

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-
TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘŠKÁ PRÁCE

2022

KATEŘINA UTTENDORFSKÁ

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Escherichia coli Nissle 1917
Bakalářská práce

2022

KATEŘINA UTTENDORFSKÁ

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Kateřina Uttendorfská**
Osobní číslo: **C19306**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: ***E. coli* Nissle 1917**
Téma práce anglicky: ***E. coli* Nissle 1917**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

Zpracujte literární rešerši na dané téma bakalářské práce. V rešerši se zaměřte na:

1. Charakteristiku probiotik
2. Střevní mikroflóru a metody detekce
3. Všeobecné informace o *E. coli*, včetně průkazu, vlastností a onemocnění, které je schopna vyvolat
4. Probiotické kmeny *E. coli*
5. Využití *E. coli* Nissle 1917

Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 7/2019 ve znění dodatku č. 2 „Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací“.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Iveta Brožková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2021**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlášení autora

Prohlašuji: Práci s názvem *Escherichia coli* Nissle 1917 jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 1.7.2022

Kateřina Uttendorfská v.r.

Poděkování

Děkuji paní Ing. Ivetě Brožkové, PhD. za pomoc při vedení bakalářské práce, ochotu a cenné rady. Dále bych chtěla poděkovat své rodině, za jejich trpělivost a shovívavost.

Anotace

Bakalářská práce se zabývá probiotickým kmenem *Escherichie coli* Nissle 1917, jeho vlastnostmi, působení na patogenní mikroorganismy a na samostatný organismus. Kmen se využívá k výrobě probiotik. Probiotika jsou obecně známé farmaceutické přípravky, které zlepšují stav střevní mikroflóry, popřípadě zabraňují infekcím způsobených patogenními mikroorganismy.

Klíčová slova

Probiotika, střevní mikroflóra, *Escherichie coli*, *Escherichie coli* Nissle 1917, mutaflo, diagnostika.

Annotation

The bachelor thesis deal with the probiotic strain *Escherichie coli* Nissle 1917, its properties, action on pathogenic microorganisms and on organism. This strain is used for synthesis of probiotics. Probiotics are generally known pharmaceutical preparations which improve the condition of the intestinal microbiom or prevent infections caused by pathogenic microorganisms.

Keywords

Probiotics, intestinal microbiom, *Escherichie coli*, *Escherichie coli* Nissle 1917, mutaflo, diagnostics.

Obsah

Úvod.....	10
1. Probiotika.....	11
1.1. Historie probiotik.....	11
1.2. Definice probiotik.....	11
1.3. Mechanismus účinku probiotik.....	12
1.4. Účinnost probiotik.....	13
1.5. Bezpečnost při léčbě probiotiky.....	14
1.6. Používané mikroorganismy.....	14
1.6.1. Bakterie mléčného kvašení (laktobacily).....	14
1.6.2. Bifidobakterie.....	14
1.6.3. Enterobakterie.....	15
1.6.4. Kvasinky.....	15
2. Střevní mikroflóra.....	16
2.1. Střevní mikroflóra.....	16
2.2. Mikroflóra trávicího traktu po narození.....	16
2.3. Mikroflóra trávicího traktu v dospělosti.....	17
2.4. Funkce střevní mikroflóry.....	17
2.5. Mikrobiální bariéra.....	17
2.5.1. Bránění růstu nebo usmrcení cizích mikroorganismů.....	17
2.5.2. Změna pH.....	18
2.6. Metody detekce střevní mikroflóry.....	18
2.6.1. Kultivace.....	18
2.6.2. Moderní techniky v detekci mikroorganismů.....	18
2.6.2.1. Molekulární techniky.....	18
2.6.2.2. Imunochemické metody.....	19
2.6.2.3. MALDI-TOF MS.....	19

