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

doc. MUDr. Jan Gojda, Ph.D.

Interní klinika 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady v Praze

prof. MUDr. Jarmila Heissigerová, Ph.D., MBA

Oční klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

doc. MUDr. Iva Hoffmanová, Ph.D.

Interní klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

prof. MUDr. Cyril Höschl, DrSc., FRCPsych.

Klinika psychiatrie a lékařské psychologie 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Národního ústavu duševního zdraví v Klecanech

MUDr. Jan Hrbáček, Ph.D.

Urologické oddělení Fakultní nemocnice Bulovka v Praze

doc. RNDr. Jiří Hrdý, Ph.D.

Ústav imunologie a mikrobiologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

MUDr. Tomáš Hrnčíř, Ph.D.

Laboratoř gnotobiologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

Ing. Tomáš Hudcovic, CSc.

Laboratoř gnotobiologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

Mgr. Kateřina Chudá

Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Mgr. Lea Jakob

University of New York in Prague

MUDr. Hana Jeligová

Oddělení hygieny vody, Státní zdravotní ústav v Praze

RNDr. Zuzana Jirásková Zákostelská, Ph.D.

Laboratoř buněčné a molekulární imunologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

MVDr. Kateřina Jirků, Ph.D.

Laboratoř parazitární terapie Parazitologického ústavu Akademie věd České republiky

RNDr. Milan Jirků

Laboratoř parazitární terapie Parazitologického ústavu Akademie věd České republiky

Mgr. Lenka Jourová, Ph.D.

Ústav lékařské chemie a biochemie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

doc. MUDr. Pavel Kohout, Ph.D.

Interní klinika 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní Thomayerovy nemocnice v Praze

MUDr. Alena Kokešová, Ph.D., MBA

Klinika dětské chirurgie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice

doc. Mgr. Miroslav Kolařík, Ph.D.

Laboratoř genetiky a metabolismu hub Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

Mgr. Klára Kostovčíková, Ph.D.

Laboratoř buněčné a molekulární imunologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

RNDr. Hana Kozáková, CSc.

Laboratoř gnotobiologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

prof. MUDr. Martina Koziar Vašáková, Ph.D.

Pneumologická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní Thomayerovy nemocnice v Praze

MUDr. František Kožíšek, CSc.

Oddělení hygieny vody, Státní zdravotní ústav v Praze

prof. MUDr. Eva Kubala Havrdová, CSc.

Neurologická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

MUDr. Miloslav Kverka, Ph.D.

Laboratoř buněčné a molekulární imunologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

RNDr. Zuzana Lhotská, Ph.D.

Laboratoř parazitární terapie Parazitologického ústavu Akademie věd České republiky

prof. MUDr. Milan Lukáš, CSc., AGAF

Klinické centrum ISCARE a.s., Praha

Mgr. Alena Moudrá, Ph.D.

Národní ústav duševního zdraví v Klecanech

doc. Ing. Šárka Musilová, Ph.D.

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze

MUDr. Jaroslav Myšák, Ph.D.

Stomatologická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

Mgr. Lucie Najmanová, Ph.D.

Laboratoř biologie sekundárního metabolismu Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

doc. Ing. Věra Neužil Bunešová, Ph.D.

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze

prof. MUDr. Jiří Nevoral, CSc.

Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

doc. MUDr. Zuzana Ozaniak Strížová, Ph.D.

Ústav imunologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

prof. MUDr. Hana Papežová, CSc., FAED

Psychiatrická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

prof. MUDr. Karel Pavelka, DrSc.

Revmatologický ústav a Revmatologická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze

RNDr. Petra Procházková, Ph.D.

Laboratoř buněčné a molekulární imunologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky



doc. MUDr. Filip Rob, Ph.D.

Dermatovenerologická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Bulovka v Praze

RNDr. Radka Roubalová, Ph.D.

Laboratoř buněčné a molekulární imunologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

doc. RNDr. Ivan Rychlík, Ph.D.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství v Brně

RNDr. Ing. Daniel Sánchez, Ph.D.

Laboratoř buněčné a molekulární imunologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

Mgr. Dagmar Schierová, Ph.D.

Laboratoř buněčné a molekulární imunologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

Oddělení zpracování dat Immunai, New York

Mgr. Martin Schwarzer, Ph.D.

Laboratoř gnotobiologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

MUDr. Markéta Skružná

Oddělení klinické mikrobiologie Institutu klinické a experimentální medicíny v Praze

prof. MUDr. Ilja Stríž, CSc.

Pracoviště laboratorních metod a Pracoviště klinické a transplantační imunologie Institutu klinické a experimentální medicíny v Praze

RNDr. Petr Šíma, CSc.

Laboratoř imunoterapie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

RNDr. Marek Šinkora, Ph.D.

Laboratoř gnotobiologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

RNDr. Milada Šírová, Ph.D.

Laboratoř nádorové imunologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

prof. MUDr. Karel Šonka, DrSc., FCMA

Neurologická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

doc. Ing. Bc. Igor Šplíchal, CSc.

Laboratoř gnotobiologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

RNDr. Dagmar Šrůtková, Ph.D.

Laboratoř gnotobiologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

prof. MUDr. Jan Štěpán, DrSc.

Revmatologický ústav a Revmatologická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze

RNDr. Renata Štěpánková, CSc.

Laboratoř gnotobiologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc., MBA, FASN, FERA, FISN

Klinika nefrologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

prof. MUDr. Petra Tesařová, CSc.

Ústav radiační onkologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Bulovka v Praze

Onkologická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

prof. MUDr. Helena Tlaskalová-Hogenová, DrSc.

Laboratoř buněčné a molekulární imunologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

Ing. Jiří Trávníček, CSc.

Laboratoř gnotobiologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

RNDr. Ilja Trebichavský, CSc.

Laboratoř gnotobiologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

prof. Ing. Bc. Ondřej Uhlík, Ph.D.

Ústav biochemie a mikrobiologie Vysoké školy chemicko-technologické v Praze

MUDr. Luca Vannucci, Ph.D.

Laboratoř imunoterapie Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky

MUDr. Jiří Vejmelka

Interní klinika 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní Thomayerovy nemocnice v Praze

Mgr. Petra Vídeňská, Ph.D.

Ústav chemie a biochemie Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně

prof. MUDr. Libor Vítěk, Ph.D., MBA

IV. interní klinika a Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

Obsah

Úvod	19
Poděkování	20
Předmluva	23
I. Úvod do problematiky mikrobiomu	25
1 O mikrobiomu a mikrobiomové vědě	27
2 Srovnání staré a nové taxonomie	29
II. Metodické přístupy	31
3 Metodické přístupy ke studiu mikrobiomu	33
3.1 Mikroorganismy a jak je zkoumat	33
3.2 Základní postupy při výzkumu bakterií	34
3.3 Jak studovat nemožné	36
3.4 Masivně paralelní sekvenace	37
3.5 Sekvenační přístupy ve výzkumu mikrobiomu	38
3.6 Studium eukaryot za pomoci sekvenačních přístupů	40
3.7 Studium virů za pomoci sekvenačních přístupů	40
3.8 Studium funkce mikrobiomu	41
4 Mikrobiom a bioinformatika	44
4.1 Základy bioinformatiky	44
4.2 Práce bioinformatika v analýze mikrobiomových dat	45
4.3 Praktické příklady	45
4.4 Výzvy a budoucí směry v bioinformatice a studiu mikrobiomu	46
5 Gnotobiologie jako metoda analýzy účinků mikrobioty	48
5.1 Historie gnotobiologie	49
5.2 Gnotobiologické metody	50
5.3 Využití gnotobiologických modelů ve výzkumu komplexních onemocnění	54
5.4 Budoucnost gnotobiologie	58
6 Historie české gnotobiologie a její přínos pro studium úlohy mikrobioty	61
6.1 Bezmikrobní prasata	63
6.2 Bezmikrobní potkani	64
6.3 Bezmikrobní králíci	65
6.4 Bezmikrobní myši	65
III. Lékařské aspekty mikrobiomu	69
7 Mikrobiota a chronické nemoci: úvod	71
7.1 Účast komenzálních bakterií ve vývoji metabolických, zánětlivých, autoimunitních a nádorových onemocnění	72
7.2 Význam slizniční imunity při interakci s mikrobiotou	75
7.3 Možnosti ovlivnění mikrobioty	77
8 Komenzální a patogenní bakterie	80
8.1 Kochovy postuláty	80
8.2 Obligátní patogeny	81
8.3 Oportunní patogeny	81
8.4 Patobionti	82
8.5 Komenzálové	82
8.6 Co dělá patogen patogenem?	82
8.7 Jak se patogenez vyvinula?	84
8.8 Jak hostitelský imunitní systém rozliší mezi komenzálem a patogenem?	85
9 Mikrobiom novorozence	88
9.1 Ustavení střevní mikrobioty	88
9.2 Mateřské mléko a novorozenecká střevní mikrobiota	89

9.3	Novorozenecký kožní mikrobiom	90
9.4	Antibiotika a mikrobiota novorozence	90
9.5	Předčasně narozené děti vs. доношенé děti	90
10	Role mikrobiomu v patogenezi nekrotizující enterokolitidy	93
10.1	Střevní mikrobiota v patogenezi nekrotizující enterokolitidy	93
10.2	Střevní bariéra v patogenezi nekrotizující enterokolitidy	94
11	Orální mikrobiom	98
11.1	Fyziologické funkce orálního mikrobiomu	98
11.2	Fyziologické proměny orálního mikrobiomu v průběhu života	99
11.3	Dysbióza a onemocnění dutiny ústní	102
11.4	Péče o orální mikrobiom	104
12	Idiopatické střevní záněty: účast mikrobioty	107
12.1	Střevní mikrobiota v etiologii a patogenezi Crohnovy nemoci	107
12.2	Střevní mikrobiota v etiologii a patogenezi ulcerózní kolitidy	108
12.3	Vliv anti-TNF terapie na složení střevní mikrobioty	109
12.4	Změna složení střevní mikrobioty při lokální terapii mesalazinem a fekální transplantací	111
12.5	Fekální mikrobiální terapie	112
12.6	Postavení probiotické terapie	114
13	Mikrobiota a dráždivý tračník	117
13.1	Dysbióza a dráždivý tračník	118
13.2	Role střevní mikrobioty v patogenezi dráždivého tračníku	119
13.3	Osa střevo–mozek	121
13.4	Léčba dráždivého tračníku a regulace mikrobioty	122
14	Mikrobiom a celiakie	125
14.1	Charakteristika celiakie	125
14.2	Podmínky nutné k rozvoji celiakie	126
14.3	Nerovnováha mikrobiomu u celiakie a její role v rozvoji celiakie	127
14.4	Interakce střevního mikrobiomu a glutenu	128
14.5	Role infekčních a mikrobiálních podnětů v patofyziologii celiakie	129
14.6	Modulace střevního mikrobiomu u pacientů s celiakií	130
15	Mikrobiota v regulaci energetické homeostázy a rozvoji obezity	133
15.1	Pionýrské doby výzkumu	134
15.2	Může střevní mikrobiota za obezitu?	135
15.3	Můžeme určit, co přesně je „obézní mikrobiota“?	137
15.4	Přispívá mikrobiota ke klidové spotřebě energie?	138
15.5	Může mikrobiom za to, že „nás honí mlsná“?	139
15.6	Střevní mikrobiom a homeostatická regulace příjmu potravy	140
15.7	Střevní mikrobiom a hedonická regulace příjmu potravy	141
15.8	Rozhodujících prvních 1 000 dní	142
16	Mikrobiom a podvýživa	145
16.1	Akutní podvýživa	145
16.2	Chronická podvýživa	146
17	Mikrobiom a duševní zdraví	151
17.1	Osa mikrobiota–střevo–mozek	152
17.2	Pochopení mechanismů vlivu mikrobiomu na duševní zdraví	153
17.3	Přehled výzkumu, který spojuje mikrobiom s duševním zdravím	154
17.4	Důsledky pro léčbu a prevenci psychiatrických poruch	158
18	Mikrobiom a poruchy příjmu potravy	160
18.1	Diagnózy poruch příjmu potravy	160
18.2	Složení střevního mikrobiomu	161
18.3	Signalizace mezi střevem a mozkem	162
18.4	Střevní mikrobiální metabolismy	163
18.5	Osa hypothalamus–hypofýza–nadledviny	166
18.6	Molekulární mimikry	166
18.7	Komunikace mozku a imunitního systému	167
18.8	Myší modely	167
18.9	Ovlivnění mikrobiomu jako terapeutická možnost	168