2.6.2.4. Whole-genome sequencing (WGS).....	20
3. <i>Escherichia coli</i>	21
3.1. Obecná charakteristika <i>E. coli</i>	21
3.1.1. Vlastnosti.....	21
3.2. Antigenní struktura	23
3.3. Prospěšné <i>E. coli</i>	24
3.4. Patogenní <i>E. coli</i>	24
3.4.1. Enterotoxigenní <i>E. coli</i> (ETEC).....	25
3.4.2. Enterohemoragická <i>E. coli</i> (EHEC).....	25
3.4.3. Enteropatogenní <i>E. coli</i> (EPEC).....	25
3.4.4. Enteroinvazivní <i>E. coli</i> (EIEC)	26
3.4.5. Uropatogenní <i>E. coli</i> (UPEC).....	26
3.5. Diagnostika <i>E. coli</i>	26
4. Probiotické <i>E. coli</i>	29
5. <i>Escherichia coli</i> Nissle 1917	30
5.1. Mutaflor	30
5.2. Účinek na organismus.....	32
5.3. Colinfant New Born.....	35
5.4. Symbioflor 2	36
5.5. Působení na mikroorganismy.....	36
5.5.1. Lidský β -defensin 2.....	37
5.5.2. Mikrocinny	38
5.5.3. Koliciny.....	38
6. Závěr.....	39
Seznam literatury	40
Seznam zdrojů použitých obrázků.....	52
Seznam zdrojů tabulek.....	54

Seznam zkratek

AMK	aminokyselina
ATB	antibiotika
a_w	vodní aktivita
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CFA	antigeny kolonizačních faktorů (z angl. Colonization-factor antigens)
CFU	jednotka tvořící kolonie (z angl. Colony forming units)
cGMP	cyklický guanosinmonofosfát
DNA	deoxyribonukleová kyseliny
dsDNA	dvouvláknová DNA (z angl. Double-stranded DNA)
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EcN	<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917
eDNA	extracelulární deoxyribonukleová kyselina
EHEC	enterohemoragická <i>E. coli</i>
EIEC	enteroinvazivní <i>E. coli</i>
ELISA	enzyme - linked immuno sorbent assay
EPEC	enteropatogenní <i>E. coli</i>
ETEC	enterotoxická <i>E. coli</i>
GIT	gastrointestinální trakt
HBD 2	lidský β -defensin 2 (z angl. Human beta-defensin 2)
IBD	idiopatický střevní zánět (z angl. Inflammatory Bowel Disease)
IBS	syndrom dráždivého tračníku (z angl. Irritable Bowel Syndrom)
IFN- γ	interferon gama
IgA, IgG	imunoglobuliny třídy A, G
IL-2, 10	interleukin 2 a 10
kDA	kilodalton
LPS	lipopolysacharid
MALDI-TOF MS	hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpčí/ ionizací za účasti matrix s detektorem doby letu (z angl. Matrix assisted laser desorption/ionization, time-of-flight mass spectrometry)
MK	mastná kyselina
MO	mikroorganismus
mRNA	mediátorová ribonukleová kyselina
PCR	polymerázová řetězová reakce (z angl. Polymerase chain reaction)
pMUT	kryptický plazmid
ssDNA	jednovláknová DNA (z angl. Single-stranded DNA)
TNF- α	tumor nekrotizující faktor alfa
UC	ulcerózní kolitida
UPEC	uropatogenní <i>E. coli</i>
VT 1, 2	verotoxin 1, 2
WGS	sekvenování celého genomu (z angl. Whole-genome sequencing)
ZO-1 a ZO-2	zonula occludens

Úvod

Bakterie rodu *Escherichia coli* patří mezi čeleď *Enterobacteriaceae*, která je běžnou součástí střevní mikroflóry. Za běžných okolností se jedná o prospěšnou mikroflóru ve střevech, ale pokud dojde k proniknutí patogenní *Escherichia coli* do střeva, dochází k produkci toxinů a jiných neprospěšných látek pro střevo, což může vést k rozvoji nebezpečného onemocnění.

Podáním probiotik, které obsahují prospěšné bakterii, může dojít k redukci patogenních mikroorganismů způsobující střevní onemocnění a nastavení rovnováhy střevní mikroflóry, popřípadě remise choroby. Běžnými kmeny využívanými k výrobě probiotik jsou *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces*, *Enterococcus* a velice zajímavý probiotický kmen *Escherichia coli* Nissle 1917.

Probiotický kmen *Escherichia coli* Nissle 1917 je hojně využíván k léčbě různých infekčních průjmů ulcerózní kolitidy, nadýmání, průjmů, zácpy, plynatosti, ale také ke zlepšení obranyschopnosti. Ve formě farmaceutických přípravků (tobolky Mutaflor) se podává perorálně.

1. Probiotika

1.1. Historie probiotik

I.I. Mečnikov v roce 1907 publikoval práci, kde se zabýval možnostmi léčby probiotiky. Přišel na to, že konzumace fermentovaných mléčných výrobků vede k prodloužení života a zlepšení zdravotního stavu (Reque a Brandelli, 2022).

Ilja Iljič Mečnikov byl ruský vědec, jehož zaujala skutečnost, že délka života obyvatel Bulharska a těch, kteří pocházeli z Kavkazského regionu, byla delší než u ostatních lidí. Jeho teorie se opírala o to, že dlouhověkost bulharských obyvatel je způsobena konzumací jogurtů a zakysaných výrobků. Přišel na to, že tyto mléčné výrobky obsahují bakterie mléčného kvašení, které se pozitivně podílejí na fungování lidského organismu (Elmer a kol., 2007).

Významný badatel u problematiky mikroflóry trávicího traktu byl Alfred Nissle. v roce 1916 publikoval práci, které vedla k patentování nepatogenního probiotického kmene *Escherichia coli*. o rok později v roce 1917 začala farmaceutická firma G. Pohl Schönbaum v Gdaňsku vyrábět a prodávat kapsle pod názvem Mutaflor (Zhao a kol., 2022).

Termín probiotika poprvé použili Lilly a Stillwell v roce 1965. Označili tak látku produkovanou jedním prvokem, která stimulovala růst dalšího prvoka. Později tento termín našel užití pro krmné a potravinové doplňky určené pro výživu hospodářských zvířat a lidí. Pojem zahrnoval živé kultury bakterií, mikrobiální metabolity, enzymy, aminokyseliny apod., které pozitivně ovlivňují mikroflóru trávicího traktu. Definice zahrnovala i antibiotika, avšak slovo probiotikum má význam „pro život“ a jedná se o pravý opak významu slova antibiotikum (Gasbarrini a kol., 2016; Dastoor a kol., 2018).

1.2. Definice probiotik

Probiotika jsou živé mikrobiální doplňky stravy, které pozitivně ovlivňují mikrobiální rovnováhu trávicího traktu a působí ve prospěch hostitele. Mezi nejčastěji studované rody patří *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Escherichia* a *Enterococcus* (Swanson a kol., 2020; Wilkins a Sequoia, 2017).

Mechanismus účinku probiotik je velmi složitý a pravděpodobně se liší podle toho, jaký druh mikroorganismu probiotikum obsahuje. (Wilkins a Sequoia, 2017).

1.3. Mechanismus účinku probiotik

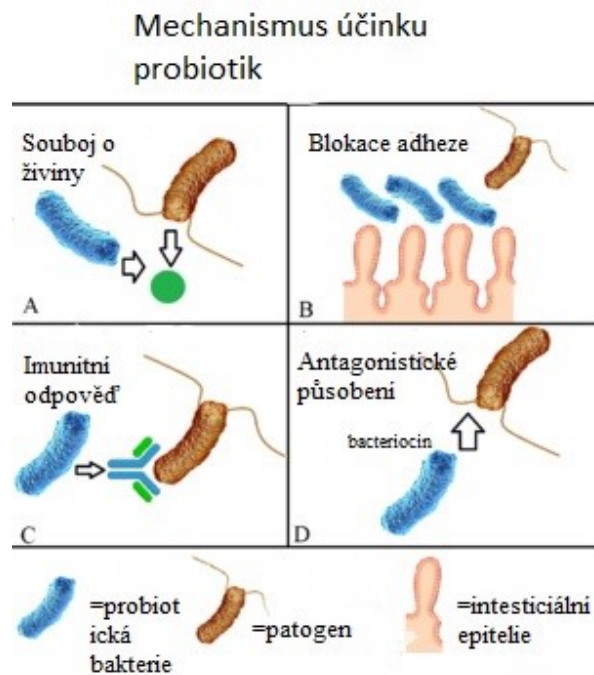
Probiotika mají velmi důležitou roli v udržování imunologické rovnováhy v gastrointestinálním traktu vlivem interakce s imunitními buňkami (Żółkiewicz a kol., 2020; Isolauri a kol., 2001). Rovnováha je udržována prostřednictvím různých mechanismů, včetně snížení pH střev, snížení kolonizace a invaze patogenních organismů a modifikace imunitní odpovědi hostiteli (Williams, 2010).