19	Mikrobiom a neurodegenerativní onemocnění	171
19.1	Role signalizace přes nervus vagus	172
19.2	Mikrobiální metabolismy	173
19.3	Dysbióza a zánět	174
19.4	Transplantace fekální mikrobioty – validace	174
19.5	SCFA jako terapie	175
20	Mikrobiom a roztroušená skleróza	178
20.1	Základní fakta o roztroušené skleróze	178
20.2	Imunopatogeneze roztroušené sklerózy	179
20.3	Diagnóza a léčba roztroušené sklerózy	179
20.4	Mikrobiom u roztroušené sklerózy	180
20.5	Animální studie, experimentální autoimunitní encefalomyelitida (EAE)	182
20.6	Parazit a roztroušená skleróza	183
20.7	Současné poznatky o využití fekální transplantace u pacientů s roztroušenou sklerózou	183
20.8	Diety a roztroušená skleróza	184
21	Mikrobiom v posteli aneb střevní mikrobiom, spánek a jeho poruchy	186
21.1	Spánek	186
21.2	Mikrobiom a spánek	187
21.3	Souvislost mezi spánkem, regulací chuti k jídlu a mikrobiomem	190
21.4	Mikrobiom a cirkadiánní rytmy	190
21.5	Poruchy spánku a co o nich víme v souvislosti s mikrobiomem	191
22	Mikrobiom a jeho vliv na oko a oční onemocnění	197
22.1	Vliv místní mikrobioty na onemocnění oka	197
22.2	Vliv vzdálené mikrobioty na onemocnění oka	198
23	Mikrobiom a plíce	203
23.1	Plicní zdraví a střevní mikrobiom	203
23.2	Plicní zdraví a plicní mikrobiom	204
23.3	Poruchy osy střeva–plíce	204
23.4	Mikrobiom a plicní nemoci	206
24	Mikrobiom a alergie	213
24.1	Pojem alergie	213
24.2	Etiopatogeneze alergie	214
24.3	Mikrobiom dýchacích cest	216
24.4	Střevní mikrobiom	218
24.5	Mykobiom a alergie	220
24.6	Mikrobiální terapie alergického onemocnění – věda a praxe	221
25	Střevní mikrobiom a revmatická onemocnění	226
25.1	Revmatoidní artritida	226
25.2	Spondylartritidy	231
26	Mikrobiom a ledviny	235
26.1	Mikrobiom a chronické onemocnění ledvin	235
26.2	Dietní intervence a probiotika u pacientů s chronickým onemocněním ledvin	238
26.3	Orální zdraví a chronické onemocnění ledvin	239
26.4	Střevní a ústní mikrobiom u pacientů s IgA nefropatií	240
26.5	Střevní mikrobiom u pacientů s diabetickým onemocněním ledvin	241
27	Mikrobiom močových cest	244
27.1	Taxonomické složení lidského močového mikrobiomu	245
27.2	Změny močového mikrobiomu v průběhu života	246
27.3	Mikrobiom močových cest ve zdraví a nemoci	246
27.4	Souvislost močového mikrobiomu s funkcí orgánů a orgánových systémů	249
27.5	Souvislost mikrobiomu s funkcí orgánů močového traktu	250
27.6	Jiné než prokaryotní složky močového mikrobiomu	251
27.7	Potenciální role močového mikrobiomu a výhled do budoucna	251
28	Mikrobiom ženského genitálního traktu	253
28.1	Vaginom	253
28.2	Mikrobiota	254
28.3	Proměnlivost	254

28.4	Vyšetření	254
28.5	Typizace	255
28.6	Eubióza	255
28.7	Metabolom	256
28.8	Klinicky nemá dysbióza	257
28.9	Dysbióza	257
28.10	Typy komunitního stavu vaginomu	257
28.11	Struktura vaginální bakteriální komunity	258
28.12	Souhrn a výzvy pro klinické aplikace	259
28.13	Cervikální mikrobiom	259
28.14	Děložní mikrobiom	259
28.15	Mikrobiom a rozvoj endometriózy	259
29	Mikrobiom a transplantace	261
29.1	Infekce u transplantace orgánů	261
29.2	Transplantace ledviny	262
29.3	Transplantace jater a střeva	263
29.4	Transplantace plic	263
29.5	Transplantace krevetvorných buněk	264
30	Mikrobiom a zhoubné nádory	267
30.1	Historie	268
30.2	Mechanismy ovlivňující karcinogenezi	269
30.3	Vliv mikrobiomu na zhoubné nádory	271
30.4	Protinádorová léčba a mikrobiom	276
30.5	Mikrobiom ovlivňuje účinnost imunoterapie	279
30.6	Závěr a perspektivy do budoucna	279
31	Mikrobiom v solidních nádorech	281
31.1	Mikrobiom na nádoru, v nádoru a uvnitř buněk	282
31.2	Mechanismy interakce mikrobiomu s nádory	284
31.3	Přímá léčba nádorů mikrobiomem	290
32	Úloha mikrobiomu v imunoterapii nádorových onemocnění	296
32.1	Imunoterapie maligních onemocnění	297
32.2	Mikrobiom a imunoterapie	299
32.3	Využití upravených bakterií pro léčbu	305
33	Může mikrobiom ovlivnit vznik nádorů? Poznátky o spontánních a experimentálně indukovaných nádorech u bezmikrobních a konvenčních zvířat	309
33.1	Spontánní nádory u bezmikrobních zvířat	310
33.2	Indukovaná karcinogeneze u bezmikrobních a konvenčních zvířat	311
33.3	Diskuze: mikrobiom může ovlivnit vývoj nádoru	314
34	Kožní mikrobiom	317
34.1	Fyziologické funkce kožního mikrobiomu	317
34.2	Topografie kožního mikrobiomu	318
34.3	Dynamika změn ve složení kožního mikrobiomu v průběhu života	320
34.4	Kožní mikrobiom u dermatologických chorob	321
34.5	Přístupy k využití kožního mikrobiomu během léčby kožních onemocnění	324
35	Lidský mykobiom	327
35.1	Interakce s hostitelem a bakteriálním mikrobiomem (biofilmy)	327
35.2	Kožní mykobiom	328
35.3	Mykobiom dolního respiračního traktu	329
35.4	Orální mykobiom	329
35.5	Střevní mykobiom	329
35.6	Mykobiom nádorových onemocnění	330
36	Střevní eukaryom	333
36.1	Definice a význam střevního eukaryomu	333
36.2	Střevní prvoci	334
36.3	Střevní helminti	335
37	Lidský virom	340
37.1	Jak se žije virům v nás?	341

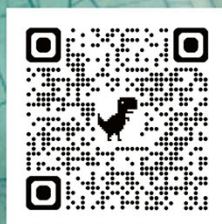
37.2	Co ovlivňuje náš virom?	341
37.3	Proměny lidského viromu v průběhu života	342
37.4	Proč o viromech doted' víme tak málo?	342
38	Mikrobiom, stárnutí a dlouhověkost	344
38.1	Stárnutí lidského organismu	344
38.2	Stárnutí mikrobioty	347
38.3	Horváthovy epigenetické hodiny a biologický věk jako ukazatele rychlosti stárnutí	349
38.4	Diurnální rytmy a intestinální (střevní) hodiny	350
38.5	Senescence (biologické stárnutí) a mikrobiom	351
IV.	Prostředí a další faktory ovlivňující lidský mikrobiom	355
39	Střevní mikrobiom a způsob výživy	357
39.1	Naše mikrobiota je to, co jíme	358
39.2	Způsob života dříve a nyní	359
39.3	Hledání ztracené mikrobioty	360
39.4	Jídelníček našich předků	361
39.5	Jak se změna životního stylu podepsala na střevním mikrobiomu	363
39.6	Zdravotní stav předindustriálních komunit	367
39.7	Zdravý mikrobiom?	368
39.8	Případ <i>Prevotella</i> a další	368
39.9	Modulace střevního mikrobiomu	369
40	Léky a mikrobiom	374
40.1	Metabolismus léčiv v lidském organismu	375
40.2	Mechanismy působení střevního mikrobiomu na metabolismus léčiv	377
40.3	Vliv střevního mikrobiomu na expresi jaterních biotransformačních enzymů	380
40.4	Farmakomikrobiomika: vzájemný vztah léčiv a střevního mikrobiomu	381
41	Podávání antibiotik a střevní ekosystém	386
41.1	Postantibiotická enterokolitida (antibiotic-associated diarrhoea, AAD; antibiotic-associate colitis, AAC)	387
41.2	Pseudomembranózní kolitida (pseudomembranous colitis, PMC)	387
41.3	Infekce způsobené bakterií <i>Clostridioides difficile</i> (<i>C. difficile</i> infection, CDI)	388
41.4	Rizika antibiotické léčby pro střevní mikrobiotu	389
41.5	Léčba klostridiové kolitidy	392
42	Antibiotická rezistence a mikrobiom	395
43	Mikrobiom, pohyb a sport	398
43.1	Střevní mikrobiom u sportovců	398
43.2	Střevní mikrobiom a sportovní výkonnost	399
43.3	Analýza střevního mikrobiomu u individuálních sportovců?	400
43.4	Doporučení ohledně používání probiotik a dalších látek ovlivňujících střevní mikrobiom	400
43.5	Význam prebiotik, synbiotik a fermentovaných potravin pro mikrobiom vrcholových sportovců	402
44	Mikrobiom domácích mazlíčků	405
44.1	Mikrobiom domácích mazlíčků	407
45	Střevní mikrobiota vybraných hospodářských zvířat	412
45.1	Mikrobiota podél trávicího traktu	412
45.2	Obecné vlastnosti vybraných skupin bakterií střevní mikrobioty	413
45.3	Lokalizace bakterií střevní mikrobioty	414
45.4	Střevní mikrobiota kuřat	418
45.5	Střevní mikrobiota prasat	420
45.6	Možnosti aktivní manipulace se střevní mikrobiotou	421
45.7	Budoucí směřování výzkumu v problematice střevní mikrobioty	424
46	Půdní mikrobiom	425
46.1	Půda a její mikrobiota	425
46.2	<i>Rhizobium</i> a další půdní fixátoři dusíku: ti, kteří se starají o přísun jedné z klíčových živin	426
46.3	<i>Glomus</i> a další půdní mykorhizní houby: ti, kteří pomáhají rostlinám absorbovat živiny	428
46.4	<i>Pseudomonas</i> a další půdní dekompozitoři: ti, kteří se starají o o(d)pad	430
46.5	<i>Streptomyces</i> a další půdní producenti antibiotik: ti, kteří zneškodňují ostatní mikroby	431
46.6	<i>Microcoleus</i> a další autotrofové v půdních biokrustách: ti, kteří napomáhají půdu stabilizovat	432
46.7	Půdní mikrobiom a koncept jednoho zdraví	433

47	Mikrobiom vody	436
47.1	Mikrobiom pitné vody	437
V.	Cílená manipulace lidského mikrobiomu	441
48	Probiotika a jiná mikrobiální „biotika“	443
48.1	Historie probiotik a jejich definice	443
48.2	Výběr vhodných probiotických kmenů	444
48.3	Mechanismy účinku probiotik	447
48.4	Nejčastěji používané probiotické mikroorganismy	447
48.5	Fermentované potraviny s obsahem probiotik	450
48.6	Další mikrobiální varianty k probiotikům: postbiotika, paraprobiotika a metabiotika	451
48.6	Psychobiotika: probiotika s neuropsychickými účinky	451
49	Možnosti ovlivnění lidského mikrobiomu prebiotiky	453
49.1	Mechanismus účinku prebiotik na hostitele	454
49.2	Fruktooligosacharidy	456
49.3	Galaktooligosacharidy	456
49.4	Rezistentní škrob, isomaltooligosacharidy a xylooligosacharidy	459
49.5	Pektinové oligosacharidy	460
49.6	Mananooligosacharidy a manany	461
49.7	Polyfenoly	461
49.8	Polynenasycené mastné kyseliny	462
49.9	Vliv prebiotik na orální mikrobiom	463
49.10	Vliv prebiotik na kožní mikrobiom	463
49.11	Vliv prebiotik na minerální absorpci	464
50	Probiotika a jejich využití v klinické praxi	466
50.1	Probiotika, mikrobiom a imunitní systém	466
50.2	Alergická onemocnění	467
50.3	Probiotika v léčbě dětí s gastrointestinálními onemocněními	473
51	Přenosy mikrobioty: fekální mikrobiální terapie	482
51.1	Historie	483
51.2	Mechanismus účinku fekální mikrobiální terapie	483
51.3	Způsob provedení fekální mikrobiální terapie	484
51.4	Fekální mikrobiální terapie a klostridiová střevní infekce	484
51.5	FMT a onemocnění trávicího traktu: idiopatické střevní záněty, syndrom dráždivého tračníku	487
51.6	Rizika fekální mikrobiální terapie	488
51.7	Dárcovské banky stolice	488
51.8	Mikrobiální směs připravená z lidské stolice jako léčebný produkt	489
51.9	Modifikace fekální mikrobiální terapie	489
51.10	Perspektivy	490
51.11	Léčba predátorskými bakteriemi	490
51.12	Fágová terapie	490
	Medailonky autorů	493
	Seznam zkratk	507
	Rejstřík	514
	Souhrn	518
	Summary	519

MIKROBIOM NOVINY

Mikrobio(m)noviny České mikrobiomové společnosti ČLS JEP Vám přinášejí aktuální informace ze světa vědy a kliniky

www.mikrobiom-cms.cz



Konec 20. století byl charakterizován prudkým rozvojem nových metodických přístupů, které umožnily studovat biologické jevy na buněčné a molekulární úrovni. Analýza lidského genomu, jež proběhla v 90. letech, byla následována analýzou lidského mikrobiomu. Výsledky tohoto výzkumu přinesly revoluci v pohledu na fyziologické děje v organismu, a výrazně tak ovlivnily podstatu lékařské vědy. Výzkum mikrobiomu (mikrobioty) patří dnes k nejpopulárnější oblasti biomedicíny. Hlavním a dominantním předmětem zájmu mikrobiologie byly donedávna choroboplodné zárodky způsobující infekční choroby. Objevy posledních dekád získané při studiu mikrobioty ukázaly, že většina mikrobů žijících v lidském těle a na jeho povrchích nejsou patogeny a že ovlivňují naše zdraví daleko více, než jsme si kdy mysleli. Mikrobiom je naším dalším orgánem, který obsahuje genetické bohatství mnohonásobně (500×) převyšující lidský genom a výrazně ovlivňuje naše metabolické, imunitní a nervové děje. Poznání, že základem života všech makroorganismů včetně lidí je symbiotické soužití s obrovským množstvím mikroorganismů, které interagují vzájemně mezi sebou i se svými hostiteli, je uváděno jako důležitá revoluce v biologických vědách. Musíme si ale uvědomit, že jsme teprve v počáteční fázi, kdy mikroby hledáme a mapujeme. Čeká nás dlouhá cesta, než se proboujeme k tomu, abychom pochopili jejich funkce, úlohu a mechanismy, kterými s námi a mezi sebou komunikují. Přesto již dílčí výsledky naznačují, že bude možné jejich působení ovlivnit a využít i v praxi, v klinické medicíně.

Cílem autorů této knihy bylo ukázat mikrobiom v plné šíři, tj. od metodických přístupů přes účast v patogenetických mechanismech některých nepřenositelných častých chorob až po možnosti cíleného ovlivnění mikrobioty. Kromě odborníků zabývajících se přímo výzkumem mikrobioty jsme vyzvali i ty klinické lékaře, kteří se o efekty komenzálních mikrobů zajímají, aby vyjádřili svá očekávání, jak poznatky o mikrobiomu mohou ovlivnit jejich obor. Výsledkem je tedy kniha multidisciplinární, komplexní. Věříme, že monografii nebo její části si rádi přečtou nejen lékaři různých specializací, ale i široké spektrum studentů a laiků, kteří chtějí rozšířit své znalosti a zajímají se o tento fantastický a rychle se vyvíjející biomedicínský obor.