Lactocaseibacillus rhamnosus kmen GG prokázal příznivé účinky na střevní imunitu, protože dokáže zvyšovat počet buněk vylučujících IgA protilátky a další imunoglobuliny ve střevní sliznici. Kromě toho stimuluje lokální uvolňování interferonů a usnadňuje transport antigenů do základních lymfoidních buněk, což slouží ke zvýšení vylučování antigenů v Peyerových plátech (Gupta a Garg, 2009).

Tenké střevo je často napadeno velkým množstvím antigenů. Antigeny jsou přítomné v každé potravě, která projde gastrointestinálním traktem. Většina antigenů je vyloučena správně fungující střevní sliznicí. Antigeny z potravy jsou absorbovány přes epitelální vrstvu transcytózou a dále dochází k hlavní degradaci, což zahrnuje lysozomální zpracování antigenu. Druhá eliminační linie je zaměřená na odstranění antigenů, které pronikly sliznicí. Jedná se o menší cestu, která umožňuje transport nezpracovaných antigenů pomocí Peyerových plátů, které jsou pokryty M-buňkami. Antigeny jsou prezentovány T-buňkám, a ty se diferencují na různé efektorové buňky zprostředkovávající aktivní imunitní supresi, čímž podporují diferenciaci B buněk sekretujících IgA protilátky (Halloran a Underwood, 2019; Plaza-Diaz a kol., 2019; Isolauri a kol., 2001).

Podáním probiotika obsahující druh *Lactocaseibacillus casei* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dochází k produkci makrofágů (Isolauri a kol., 2001).

Mechanismus působení může být pomocí blokování adheze patogenního mikroorganismu na intersticiální epitelie a produkce inhibitorů, zvýšení imunitní odpovědi, udržování normálních hladin mastných kyselin s krátkými řetězci, modulace funkce imunitního systému jako je potlačení střevních protizánětlivých cytokinů, spravení střevní propustnosti, potlačení růstu patogenních bakterií přímou vazbou na gramnegativní bakterie, regulace střevní absorpci elektrolytů, jak ukazuje obrázek č.1 (Jones a kol., 2008; Paredes a kol., 1999).



Obr. č. 1.: Mechanismus účinku probiotik (Bermudez-Brito a kol., 2012).

1.4. Účinnost probiotik

Účinnost probiotik je druhově a dávkově specifická pro každé onemocnění. Délka léčby probiotiky závisí na klinické indikaci (Wilkins a Sequoia, 2017). Aby se dosáhlo potřebné koncentrace mikroorganismů ve střevě, koncentrace je požadována v rozmezí více jak 10^6 gramů v tenkém střevě a 10^8 gramů v tlustém střevě, je potřeba, aby denzita probiotických bakterií v přípravcích byla alespoň 10^{10} (Špelina a Winklerová, 2009).

Průzkumy ukázaly, že probiotika jsou vysoce prospěšná u střevních onemocnění, která způsobil rod *Clostridioides difficile* a dalších onemocnění, např. jaterní encefalopatie, ulcerózní kolitidy, syndromu dráždivého tračníku, funkčních gastrointestinálních poruch a nekrotizující enterokolitidy (Jakubczyk a kol., 2020; Wilkins a Sequoia, 2017).

Probiotika nejsou účinná u akutní pankreatitidy a Crohnovy choroby (Kim a kol., 2019; Wilkins a Sequoia, 2017).

Probiotika dokáží být účinná u dětí a dospělých se syndromem dráždivého tračníku a u dětí s funkčními bolestmi břicha. Dávkování probiotik by měl pacient zvážit při objevení příznaků a v případě přetrvávajících příznaků by měl pokračovat podle potřeby. Studie Wilkinse a Sequoie zjistila, že probiotika u lidí trpících IBS významně zlepšila příznaky. Analýza zabývající se dětmi s IBS a funkčními bolestmi

břicha zjistila, že probiotika zvýšila pravděpodobnost úspěchu léčby ve srovnání s placebem a snížila intenzitu bolesti břicha (Wilkins a Sequoia, 2017).

U kojenců probiotika výrazně snižují riziko nekrotizující enterokolitidy a mortalitu. Terapie probiotiky by měla být zahájena u osob ohrožených enterokolitidou a měla by pokračovat tak dlouho, dokud zvýšené riziko přetrvává (Halloran a Underwood, 2019; Wilkins a Sequoia 2017; Zeng a kol., 2021).