Poděkování

Obrovskou a neocenitelnou úlohu při zrodu a přípravě knihy hrála Česká mikrobiomová společnost České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně (web: <https://www.mikrobiom-cms.cz>), a to především členové jejího výboru, z nichž většina je autory některých kapitol. Rády bychom samozřejmě poděkovaly všem autorům za obětavou práci nejen při psaní jednotlivých kapitol, ale i při kontrolním (beta) čtení a následné opravě kapitol jiných autorů. Panu doktorovi Radkinu Honzákovi děkujeme za předmluvu, ale především za velmi časnou popularizaci mikrobioty v naší zemi (knihy *Ať žijou mikrouti*). Děkujeme redaktorskému kolektivu vydavatelství Grada za perfektně odvedenou práci a trpělivost. Zvláštní poděkování patří paní profesorce Kláře Látalové za laskavou recenzi knihy. Jménem všech autorů děkujeme rodinám za podporu a trpělivost po dlouhou dobu vzniku knihy.

Helena Tlaskalová-Hogenová a Danka Eklová
editorky

Věnováno našim rodinám

„Francouz má rád svoje játra a váží si jich. Každý rok je vyveze do lázní, a když na ně nemá, tak alespoň k moři“ (z filmu *Zápisník majora Thompsona*).

Taková láska je příkladná a já jsem dlouho marně hledal orgán, ke kterému bych mohl takhle vzhlížet a přilnout. Srdce je profláklé od počátku puberty – moje srdce letí světem propíchnuté parapletem – a plíce nejsou zdaleka tak vzhledné jako játra. Mozek, jak mi vyzradil jeden neurochirurg, je taková blivanina, navíc ho spousta našich bližních postrádá a jedou na prodlouženou míchu, což také není obdivuhodný orgán, a svaly si vyhradili sportovci. Láska ke kostře mi připadá perverzní.

S novým tisíciletím se ale náhle vynořil nový orgán hodný obdivu, lásky a úcty: střevní mikrobiom – a ten mi na stará kolena posloužil jako systém hodný adorace. Pocítil jsem něco, co asi prožil Mečnikov, když objevil fagocytózu: radoval se a už se nikdy nesebevraždil, což dělal předtím dvakrát. Mám náhle miliardy malých přátel! Můj kamarád a adolescentní vzor Jarda Hašek jim tehdy říkal mikrouti, proto je na jeho paměť jako takové propaguji. Dávají mi skrze mé ódy vydělat. Je to model přetavující chaos v řád. Představuju si optimální stav uvnitř jako stav permanentního ozbrojeného příměří, v němž ve chvílích poruchy zákeřně útočí jakýsi bakteriální Hamás.

Na druhé straně je tolerantní. Představuju si, jak v koupelně s klozetem poskakují po zubních kartáčcích fekální bakterie a pak se složitou cestou dostávají „domů“, aniž působí škody. Důmyslné procesy začíná v ústech, kde už lze poznat, zda za rohem číhá infarkt, je pročištěno v žaludku, bez váhání projíždí další šlajsnou a pak se ukázněně ubírá na místa svého působení.

Máme tady útrobní mozek v břiše, který si obousměrně telefonuje s centrálním mozkem v hlavě nejružnějšími cestami, a tak se vzájemně ovlivňují. Když stůně hlava, ani břichu není dobře a naopak. Je proto nutné udržovat jak duševní hygienu a kupovat duši včas potřebné podněty, tak hygienu mikrobiomu a nepřipustit, aby si firmikuti počínali jako diktátoři. Systém, kterým nabývají na síle je zákeřný: saháte do lednice pro zdravou karotku a ke svému zděšení držíte náhle v ruce klobásu, která míří do úst.

FODMAP je náš ideál a moje hymna mastných kyselin s krátkými řetězci zazněla na mnoha místech, stejně jako další umělecká díla složená na počest útrobního mozku, jehož význam dobře chápali naši předkové a řada lidových písní dosvědčuje dobré stravovací zvyklosti. Jen pro připomenutí text: „Hrách a kroupy, to je hloupý, / to já mívám každý den, / ale vdolky z bílé mouky / jenom jednou za týden.“

Prozatím jsem ve své praxi nedospěl k fekální transplantaci, ale jedna pacientka trpící depresemi rezistentními na léky si to před několika roky zařídila samoobslužně s pomocí přátel a nesmírně si to pochválila, dokonce o tom někde ve Slezsku vydala knížku.

Mě ale momentálně zajímá cirkadiánní cyklus mikrobiomu a příznivý výsledek půstu na všechny funkce, protože se musím zase vejít do letních košil. U kdysi reakční mušky octomilky to funguje, jsem zvědav, jak to půjde u mne a který den v měsíci zvolit pro parciální půst. Teoreticky mě pak zajímá, kdy se mí malí kamarádi ukládají do postýlek, jaká je jejich potřeba spánku a zda i ve spánku drží stráž.

Chápu docela dobře, že maratonci méně prožívají svalovou únavu, protože mají plné břicho veillonel, které žerou kyselinu mléčnou, a čekám, kdy se objeví některá bakterie, která

podobným způsobem zlepši práci mozku. Pak si koupím práškovací letadlo a budu tyhle mikrouty rozsévat po své vlasti, protože vím, že hloupost je horším nepřítelem dobra než zlo. Proti němu se můžeme vymezit, ale proti blbosti jsme bezmocní.

Radkin Honzák

Pacienti jsou smyslem
všeho, co děláme.
Inspirují nás. Motivují nás.

Bojujeme se závažnými
onemocněními

**Bristol Myers Squibb je globální
biofarmaceutická společnost. Naším
posláním je objevovat, vyvíjet a dodávat
moderní léky, které pomáhají pacientům
zvítězit nad závažnými onemocněními.**

Náš závazek vyvíjet inovativní léky je tak silný
jako vůle pacientů bojovat proti závažným
onemocněním. Nakonec bude náš úspěch
měřen jedinou věcí: jak úspěšně dokážeme
změnit životy pacientů.



NO-CZ-2400002

I. ÚVOD

DO PROBLEMATIKY MIKROBIOMU

I. Úvod do problematiky mikrobiomu

- 1 O mikrobiomu a mikrobiomové vědě 27
- 2 Srovnání staré a nové taxonomie 29

Živá a aktivní probiotika



Na vodním základu

Unikátní patentovaná technologie

Multi-kmenový bakteriální produkt

Účinnost při IBD a IBS dokázána studiemi

70 ml obsahuje přibližně 10 miliard bakterií

Více informací pro lékaře a odborníky naleznete na:

<https://bioscience.symprove.cz>



1 0 mikrobiomu a mikrobiomové vědě

Lucie Najmanová, Petra Vídeňská

Termín **mikrobiom** byl poprvé použit v roce 1988 v souvislosti s ekologií kořenových systémů rostlin. Od té doby se toto slovo začalo ve veřejném prostoru objevovat čím dál častěji a dnes již nikdo nepochybuje o tom, že svůj mikrobiom máme i my, lidé, a že je nesmírně důležitý pro naše zdraví. Ne všechny veřejně prezentované informace jsou ale vědecky podložené a pravdivé, a je tak velmi obtížné se v dané problematice orientovat. Situaci nezlehčuje ani variabilita metod využívaných ve výzkumu mikrobiomu, která může působit potíže při interpretaci některých publikovaných výsledků. Kniha *Mikrobiom a zdraví*, na jejímž vzniku se podíleli přední čeští odborníci, má za cíl přehledně shrnout stávající stav poznání a srozumitelnou formou prezentovat fascinující svět soužití mikroorganismů s jejich prostředím, zejména s lidským tělem.

Co to ale ten mikrobiom ve skutečnosti je? Existuje celá řada definic. Ta první byla vytvořena již roku 1988 autory Whipps et al. jako „charakteristické mikrobiální společenstvo obývající dobře definované prostředí charakterizované specifickými fyzikálně-chemickými vlastnostmi“. Definice zahrnovala nejen přítomné mikroorganismy, ale i jejich interakce s prostředím rezultující ve vytvoření specifické ekologické niky. Později byl termín mikrobiom v literatuře používán v různých kontextech od nejužšího významu ve smyslu „soubor genetické informace všech mikroorganismů určitého společenstva“ přes „soubor všech mikroorganismů tohoto společenstva“ (správněji nazýváno **mikrobiota**) až po zmíněnou nejširší, ekologickou definici. Ekologická definice pravděpodobně nejlépe vystihuje komplexnost problematiky, neboť zohledňuje vzájemné působení všech složek ekosystému. Proto je doporučena i Českou mikrobiomovou společností ČLS JEP, z.s.

Ekologická definice mikrobiomu: Mikrobiom představuje charakteristickou mikrobiální komunitu, která obývá určitý racionálně vymezený habitat s typickými fyzikálními a chemickými podmínkami. Termín mikrobiom nezahrnuje pouze v něm zapojené mikroorganismy, ale také jejich pole působnosti, v kterém se formují specifické ekologické niky. Mikrobiom, který představuje dynamický a interaktivní mikroekosystém podléhající změnám v čase, je propojen s makroekosystémy včetně eukaryotických hostitelů, pro jejichž tělesné funkce a zdraví je potřebný, nebo dokonce nezbytný. (Černý, et al., 2023)

Bez mikroorganismů by život na zemi nebyl možný. Doslova. Právě mikroorganismy změnily anoxygenní (bezokyslíkatou) atmosféru, kterou byla Země obklopena, na dýchatelnou, jakou známe dnes, a umožnily tak rozvoj eukaryotním organismům. Ač o tom lidé nevěděli, mikroorganismy ve svůj prospěch využívali dávno před tím, než je začali poznávat. A to zejména při výrobě různých alkoholických nápojů (víno a pivo), mléčných výrobků (od jogurtu po celou řadu tradičních kysaných produktů), pečiva či kysané zeleniny.

Jak a proč tyto procesy fungují, ale nikdo dlouho netušil. Až v 17. století popsal první mikroorganismy amatérský přírodovědec Antonie van Leeuwenhoek pomocí prvního podomácku vyrobeného mikroskopu. Později Louis Pasteur ukázal jejich nezbytnost pro proces kvašení a Robert Koch odhalil jejich roli v patogenezi infekčních onemocnění. Vědci se naučili mikroorganismy pozorovat, kultivovali je na agarových plotnách i v baňkách s tekutou živnou půdou a objevovali stále větší variabilitu mikrosvěta. Přesto jsme po celá staletí viděli jen špičku ledovce.

Další zlom ve studiu mikroorganismů nastal s objevem DNA a rozvojem molekulárně-biologických metod. Tyto metody umožnily studovat i mikroorganismy, které neumíme kultivovat na agarových miskách, tedy nedokážeme vytvořit vhodné podmínky pro jejich růst a množení. Pro mnohé z nich je například toxická přítomnost kyslíku v atmosféře, jiné v něčem spoléhají na „podporu“ své komunity, ať už je to suplementace některou z živin, vytvoření prostředí vhodného k adhezi, nebo například ochrana před toxiny a antibiotiky a podobně. DNA v sobě ale mají všechny organismy a zároveň ji umíme identifikovat a přečíst. A protože sekvence DNA je pro každý organismus jedinečná, nemusíme už dnes mikroorganismus „vidět“, nemusíme si na něj „sáhnout“, abychom dokázali s jistotou potvrdit, že „tam“ je. Na základě analýzy DNA lze navíc nejenom identifikovat nové mikroorganismy a určit jejich příbuznost s ostatními (tzn. určit jejich taxonomické zařazení), ale můžeme i studovat jejich metabolický potenciál (tedy jak žijí a co vlastně umí) a další geny. Počty takto identifikovaných mikroorganismů, u nichž často známe jen úsek DNA, dalece přesahují počty kultivovatelných druhů.

Díky technologickému rozvoji sekvenačních metod a jejich dramatickému zlevnění došlo v posledních letech opakovaně ke skokovým nárůstům informací o původu a příbuznosti jednotlivých druhů bakterií, což vedlo i ke změnám v dříve popsaných příbuzenských vztazích mikroorganismů, a tedy ke korekci v zaběhlém taxonomickém systému prokaryot. Ačkoli k revizi zařazení jednotlivých druhů do taxonomického systému dochází na základě nových poznatků v podstatě kontinuálně, koncem roku 2021 byl taxonomický systém revidován komplexně s ohledem na sjednocení metodiky pojmenovávání jednotlivých taxonomických kategorií. V této souvislosti byly přejmenovány i některé velmi významné kmeny a nižší taxony, které jsou opakovaně zmiňovány v této knize. Příkladem mohou být bakteriální kmeny Firmicutes a Bacteroidetes (asi nejčastěji diskutované taxony v souvislosti s lidským mikrobiomem), které se nově nazývají Bacillota a Bacteroidota. Někteří autoři v knize používají starší názvosloví, které může být čtenáři bližší, neboť se se staršími názvy ve veřejném prostoru často setkává. Abychom učinili zadost vědecké správnosti, a přitom zůstali přívětiví vůči čtenáři, nabízíme zde pro snazší orientaci tabulku vybraných nejčastěji jmenovaných taxonů s jejich novým i původním názvem. Pro zvědavější čtenáře doporučujeme stránky Taxonomy Browser (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>), provozované The National Center for Biotechnology Information, kde lze ověřit nejnovější taxonomickou klasifikaci kteréhokoli organismu včetně historického vývoje.

Mikroorganismy ovlivňují člověka a člověk zase mikroorganismy, což reflektuje pojem **holobiont** (superorganismus, uskupení hostitele a mikroorganismů žijících v něm i na něm ve vzájemné dynamické rovnováze). Tyto vztahy jsou tak složité, že je i při dnešních vyspělých technologiích nelze komplexně analyzovat s jednoznačnou interpretací. Ačkoli při analýzách mikrobiomů skládáme dohromady pohledy mikrobiologů, imunologů, lékařů nebo ekologů, mykologů, virologů, genetiků a bioinformatiků a mnoha dalších odborností, stále zbývá mnohem více toho, co ještě nevíme, než toho, co známe. Pokora v interpretaci poznatků a otevřenost novým objevům je tedy v mikrobiomové vědě na místě více než kde jinde.

Literatura

Černý V, Hrdý J, Beneš J, Tláskalová H. A word on the microbiome: considerations about the history, current state, and terminology of an emerging discipline. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2023;72(2):112–118.

Whipps JM, Lewis K, Cooke RC. Mycoparasitism and plant disease control. In Burge MN. *Fungi in biological control systems*. Manchester: Manchester University Press, 1988, s. 161–187.

2 Srovnání staré a nové taxonomie

Lucie Najmanová

Tab. 2.1 Převodní taxonomická tabulka pro vybrané důležité taxony zmiňované v textech jednotlivých kapitol knihy. K nejvýraznějším změnám došlo na úrovni kmene (phylum) v souvislosti se sjednocením koncovky označení -ota.

Říše	Kmen – předchozí název	Kmen (phylum), koncovka -ota	Třída (class)	Řád (order), koncovka -ales	Čeleď (family), koncovka -ceae	Rod – předchozí zařazení	Rod (genus)	Druh (species)
Bacteria	Actinobacteria	Actinomycetota	Actinomycetes	Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae		<i>Bifidobacterium</i>	
				Mycobacteriales	Corynebacteriaceae		<i>Corynebacterium</i>	
					Mycobacteriaceae		<i>Mycobacterium</i>	<i>tuberculosis</i>
				Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae		<i>Pseudonocardia</i>	
			Coriobacteria	Coriobacteriales	Coriobacteriaceae		<i>Collinsella</i>	
				Eggerthellales	Eggerthellaceae		<i>Eggerthella</i>	<i>lenta</i>
	Firmicutes	Bacillota	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	<i>Weizmannia</i>	<i>Heyndrickia</i>	<i>coagulans</i>
					Staphylococcaceae		<i>Staphylococcus</i>	
				Lactobacillales	Enterococcaceae		<i>Enterococcus</i>	
					Lactobacillaceae		<i>Lactobacillus</i>	
					Streptococcaceae		<i>Streptococcus</i>	
			Clostridia	Eubacteriales	Clostridiaceae		<i>Clostridium</i>	<i>perfringens</i>
							<i>Faecalibacterium</i>	
					Oscillospiraceae		<i>Oscillospira</i>	
							<i>Ruminococcus</i>	
				Lachnospirales	Lachnospiraceae		<i>Anaerostipes</i>	
							<i>Roseburia</i>	
			Negativicutes	Veillonellales	Veillonellaceae		<i>Dialister</i>	
			Peptostreptococcales	Peptostreptococcaceae	Clostridioides	<i>Clostridium</i>	<i>Clostridioides</i>	<i>difficile</i>
	Bacteroidetes	Bacteroidota	Bacteroidia	Bacteroidales	Bacteroidaceae		<i>Bacteroides</i>	
					Prevotellaceae		<i>Prevotella</i>	
					Rikenellaceae		<i>Alistipes</i>	
					Tannerellaceae		<i>Tannerella</i>	
			Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae		<i>Capnocytophaga</i>	
	Proteobacteria	Campylobacterota	Epsilonproteobacteria	Campylobacteriales	Campylobacteraceae		<i>Campylobacter</i>	
	Saccharibacteria	Candidatus Saccharibacteria	NEURČENO	NEURČENO	NEURČENO		TM7	
	Fusobacteria	Fusobacteriota	Fusobacteriia	Fusobacteriales	Fusobacteriaceae		<i>Fusobacterium</i>	<i>nucleatum</i>
	Tenericutes	Mycoplasmata	Mycoplasmata	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae		<i>Mycoplasma</i>	
	Proteobacteria	Pseudomonadota	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae		<i>Burkholderia</i>	
					Sutterellaceae		<i>Sutterella</i>	
			Gammaproteobacteria	Aeromonadales	Succinivibrionaceae		<i>Ruminobacter</i>	
							<i>Succinivibrio</i>	
				Enterobacteriales	Enterobacteriaceae		<i>Citrobacter</i>	
							<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>
							<i>Klebsiella</i>	
							<i>Salmonella</i>	
							<i>Shigella</i>	
				Moraxellales	Moraxellaceae		<i>Moraxella</i>	
				Pseudomonadales	Pseudomonadaceae		<i>Pseudomonas</i>	
				Xanthomonadales	Xanthomonadaceae		<i>Stenotrophomonas</i>	
	Synergistetes	Synergistota	Synergistia	Synergistales	Aminobacteriaceae		<i>Fretibacterium</i>	
	Thermodesulfobacteria	Thermodesulfobacteriota	Desulfovibrionia	Desulfovibrionales	Desulfovibrionaceae		<i>Desulfovibrio</i>	
	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiota	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Akkermansiaceae		<i>Akkermansia</i>	

II. METODICKÉ PŘÍSTUPY

II. Metodické přístupy

3	Metodické přístupy ke studiu mikrobiomu	33
4	Mikrobiom a bioinformatika	44
5	Gnotobiologie jako metoda analýzy účinků mikrobioty	48
6	Historie české gnotobiologie a její přínos pro studium úlohy mikrobioty	61

KOMPLETNÍ ŘEŠENÍ PRO NGS ANALÝZU MIKROBIOMU

Homogenizace
vzorků

Izolace
nukleových
kyselin

Kontrola kvality
nukleových
kyselin

Příprava
NGS
knihoven

Kontrola
kvality
NGS knihoven

Sekvenování

Analýza
a interpretace
dat

Cílené regiony pokrývané kity pro přípravu NGS knihoven NEXTFLEX™ 16S rRNA

NEXTFLEX 16S V1-V3 AMPLICON-SEQ KIT

NEXTFLEX 16S V4 AMPLICON-SEQ KIT 2.0

NEXTFLEX 16S V3-V4 AMPLICON-SEQ KIT



AVITI: Revoluční kombinace sekvenování a cytoprofilování



Vyhodnocení a interpretace získaných dat bez potřeby pokročilých bioinformatických znalostí



**DYNEX – autorizovaný distributor
Element Biosciences a Revvity**

Lidická 977, 273 43 Buštěhrad

Tel.: +420 220 303 600, email: office@dynex.cz

www.dynex.cz



3 Metodické přístupy ke studiu mikrobiomu

Petra Videňská, Petr Baldrian

Souhrn

- Mikrobiom je složen z mnoha různých mikroorganismů, proto neexistuje jednotná metodika pro jejich výzkum. Nejvíce se ale studují bakterie, které zároveň tvoří majoritní část většiny mikrobiomů.
- Při výzkumu mikrobioty se nejčastěji využívají molekulárněbiologické metody, tedy kultivačně nezávislé, a to z důvodu, že u většiny mikroorganismů neznáme podmínky, za kterých je lze kultivovat.
- Složení mikrobiomu nejčastěji určujeme pomocí sekvenace. U bakterií se využívá gen pro 16S rRNA nebo celometagenomové sekvenování. To druhé lze využít i pro analýzu dalších mikroorganismů přítomných v daném mikrobiomu a umožňuje také odhalit funkční potenciál mikrobiomu. Obě metody mají své výhody, nevýhody a limitace.
- Na významu roste funkční analýza mikrobiomu. Studium RNA (metatranskriptomika) se díváme, které geny jsou v daný čas a za daných podmínek aktivní a přepisují se, studiem proteinů (metaproteomika) lze lépe pochopit dlouhodobější funkčnost mikrobiomu a studiem metabolitů (metametabolomika) lze odhalit finální produkt biochemických aktivit jednotlivých mikroorganismů.

3.1 Mikroorganismy a jak je zkoumat

Přestože mikroorganismy sdílí důležitou vlastnost – malou velikost (proto mikroorganismy) –, patří mezi ně organismy geneticky i fyziologicky velmi rozdílné, například bakterie, vláknité houby, kvasinky či prvoci. Z hlediska genetiky jsou si podobnější člověk s kvasinkou než kvasinka s bakterií. Výzkum mikrobiomu musí brát odlišnosti mezi mikroorganismy v potaz a volit metody vhodné pro konkrétní druh či skupinu druhů. Většinou tvoří majoritní část mikrobiomu bakterie, kterým se budeme v této kapitole knihy věnovat nejvíce. Pojďme si alespoň krátce připomenout vlastnosti základních skupin mikroorganismů.

Bakterie patří mezi jednobuněčné mikroorganismy. Mají relativně specifickou životní strategii, která jim umožňuje velice rychle se adaptovat na různé změny prostředí a stresové situace (a i proto ve válce antibiotika vs. bakterie začínáme prohrávat). Mohou za to poděkovat vysoké genetické plasticitě podmíněné tím, jak vypadá jejich genetická informace. Tu tvoří povětšinou jenom jedna molekula DNA (chromozom) kružnicového tvaru a oproti eukaryotům (kam spadá vše od kvasinky přes pšenici až po člověka) pouze s jednou variantou každého genu. Každá změna genu – mutace – se tak ihned projeví. A mutací vzniká u bakterií více než u eukaryot, protože jejich mechanismy opravy DNA nejsou tak účinné. Bakteriím totiž nevadí, že náhodné mutace jsou často letální, protože „potomků“ mateřské buňky přibývá velmi rychle. Je-li ale bakteriální populace vystavena nějakému stresu (např. antibiotiku), stačí jedna jediná pozitivní mutace u jedné jediné bakteriální buňky zapříčiňující lepší odolnost a daná varianta se z pohledu člověka za velmi krátkou dobu stane dominantní a bakterie daný stres přežije. Bakterie také disponují celou řadou mobilních genetických elementů, kam patří i plasmidy, dodávající bakteriím nové vlastnosti, a to často ve větších úsecích nesoucích geny s obdobným působením. Bakterie plně využívají

svoji genetickou flexibilitu, a proto se mobilních elementů zbavují, pokud je nepotřebují, a naopak v případě vystavení stresovému faktoru je zase rychle přijímají.

Kvasinky, plísně, řasy a prvoky řadíme mezi mikroorganismy eukaryotické, které mají složitější buněčnou stavbu a chromozomy – molekuly DNA mají obvykle v páru, tedy ke každé variantě genu mají ještě jednu, a když je například jedna chybná, druhá napomůže. Pouze některé houby tráví větší část života s jednou kopií genomu, ale i u nich se chyby korigují v průběhu reprodukce. U lidského střevního mikrobiomu jsou zajímavé zejména kvasinky a plísně, i když tvoří jen zhruba 0,1 % z celku. Přesto, podobně jako bakterie, mohou svými metabolity ovlivňovat nejen stav střevní stěny, ale i další orgány, a stimulovat tak imunitní systém. Podstatně významnější podíl mají houby a prvoci v jiných mikrobiomech. Například v mikrobiomu půdy může být množství jejich biomasy srovnatelné s biomasou bakterií.

Viry jsou často předmětem filozofických sporů, zda je vůbec řadit do mikrobiomu, který je složen z mikroorganismů, když jsme se jako lidstvo přece shodli, že to žádné organismy nejsou, neboť nejsou schopny samostatného množení, a tím pádem je jejich existence považována za něco mezi živým a neživým. Ale pro výzkum je docela podstatné, že obsahují nukleové kyseliny řídící se stejnými vlastnostmi jako nukleové kyseliny všech dalších mikroorganismů. Co však najdeme jen u virů, je rozmanitost formy nukleové kyseliny. Živé organismy mají ve svých buňkách dvouřetězcovou DNA a můžeme ji nalézt i u některých virů. Jiné viry ale obsahují pouze jednovláknovou molekulu DNA nebo jedno- či dvouvláknovou molekulu ribonukleové kyseliny (RNA). Viry interagují jak s makroorganismy (např. lidskými buňkami ve střevě), tak s mikroorganismy. Bakteriofágy jsou viry, které se množí v bakteriích a mohou bakteriální buňky buď lyzovat (rozložit), anebo se začlenit do jejich DNA a např. přidat nějakou vlastnost (a jsme zase u flexibility bakteriálního genomu). Přítomnost bakteriofágů ve střevě může mít vliv na celkové bakteriální složení mikrobiomu. Zajímavostí je i to, že vzhledem k jejich velice úzké specializaci – jeden bakteriofág dokáže nakazit jen jeden kmen bakterie – se skvěle hodí jako alternativa antibiotik, protože komenzální bakterie nechá v klidu.

Archea jsou dosud poměrně málo známé mikroorganismy objevené v roce 1977 Carlem Woese. Jsou natolik odlišné od jiných mikroorganismů, že tvoří třetí doménu života na Zemi (první doménou je Bacteria, druhou Eukarya). Mají totiž některé charakteristické rysy společné s bakteriemi (např. prokaryotickou stavbu buněk, jeden kružnicový chromozom), ale jiné podobné eukaryotům (stavba RNA polymerázy, homologii ribozomálních proteinů apod.). V této skupině mikroorganismů nalezneme zejména různé extremofily, vyhledávající vysoké teploty či tlaky, nicméně její zástupce nalezneme i v mikrobiomu střevního traktu a často i v půdním prostředí.

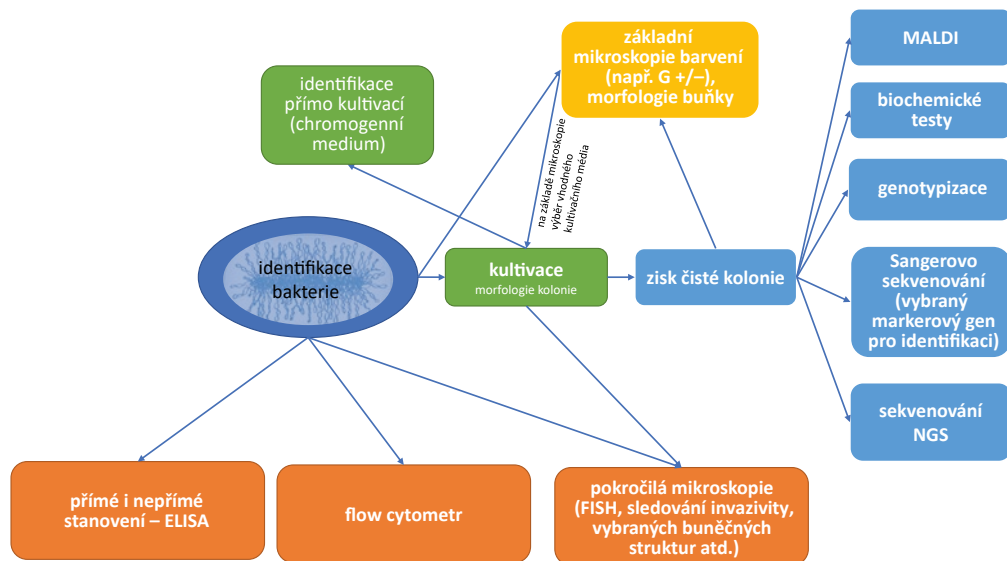
3.2 Základní postupy při výzkumu bakterií

Majoritní část mikrobiomů tvoří bakterie, které patří i mezi nejprozkoumanější skupinu mikroorganismů. Přestože jsou dlouhodobě předmětem vědeckého zájmu, nevíme o nich zdaleka všechno. Na světě je totiž nepřehledné množství jejich druhů a my známe jen malé procento z nich. Nejlépe máme prozkoumané bakterie kultivovatelné. U těch známe podmínky, za jakých mohou vyrůst na živném agaru nalitém na Petriho misce, a můžeme je tedy pěstovat a pozorovat. Na misce kultury bakterií tvoří kolonie, což je obvykle populace tvořená potomstvem jedné původní bakteriální buňky. Protože všechny buňky mají stejný původ a vlastnosti, označujeme je jako čistou kulturu. Skutečnost, že bakterie v čisté kultuře jsou stejné, usnadňuje jejich bližší charakterizaci.

Metod pro identifikaci bakterií z čisté kultury máme celou řadu (obr. 3.1). V diagnostice nám u nejčastějších patogenů často stačí pouze správně zvolené kultivační médium, na kterém, jedná-li se o hledaný kmen, narostou charakteristicky zbarvené kolonie. A jaké kultivační médium zvolit, nám zase napoví např. mikroskopie umožňující určení morfologie buňky nebo barvení podle Grama (na základě složení buněčné stěny tímto barvením rozlišujeme bakterie grampozitivní, gramnegativní a ty, které se nebarví; někdy nás může překvapit i bakterie gramvariabilní). Často je ale potřeba pokročilejší technologie v podobě hmotnostního spektrometru (MALDI-TOF), jež srovnává hmotnostní spektra látek obsažených v bakteriální buňce, které jsou charakteristické pro analyzovaný rod, druh či kmen.

Některé bakterie ale není možné od sebe odlišit ani touto technikou, a navíc lze identifikovat pouze bakterie, jejichž typové vlastnosti jsou v databázi daného pracoviště. Bakterii pak můžeme určit pomocí biochemických testů nebo s využitím molekulárních markerů, kdy pomocí techniky PCR (polymerázová řetězová reakce) hledáme sekvenci DNA charakteristickou jen pro hledaný kmen. V neposlední řadě můžeme osekvenovat část genu nebo celý genom bakterie. Další častou metodou vyskytující se v diagnostických laboratořích je ELISA (enzymová imunoanalýza), která je založena na detekci antigenů (hledáme bakterie například v krvi) nebo protilátek (nehledáme samotného původce nemoci, ale specifickou reakci našeho těla – protilátky proti antigenu). Výjimečně lze využít i průtokový cytometr nebo fluorescenční mikroskop, kdy se využijí speciální sondy na označení hledané bakterie a následně se bakterie pomocí těchto přístrojů identifikují.

V diagnostice obvykle hledáme již známého původce onemocnění a metody jsou uzpůsobeny zejména jeho co nejrychlejšímu nalezení. Ve výzkumu nám ale často jde o něco jiného – poznat bakterii novou a popsat její charakteristiky. Zde nejčastěji hned na začátku bakterii osekvenujeme (tedy přečteme) celý genom, a zjistíme tak její celý genotyp (tedy souhrn všech genů, které má k dispozici a jež určují její potenciální funkci), a uděláme řadu biochemických testů za různých podmínek, čímž zjistíme její fenotyp (její pozorovatelné vlastnosti, tedy jak vypadá a na jakých procesech se podílí).



Obr. 3.1 Postupy využívání v identifikaci bakterií

K tomu všemu však potřebujeme počáteční čistou kulturu, kterou ale v drtivé většině případů nedostaneme. Tím se dostáváme ke studiu mikrobiomu, jenž bývá tvořen zejména z bakterií nekultivovatelných, tedy takových, u nichž neznáme podmínky, za jakých by mohly růst, což je dáno například složitými metabolickými vztahy v mikrobiálních společenstvech – některé mikroorganismy pravděpodobně nikdy nerostou samy. Ke studiu nekultivovatelných mikroorganismů používáme zejména molekulárněbiologické metody, kdy musíme vzít zavděk zkoumáním směsi veškeré DNA izolované ze vzorku bez možnosti úplně a správně rekonstruovat genomy jednotlivých neznámých bakterií.

3.3 Jak studovat nemožné

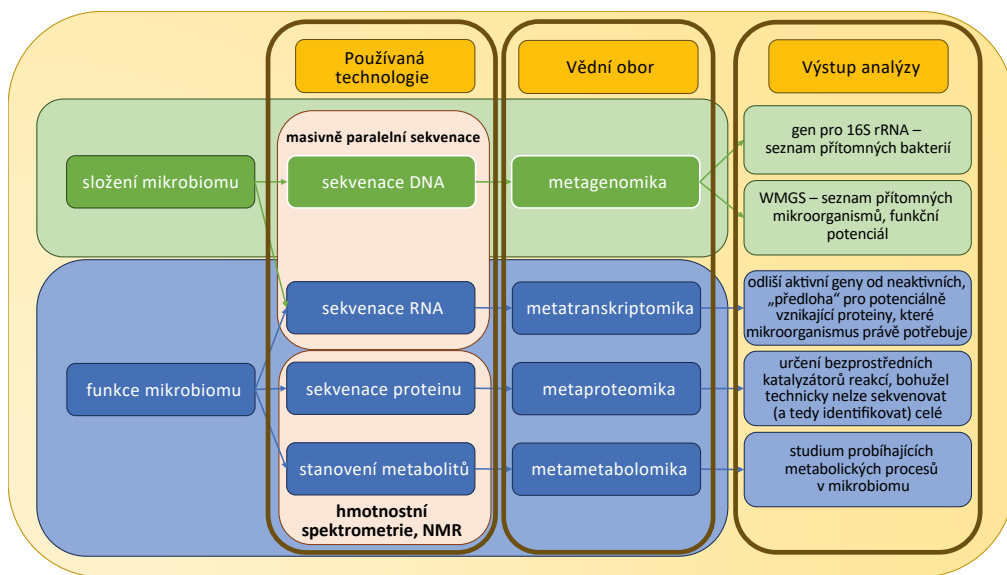
Ještě nedávno slova mikrobiom/mikrobiota (dříve mikroflóra) nikdo neznal a dnes jsou dobře známá i široké laické veřejnosti a svým významem zasahují do různých vědeckých i lékařských oborů (důkazem je i tato kniha). Může za to vývoj metod v posledních desetiletích. Objev technologie masivního paralelního sekvenování krátkých fragmentů DNA (popřípadě RNA přepsané do cDNA) změnil pohled nejenom na lidský genom, ale i na **metagenom**, což je souhrn všech genomů všech členů mikrobiomu. Až díky této metodě byl odhalen velice obsáhlý a rozmanitý svět mikroorganismů. Bohužel i tato metoda má své limitace, zejména kvůli své komplexitě. Například střevní mikrobiom obsahuje 150× více genetické informace než lidský genom a jeho složení se člověk od člověka liší až z 80 %, zatímco genomy dvou lidí se liší jen částí mnohem menší než 1 %.

Sekvenování nám tedy umožňuje zjistit, jaké mikroorganismy v mikrobiomu jsou. Vědci ale samozřejmě potřebují jít dále a stanovit i to, co tyto mikroorganismy dělají a ideálně i jak to dělají. Pomocí sekvenace se tedy dále zjišťuje, jaký je genetický potenciál ve vzorku: jaké tam jsou metabolické dráhy, geny pro rezistence k antimikrobiálním látkám, geny pro produkci různých enzymů apod. Studium RNA (zase nejčastěji pomocí sekvenace, ale pro úplnost lze využít i mikroarray a kvantitativní PCR), tedy **metatranskriptomikou**, lze zase určit, jaké geny a za jakých podmínek se přepisují. Na rozdíl od celkového potenciálu můžeme například zjistit, které metabolické dráhy jsou aktivní a jaké enzymy se chystají buňky vyrábět. Při studiu metabolomu pak sledujeme finální produkt, typicky směs širokého spektra jednoduchých organických látek produkovaných členy mikrobiomu. Přítomnost metabolitů dokládá nejenom to, že ve směsi DNA je potřebný gen pro jeho tvorbu, ale i to, že je daný gen v daných podmínkách aktivní a přepisuje se do RNA a příslušný enzym (protein s katalytickou funkcí) daný produkt vytvoří. Příkladem konkrétního metabolitu je např. butyrát, který slouží jako zdroj energie pro naše střevní buňky – kolonocyty. Metabolom nejčastěji zkoumáme pomocí hmotnostních spektrometrů, ale lze využít i magnetickou rezonanci (**obr. 3.2**).

Do určité míry lze zkoumat rovněž proteiny – enzymy produkované mikroorganismy. I ty informují o procesech, které v mikrobiomu probíhají, protože tyto funkce přímo realizují. Studium souhrnu všech proteinů, tedy **metaproteomu**, je však náročné, protože na rozdíl od sekvenace DNA neumíme dosud číst celé sekvence proteinů, a navíc pro jejich identifikaci často potřebujeme znát metagenom daného mikrobiomu. Pro studium metaproteomu se obvykle proteiny štěpí na kratší úseky, které se dělí a identifikují pomocí hmotnostní spektrometrie.

Název této sekce je „Jak studovat nemožné“ a nebyl zvolen náhodně. Studium mikrobiomu je přes všechny nové a stále se rozvíjející techniky velice náročné a náchylné na chyby. Příkladem může být již návrh studie/experimentu, kdy je potřeba věnovat značnou pozornost už odběru vzorku. Výzkumník či lékař musí zabránit kontaminaci – znečištění něčím,

co do mikrobiomu nepatří, zabránit pomnožení určitých skupin bakterií (např. ve střevním mikrobiomu se nacházejí zejména anaerobní bakterie, po vystavení vzduchu se složení velmi rychle a významně mění ve prospěch fakultativně anaerobních bakterií), odebrat reprezentativní vzorek (např. u vodních toků odebrat z více míst, z více hloubek, následně vzorek smíchat atd.), zajistit návaznost metodiky odběru na jiné studie, aby mohlo dojít k porovnání výsledků apod. Následuje celá řada rozhodnutí, která mohou ovlivnit a ovlivňují výsledky, jako je metoda izolace nukleových kyselin (Vídeňská, et al., 2019), strategie přípravy vzorku pro sekvenaci (Eisenhofer, et al., 2024), vyhodnocení dat (Gao, et al., 2021) apod. Neexistuje sjednocený technologický postup, což se následně projevuje v nekonzistentních výsledcích mnohých mikrobiomových studií.



Obr. 3.2 Metodické přístupy ve studiu složení a funkce mikrobiomu

3.4 Masivně paralelní sekvenace

Velkým milníkem nejen v oboru mikrobiologie se stalo zavedení metody masivně paralelní sekvenace, jež umožňuje přechíst ohromné množství genetické informace najednou. Dříve se DNA sekvenovala pomocí Sangerovy sekvenace (sekvenace první generace), která ale umožňovala číst vždy jen jednu molekulu DNA. Pro ilustraci, lidský genom se v rámci slavného mezinárodního projektu Human Genome Project (HUGO) sekvenoval pomocí této technologie od roku 1990 po celých 10 let a na jeho dokončení bylo třeba mnoho milionů amerických dolarů. A právě tento nákladný projekt umožnil vznik technologiím masivně paralelní sekvenace, díky kterým nyní osekvenujeme lidský genom do druhého dne zhruba za jeden tisíc dolarů.

Pro masivně paralelní sekvenaci se používají dva typy sekvenátorů – sekvenátory druhé a třetí generace. Rozšířenější a využívanější jsou technologie druhé generace, protože v tuto

chvíli poskytují přesnější a levnější výsledky, ale mají oproti třetí generaci jistá omezení. Uvedme si tedy základní specifikace.

Přístupy druhé generace umožňují sekvenovat úseky DNA dlouhé zhruba 30–1000 párů bází. Před samotnou sekvenací dochází k namnožení studované sekvence: daný úsek DNA se pomocí PCR pomnoží a až pak je osekvenován („přečten“). Namnožení molekul je nutné k tomu, aby došlo ke zvýšení signálu, který vzniká přitom, kdy se do prodlužujícího sekvenovaného úseku DNA inkorporuje příslušná značená báze. Díky pomnožení se neinkorporuje pouze jedna báze, ale tisíce, a tím se zvýší detekovaný signál.

Základním rozdílem u sekvenace třetí generace je přímá sekvenace molekuly DNA bez nutnosti jejího namnožení. Pro uživatele má tu výhodu, že je možné sekvenovat delší úseky DNA, a to o délce až desítek tisíc párů bází. Toho lze s úspěchem využít, je-li potřeba poskládat neznámý genom, analyzovat strukturální varianty nebo mapovat haplotypy (skupina alel na jednom chromozomu, které jsou na potomky přenášeny pohromadě). Díky velmi citlivému analyzátoru signálu, jenž dokáže rozpoznat jedinou inkorporovanou bázi do řetězce DNA, lze často sledovat i modifikace bází, což je užitečné zejména při studiu epigenetiky, která zkoumá metylované báze, jejichž rozmístění například v lidském genomu ovlivňuje expresi jednotlivých genů – jejich přepis do RNA. Nevýhodou sekvenace třetí generace je nižší přesnost – tedy větší počet chybně přečtených bází. A vyšší je rovněž cena za sekvenaci stejného objemu genetické informace, i když s příchodem nových a větších sekvenátorů významně klesá.

3.5 Sekvenační přístupy ve výzkumu mikrobiomu

Pokud sekvenujeme DNA libovolného mikrobiálního společenstva, můžeme využít dvou základních přístupů (Durazzi, et al., 2021). Prvním z nich je sekvenace krátkého úseku genu pro malou ribozomální podjednotku (16S rRNA), umožňujícího více či méně rozpoznat mikroorganismy nacházející se ve vzorku. Druhým je metagenomová sekvenace (WMGS, whole metagenome sequencing), při které dochází k sekvenaci všech molekul DNA ve vzorku.

Sekvenace genu pro 16S rRNA patří do skupiny cíleného sekvenování, kdy před samotnou sekvenací amplifikujeme metodou PCR krátký úsek námi vybrané DNA. Gen pro 16S rRNA je pro bakterie velice důležitý, protože zajišťuje propojení ribozomálních proteinů malé podjednotky do funkčního celku, který je zapotřebí pro translaci RNA do proteinů. Vzhledem k tomu, že je pro přežití bakterií tento gen zásadní, je přítomen u všech bakterií a má relativně konzervované části, stejné u všech druhů. Důležité pro výzkum je, že tento gen kromě konzervativních oblastí, jež se využívají pro nasedání primerů, obsahuje i variabilní oblasti, které umožňují rozlišovat jednotlivé druhy bakterií mezi sebou.

Největší výhodou tohoto přístupu je cena, protože se sekvenuje pouze krátká část genu a lze sekvenovat i na méně kapacitních (a tím pádem levnějších) sekvenátorech. V sekvenaci lze jít opravdu do hloubky, a získat tak informaci i o přítomnosti velmi nízc zastoupených bakterií. Protože se jedná o nejvyužívanější přístup ve výzkumu mikrobiomu (i když se snižující se cenou sekvenací a zvyšující se dostupností vysokokapacitních sekvenátorů roste uplatnění WMGS), i bioinformatické vyhodnocení má již docela dobře zavedenou metodiku. Nespornou výhodou má tento přístup u vzorků, kde je bakteriální DNA málo, protože tam WMGS nelze využít, nebo které obsahují velké množství DNA hostitele. Jako příklad si můžeme uvést střevní tkáň, kde přežívá minimum mikroorganismů a většina izolované DNA patří člověku.

Sekvenace genu pro 16S rRNA má bohužel ale celou řadu nevýhod. Například je tento gen dlouhý více než 1500 bází (délka genu se u různých bakterií liší), ale sekvenátory druhé

generace umožňují spolehlivě sekvenovat pouze úsek dlouhý 300–450 bází. Takže si musíme vybrat, kterou z oblastí genu prosekvenujeme, přičemž rozlišitelnost různých bakterií se v různých variabilních oblastech liší.

Konzervativní oblasti, nutné pro namnožení sekvencí, nejsou navíc zcela identické, tak aby je všechny podchytil jeden jediný pár primerů. Takže nikdy žádným primerem nezachytíme úplně všechny bakterie ve vzorku. Zároveň ale ani variabilní oblasti nemusí být natolik variabilní, aby bylo možné navzájem rozlišit všechny blízce příbuzné druhy bakterií. Některé bakterie rozeznáváme pouze do kmene, velice často do čeledě, méně často do rodu a pouze výjimečně do druhu.

Další slabinou sekvenace genu pro 16S rRNA je to, že bakterie mají tento gen ve svém genomu v různých počtech kopií, a počet sekvencí tak přesně neodpovídá zastoupení druhů ve vzorku. Proto je analýza mikrobiomu semikvantitativní a musí se brát s mírným nadhledem.

Celometagenomové sekvenování patří mezi nejdražší analýzy vůbec, nicméně minimalizuje řadu slabin předchozího přístupu, a navíc umožňuje získat mnohem více informací o funkčním potenciálu mikrobiomu. Příprava vzorku je překvapivě jednodušší než v předchozím případě, protože není potřeba molekuly DNA množit, vzorek se připraví s použitím komerčního kitu a sekvenuje se veškerá získaná DNA. V následné bioinformatické analýze se pomocí markerových genů bakterie určí často až do druhu, a nadto je možné zjistit přítomnost konkrétní metabolické dráhy, genů rezistence k antimikrobiálním látkám, genů pro enzymy zajímavé z biotechnologického hlediska apod. V určitých případech je možné sestavovat celé genomy nebo aspoň jejich dlouhé úseky. Protože vzorek obsahuje veškerou DNA, není nutné se omezovat pouze na výzkum bakterií, ale umožňuje nám to studovat i další mikroorganismy, jako jsou kvasinky, plísně a DNA viry.

V **tabulce 3.1** jsou shrnuty výhody a nevýhody obou přístupů.

Tab. 3.1 Srovnání analýzy genu pro 16S rRNA a WMGS

Analýza genu pro 16S rRNA	WMGS
Výhody • cena; • sekvenuje se pouze malá část vzorku; • lze sekvenovat i vzorky s minimálním množstvím bakteriální DNA (problém jsou kontaminace a chyby při amplifikaci); • relativně dobře zavedená metodika a bioinformatická analýza dat.	Výhody • získá se informace nejenom o bakteriálním složení ve vzorku, ale i o ostatních genech, např. lze najít nejčtenější geny metabolických drah, geny pro antibiotickou rezistenci, geny pro různé enzymy zájmu apod.; • pomocí vybraných markerových genů lze některé bakterie určit až do druhu; • lze zároveň identifikovat i další mikroorganismy (DNA viry, plísně...).
Nevýhody • žádný primer nezachycuje všechny bakterie; • krátký úsek variabilní oblasti nezajišťuje dobré rozlišení ani na úrovni rodu (rozlišitelnost se liší u různých bakterií); • bakterie mají různý počet kopií genu pro 16S rRNA, proto se musí semikvantitativní výsledky analýz brát s určitým nadhledem; • analýzou se zachytávají pouze bakterie, někdy mohou primery nasedat i na Archaea.	Nevýhody • cena cca 10–30× vyšší, než u analýzy genu pro 16S rRNA; • u vzorků s malým množstvím bakteriální DNA problém s přípravou vzorku k sekvenaci, u některých vzorků téměř nemožné; • nejednotná shoda v bioinformatické analýze dat; • sekvenování nemusí být dostatečně hluboké, aby detekovalo vzácné druhy.

Někdy se ještě používá **mělká sekvenace** metagenomu (shallow shotgun metagenome sequencing či shallow whole metagenomic sequencing, SSMS či S-WMS) (Xu, et al., 2021). V principu jde o to, že vzorek je připraven stejně jako pro WMGS, ale neprosekvenovává se tak hluboko. Tím se výrazně sníží cena, i když pořád je o něco dražší než sekvenování genu pro 16S rRNA, ale díky markerovým genům dojde k lepší identifikaci bakterií. Tato metoda však nemůže nahradit analýzu genu pro 16S rRNA u vzorků s nízkým zastoupením bakteriální DNA ve vzorku nebo u vzorků, kde je většina neznámých bakterií, a tím pádem u nich nejsou známy markerové geny, a ani není vhodná, pokud je WMGS využívána například pro sestavování nových genomů. Tato metoda se doporučuje zejména u velkých kohortových studií při analýzách střevního mikrobiomu.

Při interpretaci sekvenčních dat je dobré vzít v potaz, že výsledné složení je ovlivněno celou řadou faktorů. Mezi ty patří například metodika sběru vzorků, izolace DNA, příprava vzorku z izolované DNA a technické parametry vlastní sekvenace. Proto je nezbytné si tyto faktory poznamenávat a věnovat jim při analýze určitou pozornost. Nejdůležitější pravidlo všech mikrobiomových studií zní: v rámci jedné studie dělat vždy vše stejně.

3.6 Studium eukaryot za pomoci sekvenčních přístupů

Pro studium eukaryot můžeme uplatnit stejné metodické přístupy, jako u studia prokaryot. U přístupu WMGS bývá limitující skutečnost, že eukaryotních zástupců bývá v mikrobiomu výrazně méně než bakterií, a tak je pro důkladný výzkum nutné sekvenovat velice hluboko, což se odráží na ceně. Často se tak využívá cílené sekvenování, ale vybírají se geny vhodné pro eukaryotní organismy. Eukaryotní variantou bakteriálního molekulárního markeru 16S rRNA je gen pro 18S rRNA. Často jsou využívány také úseky ITS1 a ITS2, nebo další geny. Výběr vhodného markeru závisí na tom, která skupina eukaryot je předmětem studia, protože vhodný gen se pro jednotlivé skupiny (kvasinky, plísně, prvoci) může lišit.

Oproti analýzám bakterií se tato metodika potýká s více problémy, způsobenými zejména heterogenitou jednotlivých skupin. Každý navrhnutý primer zachytává z různorodých skupin něco, ale ze žádné skupiny nezachytí vše (např. při studiu kvasinek a plísní, mykobiomu, ve střevním traktu nezachytíme pouze tyto mikroorganismy, ale v mnohem vyšším záchytu i sekvence DNA z potravy, kterou daný jedinec požil). Některé z uvedených genů mají navíc variabilní délku, což může sekvenaci komplikovat.

Stejně jako u bakterií existuje u kvasinek a plísní vysoká variabilita v počtu kopií těchto genů, takže vyhodnocení četnosti zástupců mikrobiomu má svá omezení.

3.7 Studium virů za pomoci sekvenčních přístupů

Studium viromu, tedy všech virů ve vzorku, je nejsložitější metodická disciplína ze všech. Vzhledem k absenci jakékoli konzervované oblasti je nemožné analyzovat všechny viry najednou, vždy je potřeba definovat podskupinu zájmu (DNA viry, RNA viry apod.) (Smith, et al., 2022). Velkým problémem je i nedostatek virové nukleové kyseliny ve vzorku. Metodika pro stanovení jednotlivých skupin virů se velmi liší a nelze popsat obecný postup, nicméně často se využívá ultracentrifugace, při které se vzorek zbaví větších celků, jako jsou bakterie, buňky hostitele apod., následuje odstranění volné DNA/RNA, izolace zbývajících

DNA nebo RNA a její pomnožení pomocí nespecifické PCR. Posledním krokem je sekvenace. Celý proces je velmi náročný a náchylný na chyby, proto viromových studií vzniká oproti bakteriálním pouze zlomek.

3.8 Studium funkce mikrobiomu

Sekvenační metody umožňují přesně identifikovat jednotlivé mikroorganismy tvořící mikrobiom a popsat jejich vlastnosti. Přestože tyto otázky jsou důležité a často zásadní, například nález konkrétní patogenní bakterie v mikrobiomu pacienta, mají i svá omezení, pokud nám jde o pochopení funkce mikrobiomu. Sekvenace DNA umožní sestavit seznam mikroorganismů ve vzorku a v určitých případech odhadnout to, které z nich jsou více nebo méně zastoupeny. Umožňuje také rozkrýt funkční potenciál – identifikovat geny s určitou funkcí, například gen pro rezistenci k antibiotiku. Nicméně sekvenace DNA neříká mnoho o tom, jak mikrobiom skutečně funguje, které mikroorganismy jsou aktivní a které nejsou. A u těch aktivních nevíme, které geny v daném prostředí využívají.

K tomu, abychom se dozvěděli, co se v mikrobiomu právě děje, můžeme využít sekvenace RNA. Molekuly RNA vznikají transkripcí z molekul DNA a konkrétně molekuly mRNA jsou syntetizovány proto, aby podle jejich sekvence vznikly proteiny, jež mikrobiální buňka právě potřebuje. Těmi jsou například enzymy katalyzující biochemické reakce. Sekvenace transkribovaných úseků mRNA, tedy transkriptomu (v případě společného transkriptomu všech složek mikrobiomu hovoříme o metatranskriptomu) nám umožňuje zjistit, které proteiny mikroorganismy potřebují, a odlišit tak aktivní geny od těch aktuálně neaktivních. Získání informací o složení metatranskriptomu – souhrnu všech molekul mRNA v mikrobiomu – je velmi atraktivní způsob, jak zjistit, co se v mikrobiomu právě děje. Počátečním krokem analýzy metatranskriptomu je extrakce molekul RNA z mikrobiomu. Ta je náročnější než extrakce molekul DNA, protože jednořetězcové molekuly RNA jsou daleko méně stabilní než dvojřetězcové molekuly DNA a velmi rychle jsou degradovány molekulami ribonukleáz, kterých je v mikrobiomu mnoho. Extrakce proto musí být co nejrychlejší. Po extrakci RNA je dalším krokem jejich přeměna na molekulu DNA pomocí zpětné transkripce (tedy vytvoření molekuly DNA podle molekuly RNA) a syntéza druhého vlákna DNA. V tomto okamžiku máme vzorek dvojřetězcových molekul DNA, který můžeme sekvenovat metodou WMGS, a výsledek sekvenace nás informuje o zastoupení původních molekul RNA.

Většinu molekul RNA, které extrahujeme ze vzorku mikrobiomu, tvoří molekuly ribozomální RNA, jež nekódují proteiny (viz Slovník pojmů na konci kapitoly). Molekul mRNA, které nám říkají, jaké proteiny jsou syntetizovány, je obvykle jen asi 5 %. Proto přistupujeme často k tomu, že molekuly rRNA před sekvenací odstraníme ze vzorku hybridizací se sondami, jež se vážou na jejich sekvenci. Pokud to uděláme a sekvenujeme pouze „zbylé“ molekuly mRNA, získáváme sekvenci metatranskriptomu celého mikrobiomu. Pokud identifikujeme oblasti jednotlivých genů a najdeme v databázích sekvencí to, jaké funkce kódují, získáme přesný seznam funkcí, které mikroorganismy aktivně využívají. A to nám umožňuje zjistit, co se v mikrobiomu děje – které proteiny jsou syntetizovány a jaké biochemické reakce budou probíhat. Protože transkribované geny v mRNA neobsahují introny (nepřekládaná oblast RNA do proteinu), „vidíme“ stejně dobře geny bakterií i eukaryotních mikroorganismů (kvasinek, plísní, prvoků).

Analýza metatranskriptomu má ale také svoje omezení. Často se stává, že funkce genu, který pozorujeme, není dosud známa a o jeho funkci můžeme jen spekulovat. Navíc

molekuly mRNA mají pouze krátkou životnost, a zachycují tak funkci mikrobiomu pouze v tom krátkém období, kdy byl vzorek odebrán. I když bychom předpokládali, že gen, který v metatranskriptomu pozorujeme vícekrát, je transkribován častěji, a je proto významnější, reálně nevíme, kolik molekul proteinu (enzymu) z konkrétního transkriptu vznikne. Nejlepší obrázek o tom, jaké biochemické reakce a procesy v mikrobiomu probíhají, bychom pravděpodobně získali, pokud bychom byli schopni rozpoznat jednotlivé proteiny, které mikrobiom obsahuje. A protože se jedná o proteiny všech zástupců mikrobiomu, označujeme tento soubor proteinů jako metaproteom.

Pokud bychom mohli popsat složení proteinů v metaproteomu, poznali bychom bezprostřední katalyzátory chemických reakcí a vzhledem k delší životnosti proteinů by vzorek lépe vystihoval dlouhodobé fungování mikrobiomu. Zastoupení proteinů v čase totiž není tak proměnlivé, jako je tomu u molekul RNA. Extrakce proteinů ze vzorků mikrobiomu je technicky dobře zvládnutelná a nemusí představovat velkou výzvu. Bohužel, dodnes nemáme metody, které by umožňovaly sekvenovat celé molekuly proteinů (které tvoří lineární řetězce aminokyselin). Molekuly proteinů jsou příliš rozmanité (obsahují 20 různých aminokyselin) a navíc tvoří komplementární páry jako dvojřetězce DNA nebo DNA/RNA. Z tohoto důvodu podobné přístupy jako při sekvenaci DNA použít nemůžeme.

Naštěstí, v posledních letech došlo významného rozvoje metody hmotnostní spektrometrie, a tak jsme v současné době schopni s jejich pomocí „sekvenovat“ kratší úseky proteinů (peptidy) o délce cca do 20 aminokyselin. Analýza metaproteomu probíhá tak, že jsou proteiny extrahované ze vzorku mikrobiomu nejdříve rozštěpeny na kratší úseky – peptidy – a jejich sekvence jsou potom přečteny pomocí hmotnostního spektrometru. Jednotlivé sekvence peptidů jsou pak vyhledávány v databázích a přiřazovány proteinům, ze kterých vznikly. Bohužel, řada peptidů se stejnou sekvencí se vyskytuje v mnoha různých proteinech a jejich původ nelze jednoznačně určit. A stává se i to, že ani jeden z peptidů vzniklých z hledaného proteinu není unikátní a takovýto protein nelze dohledat. Řada proteinů nicméně v metaproteomu dohledatelná je a metaproteomické analýzy jsou v současnosti limitovány zejména pracností a náklady na sekvenaci. V budoucnosti, až se podaří sekvenovat celé proteiny (nejnovější výsledky naznačují, že to půjde), získá metaproteomika jistě na významu.

O funkci mikrobiomu vypovídá do jisté míry také složení metabolitů, které se ve vzorku mikrobiomu nacházejí. Metabolity jsou jednoduché organické látky, jež jsou produkty metabolických reakcí, a výskyt specifických metabolitů nebo jejich koncentrace naznačují, jaké metabolické procesy v mikrobiomu probíhají. Některé metabolity mohou být také indikátorem stresu nebo onemocnění. Souhrn všech metabolitů v mikrobiomu – **metametabolom** – je výsledkem biochemických aktivit jednotlivých mikroorganismů, ale na rozdíl od metagenomu, metatranskriptomu a metaproteomu je nemožné zjistit, který konkrétní mikroorganismus se na jejich tvorbě podílí – u většiny metabolitů je jich celá řada. Analýza metametabolomu probíhá ve dvou krocích. V prvním jsou jednotlivé metabolity separovány, například pomocí kapalinové chromatografie, ve druhém je struktura molekuly metabolitu určena pomocí hmotnostní spektrometrie. Pokud se struktura molekuly daného metabolitu vyskytuje v databázi, je konkrétní látka identifikována a je možné uvažovat o tom, jakou roli v prostředí mikrobiomu hraje.

Nejen metody sekvenace DNA, ale všechny metodické přístupy pro studium mikrobiomu prošly v uplynulých letech rychlým vývojem a nové metody stále vznikají. V blízké budoucnosti proto budeme mít k dispozici pravděpodobně daleko přesnější či cenově dostupnější metody k tomu, abychom zjistili, jaké je složení mikrobiomů a jaké jsou jejich funkce.

Slovník pojmů

DNA: deoxyribonukleová kyselina, nositelka genetické informace. Skládá se z řetězce, ve kterém se vyskytují čtyři rozdílné báze/nukleotidy (A – adenin, T – thymín, C – cytosin, G – guanin). DNA má obvykle dvě vlákna, a protože báze jsou komplementární, nukleotid A se vždy páruje s nukleotidem T a nukleotid C se vždy páruje s nukleotidem G. Díky tomuto principu může docházet k replikaci DNA (zdvojení počtu molekul, např. při množení buněk) a transkripci (přepisu) DNA do jednořetězcové ribonukleové kyseliny (RNA), která má však místo nukleotidu T inkorporovaný nukleotid U (uracil). Díky třem základním typům RNA dochází následně k translaci, tedy vytvoření základních stavebních jednotek organismů, proteinů (proteosyntéza).

Typy RNA: rozlišujeme tři základní typy RNA. Mediátorová RNA (mRNA) nese základní informaci o složení budoucího proteinu/polypeptidového řetězce, který je syntetizován na základě informace v ní obsažené – tedy pořadí nukleotidů. Ribozomální RNA (rRNA) se podílí na stavbě ribozomů, komplexů nutných k tvorbě proteinových řetězců (translaci). Posledním typem je transferová RNA (tRNA), která napomáhá syntéze proteinů tím, že připojuje aminokyseliny do rostoucího řetězce proteinu. Tímto způsobem dochází k překladi nukleotidové sekvence do sekvence aminokyselin skládajících protein.

PCR: polymerázová řetězcová reakce je základní technikou molekulární biologie. Dochází při ní ke zmnožení (amplifikaci) vybraného úseku DNA. V podstatě se využívá stejného principu jako při replikaci DNA, tedy párování bází. K PCR jsou zapotřebí primery, což jsou nejčastěji uměle syntetizované krátké oligonukleotidy (cca 15–20 bází dlouhé), jež nasedají na komplementární úsek DNA ve vzorku a ohraničují sekvenci zájmu, čímž umožňují, aby daná PCR mohla proběhnout. Dále jsou potřeba volné nukleotidy, které slouží jako stavební jednotky pro vznikající řetězec DNA. Poslední zásadní složkou PCR je polymeráza, enzym umožňující vznik replik/amplikonů žádané sekvence DNA. V průběhu reakce PCR se v každém cyklu syntézy úseku DNA počet molekul zdvojnásobí, a tak zanedlouho vznikne z jedné kopie úseku DNA mnoho stejných kopií.

Literatura

- Durazzi F, Sala C, Castellani G, et al. Comparison between 16S rRNA and shotgun sequencing data for the taxonomic characterization of the gut microbiota. *Sci Rep.* 2021;11(1):3030. doi: 10.1038/s41598-021-82726-y.
- Eisenhofer R, Nesme J, Santos-Bay L, et al. A comparison of short-read, HiFi long-read, and hybrid strategies for genome-resolved metagenomics. *Microbiol Spectr.* 2024;12(4):e0359023. doi: 10.1128/spectrum.03590-23.
- Gao B, Chi L, Zhu Y, et al. An introduction to next generation sequencing bioinformatic analysis in gut microbiome studies. *Biomolecules.* 2021;11(4):530. doi: 10.3390/biom11040530.
- Smith SE, Huang W, Tiamani K, et al. Emerging technologies in the study of the virome. *Curr Opin Virol.* 2022;54:101231. doi: 10.1016/j.coviro.2022.101231.
- Vídeňská P, Šmerková K, Zwinsová B, et al. Stool sampling and DNA isolation kits affect DNA quality and bacterial composition following 16S rRNA gene sequencing using MiSeq Illumina platform. *Sci Rep.* 2019;9(1):13837. doi: 10.1038/s41598-019-49520-3.
- Xu W, Wu C, Pei Y, et al. Characterization of shallow whole-metagenome shotgun sequencing as a high-accuracy and low-cost method by complicated mock microbiomes. *Front Microbiol.* 2021;12:678319. doi: 10.3389/fmicb.2021.678319.

4 Mikrobiom a bioinformatika

Dagmar Schierová

Souhrn

- Bioinformatika je vyvíjející se obor, který se zabývá analýzou biologických, především pak molekulárněbiologických dat.
- Zkušený bioinformatik je schopný pracovat na vzdálených serverech, používá UNIX, umí programovat v řadě různých jazyků jako Python nebo R a přispívá do veřejných repozitářů dat.
- Bioinformatická analýza zahrnuje tři základní kroky: příjem a kontrolu kvality dat, analýzu dat a generaci výsledků potřebných k zodpovězení biologických hypotéz.
- Metagenomická analýza, funkční predikce a komparativní genomika dají bioinformatikovi odpovědi na otázky týkající se taxonomického složení a diverzity (komunit) mikroorganismů, dále pak jejich vlastností a vztahů, stejně tak jako jejich příbuznosti.
- Nejnovější trendy, jako je jednobuněčné sekvenování, slibují výrazné zlepšení přesnosti, rychlosti a hloubky studia mikrobiomu.

Úvod

Bioinformatika je obor zabývající se analýzou biologických dat. V dnešní době se jedná především o tzv. omicsová data, která zahrnují genomiku, metagenomiku, transkriptomiku, proteomiku, metabolomiku apod. S pomocí bioinformatiky můžeme analyzovat toto obrovské množství dat generovaných moderními (zejména sekvenačními) technologiemi, což nám v mikrobiologii poskytuje hlubší vhled do složitých mikrobiálních ekosystémů. V této kapitole zjistíme, jak získat přesný odhad taxonomického složení, jak vytvořit funkční predikce, koukneme se na komparativní genomiku a vyzkoušíme si konstrukci fylogenetických stromů.

4.1 Základy bioinformatiky

Bioinformatika je vědní obor, který využívá výpočetní techniky k analýze a interpretaci molekulárněbiologických dat. Její důležitost pro biologický výzkum spočívá v její schopnosti integrovat data z různých zdrojů a aplikovat je na komplexní biologické otázky. Bioinformatika je multidisciplinární oblast, která kombinuje prvky biologie, informatiky, matematiky a statistiky.

Představte si Janu, zkušenou bioinformatičku pracující v předním výzkumném institutu zabývajícím se studiem mikrobiomu. Janiným nejdůležitějším nástrojem je počítač. Potřebuje ho na práci s daty a vysedává u něj celé dny. Nicméně klasický stolní počítač často k vyhodnocování tak velkých objemů dat s velkými nároky na procesor a operační paměť

nestačí, a proto potřebuje svoji práci přesunout na servery s větším výpočetním výkonem, které jí práci usnadní.

Jana umí pracovat s unixovými systémy, jež jsou preferovaným prostředím mnoha bioinformatických nástrojů a výpočetních serverů. Dokáže také programovat a skriptovat v jazycích vhodných pro bioinformatickou analýzu, jako jsou například Python a R. Tyto jazyky jí umožňují vytvářet vlastní analytické nástroje a provádět statistické analýzy. Skriptování navíc usnadňuje Janě automatizaci opakujících se úkolů a manipulaci s daty.

V rámci své práce Jana pravidelně využívá různé databáze k analýze molekulárních dat, které jí poskytují klíčové informace potřebné pro identifikaci a klasifikaci mikroorganismů, stejně jako pro predikci jejich funkcí. Jana také přispívá k reprodukovatelnému výzkumu tím, že nahrává data do veřejných repozitářů. Tímto způsobem umožňuje dalším vědcům přístup k datům a jejich opakovanou analýzu, což posiluje vědeckou komunitu a podporuje transparentnost a ověřitelnost výzkumu.

4.2 Práce bioinformatika v analýze mikrobiomových dat

Co se týče bioinformatické analýzy v kontextu mikrobiomu, chce Jana většinou odpověď na alespoň jednu z následujících otázek: jaké organismy ve vzorku jsou, kolik jich tam je, jaké mají mezi sebou vztahy, jaké jsou jejich vlastnosti nebo jak jsou si příbuzné.

Proces bioinformatické analýzy (tj. odpovědi na výše zmíněné otázky), který Jana provádí, se skládá ze tří hlavních kroků: příjem a kontrola kvality dat, analýza dat a interpretace výsledků potřebných k zodpovězení biologických hypotéz.

Janina práce začíná tím, že dostane ze sekvenačního centra surová data, která obsahují obrovské množství písmen symbolizujících jednotlivé nukleotidy (A, T, G, C) a znaky určující jejich kvalitu. Jana nejprve provede kontrolu kvality těchto dat, odstraní sekvence s nízkou kvalitou a další artefakty, jež by mohly ovlivnit následnou analýzu.

Jana dále provádí analýzu sekvencí. Data zpracovává a analyzuje pomocí různých bioinformatických nástrojů, které identifikují mikroorganismy, jejich příbuznost, abundanci a funkci. Konkrétní příklady, jak Jana analyzuje sekvence, uvádíme v následující podkapitole.

Nakonec provádí Jana bioinformatickou interpretaci výsledků. Tento proces je interaktivní, Jana konzultuje průběžné výsledky s kolegy biology, aby ověřila, zdali byly nalezeny odpovědi na položené otázky. Pokud jsou výsledky neuspokojivé nebo pokud analýza odhalí problémy s kvalitou dat, může být nutné opakování experimentu, upravení experimentálních postupů či přehodnocení stanovených hypotéz. Jana tak hraje klíčovou roli v zajištění přesnosti a spolehlivosti biologických výzkumů, což přispívá k důležitým objevům v oblasti studia mikrobiomu.

4.3 Praktické příklady

Metagenomická analýza: Metagenomická analýza umožňuje Janě a jejím kolegům studium genetického materiálu přímo z environmentálních vzorků, díky čemuž mohou identifikovat a charakterizovat mikrobiální komunity bez nutnosti kultivace jednotlivých druhů. Jana ví, že určení jednotlivých organismů závisí na zvolené metodě. Pokud byla použita metoda amplikonového sekvenování, má k dispozici informace pouze o jednom genu, který je však

velmi dobře popsán v dostupných databázích. Klasifikaci provede tak, že sekvence poskládá do ampliconových sekvenčních variant (ASV) a porovná je se sekvencemi v databázi, čímž na základě podobnosti určí, o jaké taxony se jedná. Pokud Jana pracuje s daty z celogenomového sekvenování, přistoupí k sestavení genomu *de novo* na základě překryvu jednotlivých sekvencí. Aby získala informaci o taxonomickém složení, musí nejprve spojit sekvence do contigů. Contig je souvislá sekvence DNA, která je vytvořena spojením kratších sekvencí na základě jejich překryvů. Contigům pak přiřadí geny a porovná je se známými sekvencemi v databázi, aby určila jejich taxonomii. Kromě taxonomického zařazení organismů může Jana (bez ohledu na výše zmíněný typ dat) také vypočítat celkovou rozmanitost neboli diverzitu vzorku. Zjistí tak, jak druhově bohatý daný vzorek je (alfa diverzita) nebo jak jsou si navzájem dva vzorky druhově podobné (beta diverzita). Tento proces umožňuje získat komplexní pohled na mikrobiální ekosystém a jeho složení, což je klíčové pro pochopení role mikroorganismů v různých prostředích.

Funkční predikce: Jana dále provádí funkční analýzu, při níž identifikuje specifické geny nebo dráhy zapojené do metabolismu, virulence či jiných procesů. To jí pomáhá identifikovat interakce mezi různými mikrobiálními druhy nebo geny v rámci mikrobiální komunity. Díky této komplexní analýze Jana přispívá k lepšímu pochopení mikrobiálních ekosystémů a jejich vlivu na prostředí a zdraví.

Komparativní genomika: Jana porovnává genomy různých mikroorganismů, což jí umožňuje identifikovat genové rodiny, které jsou konzervovány mezi druhy, a pochopit jejich evoluční historii. Tento proces zahrnuje analýzu homologních sekvencí, rekonstrukci fylogenetických stromů a hledání znaků pozitivní selekce.

Janina práce na těchto praktických příkladech ukazuje, jak mohou být bioinformatické metody a nástroje aplikovány k řešení konkrétních vědeckých otázek týkajících se mikrobiomu.

4.4 Výzvy a budoucí směry v bioinformatice a studiu mikrobiomu

Bioinformatika zahrnuje několik technických a metodologických výzev, kterým Jana jako bioinformatička pravidelně čelí. Jednou z hlavních výzev je kvalita dat, protože platí pravidlo „trash in, trash out“ – kvalita vstupních dat určuje kvalitu výstupních analýz. Jana se také musí vypořádat s výzvami spojenými s databázemi a predikovanými genomy, protože spolehlivost databází a přesnost predikovaných genomů mohou výrazně ovlivnit výsledky analýz (Chorlton, 2024). Klasifikátory jsou rovněž kritické a Jana musí pečlivě vybírat vhodné klasifikační algoritmy, které jsou klíčové pro přesnou taxonomickou identifikaci (Ye, et al., 2019).

Bioinformatika je poměrně mladý obor, jenž se rychle vyvíjí. To znamená, že zatím neexistují jasná pravidla a konsenzusy v analýze a formátu dat. Například různé laboratoře mohou používat odlišné formáty a metodiky a to může komplikovat srovnání a reprodukovatelnost výsledků. Jana často naráží na problémy s kompatibilitou dat mezi různými softwary a databázemi, což vyžaduje neustálé přizpůsobování a aktualizaci jejích analytických nástrojů. Nicméně, s postupem času dochází ke sjednocování těchto standardů. Například iniciativy jako Genomic Standards Consortium usilují o vytvoření jednotných formátů a protokolů (Bowers, et al., 2017), které usnadní sdílení a interpretaci dat.

Budoucí trendy a inovace v bioinformatice slibují výrazné zlepšení způsobu, jakým Jana a její kolegové studují mikrobiom. Vývoj nových metod pro analýzu dat z jednobuněčného

sekvenování může přinést nové poznatky o mikrobiálních komunitách na úrovni jednotlivých buněk, což Janě a jejím kolegům mikrobiologům umožní podrobněji zkoumat mikrobiální ekosystémy (Zheng, et al., 2022). Integrace omických dat, tedy kombinace dat genomických, transkriptomických, proteomických a metabolomických, zase poskytne Janě a jejímu týmu komplexnější pohled na fungování mikrobiální komunity. Umělá inteligence a strojové učení mají potenciál výrazně zlepšit analýzu a interpretaci mikrobiálních dat, což Janě umožní hlubší porozumění složitým mikrobiálním ekosystémům a jejich vlivu na různá prostředí. Tyto technologické a metodologické inovace budou hrát klíčovou roli v budoucím výzkumu mikrobiomu a mohou přinést zásadní průlomy v našem chápání mikrobiálního světa.

Slovník pojmů

Amplikonová sekvenční varianta (ASV): jedinečná sekvence DNA získaná z amplikonového sekvenování, která reprezentuje jednotlivý taxon. Je výsledkem odstranění chybných sekvencí, které vzniknou v průběhu PCR amplifikace a sekvenování.

Taxon: označuje skupinu organismů, které jsou klasifikovány na základě společných charakteristik a genetické podobnosti. V metagenomických studiích se taxony používají k identifikaci a klasifikaci mikroorganismů přítomných ve vzorku, což umožňuje vědcům určit složení mikrobiálních komunit a jejich diverzitu. Taxonomická klasifikace může být prováděna na různých úrovních, od druhu až po vyšší taxonomické kategorie, jako jsou rody, čeledi nebo řády, v závislosti na úrovni detailu a dostupných genetických dat.

Fylogenetický strom: diagram ukazující evoluční vztahy mezi různými organismy, v němž každý uzel představuje společného předka a větve vedou k jednotlivým druhům nebo skupinám organismů. Nejprve se genetické sekvence od různých organismů zarovnají, aby se identifikovaly podobnosti a rozdíly mezi sekvencemi. Na základě zarovnání se vypočítají vzdálenosti mezi každým párem sekvencí. Poté se použije algoritmus, který z matice vzdáleností vytvoří fylogenetický strom, umísťující organismy podle jejich evolučních vztahů. Konečný strom ukazuje, jak jsou organismy příbuzné, přičemž kratší větve znamenají bližší evoluční vztah.

Literatura

- Bowers RM, Kyrpides NC, Stepanauskas R, et al. Minimum information about a single amplified genome (MISAG) and a meta-genome-assembled genome (MIMAG) of bacteria and archaea. *Nat Biotechnol.* 2017;35(8):725–731. doi: 10.1038/nbt.3893.
- Chorlton SD. Ten common issues with reference sequence databases and how to mitigate them. *Front Bioinform.* 2024;4:1278228. doi: 10.3389/fbinf.2024.1278228.
- Ye SH, Siddle KJ, Park DJ, Sabeti PC. Benchmarking metagenomics tools for taxonomic classification. *Cell.* 2019;178(4):779–794. doi: 10.1016/j.cell.2019.07.010.
- Zheng W, Zhao S, Yin Y, et al. High-throughput, single-microbe genomics with strain resolution, applied to a human gut microbiome. *Science.* 2022;376(6597):eabm1483. doi: 10.1126/science.abm1483.

5 Gnotobiologie jako metoda analýzy účinků mikrobioty

Tomáš Hrnčíř

Souhrn

- Gnotobiologie je fascinující vědní obor, který studuje živé organismy v prostředí s přesně definovanou mikrobiotou.
- Tento obor nám umožňuje pochopit roli mikrobioty v patogenезi onemocnění a odhalit mechanismy jejich vzniku.
- Tyto nové poznatky nám umožňují zlepšit diagnostiku onemocnění, lépe definovat preventivní opatření a rozšířit terapeutické možnosti.
- Gnotobiologie je multidisciplinární obor, který čerpá z poznatků mnoha vědních oborů, zejména mikrobiologie, ekologie, imunologie, systémové biologie, bioinformatiky a dalších.

Úvod

Gnotobiologie je vědní obor, který studuje interakce mezi živými organismy a jejich mikrobiotou. Iméno je odvozeno ze starověké řečtiny a vzniklo spojením slov „gnotos“ (známý) a „bios“ (život). Jedná se o obor multidisciplinární, jenž integruje poznatky mnoha vědních oborů, zejména mikrobiologie, ekologie, imunologie, systémové biologie, bioinformatiky, výpočetní biologie, systémové medicíny, environmentálních věd a evoluční biologie. Dnes je známo, že mikrobiom hraje důležitou úlohu v mnoha aspektech lidského zdraví. Významně ovlivňuje vývoj a funkci imunitního systému, metabolismus, ale i funkci nervového systému. Je pozoruhodné, že i neživé části mikroorganismů, jako je například lipopolysacharid, jsou nezbytné pro správný vývoj imunitního systému (Hrnčíř, et al., 2008).

Narušení rovnováhy mikrobiálních komunit, tedy dysbióza, může mít za následek rozvoj zánětu na kůži či sliznicích, vznik alergií či autoimunitních onemocnění, nádorů, poruch metabolismu či neurodegenerativních onemocnění. Střevní dysbióza může být způsobena nevhodným složením potravin a nápojů, kontaminací potravy xenobiotiky, jako jsou například hormony, pesticidy, herbicidy, těžké kovy nebo mikroplasty, léky a mnoha dalšími faktory. Kožní dysbióza může být způsobena aplikací nekvalitních kosmetických přípravků, „léčivých“ mastí s antibiotiky či kortikoidy, expozicí UV záření, hormonální dysbalancí, ale kupříkladu i zánětlivými onemocněními kůže, jako je lupus či revmatoidní artritida.

Gnotobiologie nám nabízí jedinečné nástroje, které umožňují studovat komplexní interakce mezi mikrobiomem a hostitelským organismem a postupně objasňovat mechanismy, jimiž mikrobiom ovlivňuje zdraví. Hlavním nástrojem gnotobiologie jsou bezmikrobní a gnotobiotická zvířata, tedy zvířata prostá mikroorganismů a zvířata osazená známými mikroorganismy. Díky těmto modelům můžeme studovat vliv jednotlivých mikroorganismů, směsí mikroorganismů nebo celých společenství na fyziologické a patologické procesy. Gnotobiologické experimenty nám tak umožňují odhalovat příčinné souvislosti a testovat hypotézy o úloze mikrobioty ve zdraví a nemoci.

Rozvoj gnotobiologie je úzce spjat se vznikem nových technologií a postupů. Sekvenování nové generace nám umožnilo analyzovat složení a funkci mikrobiomu, rozvoj metabolomiky doplnil informace o produkční aktivitě mikrobiomu, dále se objevily možnosti editovat mikrobiální genom, dochází k rozvoji dalších omických technologií a bioinformatiky. Integrace všech těchto metod a postupů s gnotobiotickými nástroji, jako jsou například modely různých lidských onemocnění, přináší nebývalé možnosti studia interakcí mikrobiomu s hostitelem. Objevy získané díky rozvoji gnotobiologie mají značný aplikační potenciál v medicíně. Manipulace mikrobioty nám umožní rozvoj nových diagnostických metod, preventivních opatření a léčebných strategií. Dobrým příkladem jsou probiotika, prebiotika, transplantace fekální mikrobioty (FMT) či genetické manipulace mikroorganismů. Detailní informace o mikrobiomu a jeho interakcích s hostitelem umožní rozvoj personalizované medicíny.

Tato kapitola by měla poskytnout základní přehled o gnotobiologii. Stručně zmíníme její historii, metodické postupy, její klíčovou roli ve studiu různých onemocnění, nastíníme základní mechanismy, kterými mikrobiom působí na hostitele, a na závěr zmíníme také budoucí směry výzkumu, včetně využití gnotobiologických modelů pro vývoj nových terapií a preventivních strategií.

5.1 Historie gnotobiologie

Historie gnotobiologie začíná v 19. století, kdy průkopníci vědy jako Louis Pasteur a Robert Koch učinili přelomové objevy v oblasti mikrobiologie. Jejich práce vedla k pochopení úlohy mikroorganismů v životních procesech a při vzniku nemocí. Na tyto objevy navázaly důležité experimenty George Nuttalla a Hanse Thierfeldera (Nuttall, 1897), kterým se podařilo na svém pracovišti v Berlíně odchovat první bezmikrobní morčata. Tím dokázali, že přítomnost mikroorganismů není nezbytná pro život, jak se dříve domnívali někteří vědci, včetně Pasteura (Pasteur, 1885).

K významnému rozvoji gnotobiologie došlo ve 40. letech 20. století, kdy James Reyniers z University of Notre Dame v Indianě zdokonalil metody pro získávání a odchov bezmikrobních zvířat. Zásadní se ukázala jeho spolupráce s Philipem C. Trexlerem, který byl nejen biologem, ale především nadaným inženýrem v oblasti vývoje a výroby plastů. Trexlerovo vzdělání, získané na Purdue University, a jeho zkušenosti mu umožnily navrhnout a vyvinout unikátní izolátory vyrobené z flexibilního plastu, které nahradily dříve používané nerezové izolátory. Tyto izolátory, nyní známé jako Trexlerovy, byly jednoduché na výrobu, praktické a cenově dostupné. Rychle se staly standardem v gnotobiologickém výzkumu a umožnily rychlý rozvoj tohoto oboru.

V 50. letech minulého století se gnotobiologie začala rozvíjet i v tehdejší Československu. V roce 1954 bylo v Novém Hrádku pod vedením profesora Jaroslava Šterzla založeno první gnotobiologické pracoviště ve střední Evropě. Zde se podařilo odchovat první bezmikrobní selata v Evropě a brzy následoval úspěšný odchov dalších živočišných druhů, jako jsou králíci, potkani a myši. Pracoviště se stalo jedním z nejvýznamnějších gnotobiologických center ve světě. Byly zde studovány základní aspekty vztahu mikrobiomu a imunitního systému a vyvinuty originální metody pro chov bezmikrobních zvířat. Pracoviště je stále aktivní a úspěšně pokračuje ve výzkumu mikrobiomu. V roce 2024 oslaví již 70 let své existence.

Od 60. let 20. století dochází k integraci gnotobiologie s dalšími vědními obory, zejména s imunologií. Pokrok v molekulárněbiologických metodách v 70. a 80. letech umožnil