1.5. Bezpečnost při léčbě probiotiky

Probiotika jsou obecně považována za bezpečná, ale u imunokompromitovaných osob může docházet k rozvoji nežádoucích účinků, např. septickému stavu. Dlouhodobé účinky probiotik jsou z velké části neznámé, ale nejsou doposud zjištěny nepříznivé účinky probiotik na pacienty (Sanders a kol., 2010; Wilkins a Sequoia, 2017).

1.6. Používané mikroorganismy

1.6.1. Bakterie mléčného kvašení (laktobacily)

Laktobacily jsou řazeny mezi nejdůležitější součásti probiotik, protože se běžně vyskytují ve fermentovaných výrobcích. Laktobacily jsou z mikrobiologického hlediska grampozitivní bakterie a jejich nejdůležitější funkcí je produkce kyseliny mléčné, která vzniká rozkladem jednoduchých cukrů. Využívají se v potravinářství k výrobě sýrů a jogurtů (Fijan, 2015).

U lidí se fyziologicky laktobacily vyskytují v dutině ústní, střevním traktu a vagíně (Elmer a kol., 2007).

Mezi nejvíce používané druhy patří *Lactocaseibacillus rhamnosus GG*, označení GG nese, protože ho objevil doktor Sherwood Gorbach a doktor Barry Goldin, *Limosilactobacillus reuteri* může být izolován z mnoha potravin, jeho hlavním mechanismem obrany proti patogenním bakteriím je produkce několika druhů metabolitů, dále *Lactobacillus acidophilus* a *Lacticaseibacillus casei* (Castro-González a kol., 2019).

1.6.2. Bifidobakterie

Bifidobakterie jsou běžnou součástí střevního traktu kojenců vlivem konzumace mateřského mléka. Vyskytují se v mateřském mléku, ale také ve fermentovaných mléčných výrobcích. Jedná se o anaerobní mikroorganismy produkující kyselinu mléčnou a kyselinu octovou (Konieczna a kol., 2012).

1.6.3. Enterobakterie

Nejvíce používaný je kmen *Enterococcus faecium* SF68, ostatní kmeny jsou patogenní (Elmer a kol., 2007).

1.6.4. Kvasinky

Druh *Saccharomyces boulardii* je nejpoužívanější druh kvasinky k výrobě probiotik. K tomu, aby probiotikum vyrobené z tohoto mikroorganismu správně fungovalo, musí být podáváno denně (Elmer a kol., 2007).

Saccharomyces boulardii produkuje proteolytické enzymy, které zabraňují fungování toxinů produkovanými patogeny, zejména *Clostridioides difficile*. (Pais a kol., 2020).

2. Střevní mikroflóra

2.1. Střevní mikroflóra

Největší podíl mikroorganismů v lidském organismu se nachází v tlustém střevě. Odhaduje se, že tlusté střevo dospělého člověka obsahuje více jak 10^{14} bakterií a asi 500 druhů. Jedná se o bakterie, které mají funkci při zpracování potravy v GIT, při udržování homeostázy organismu hostitele a ochraně proti patogenům (Sender a kol., 2016).

Střevní mikroflóra obsahuje dostatečné množství probiotických bakterií, přičemž největší výskyt je ve střevech kojenců s převahou laktobacilů a s nastupujícím věkem počet mikroorganismů klesá (Thursby a Juge, 2017).

Osídlení sterilního tlustého střeva mikroorganismy probíhá již po narození orální cestou, přičemž hlavním zdrojem osídlení je mateřský organismus (Kasper, 2015).

2.2. Mikroflóra trávicího traktu po narození

Osídlování organismu mikroorganismy probíhá ihned po narození dítěte, a to orální cestou, kdy je přes dutinu ústní osídlován žaludek a poté střeva. Hlavním zdrojem mikroorganismů je kožní, ústní a vaginální mikroflóra matky. V kojeneckém období se střevní mikroflóra dítěte odvíjí od konzumace mateřského mléka s převahou bifidobakterií (Thursby a Juge, 2017).

První mikroorganismy osidlující trakt novorozence jsou laktobacily, a to převážně u dětí narozených klasickou cestou, jelikož vaginální flóra obsahuje vysoké množství těchto mikroorganismů. u miminek narozených císařským řezem je potvrzena přítomnost převážně anaerobních bakterií rodu *Clostridium* (Buzinschi, 2018; Fanaro a kol., 2003).

Okolo druhého roku dítěte, dochází k rozvoji střevní mikroflóry, až je téměř totožná se střevní mikroflórou dospělého člověka. Nedochozí téměř k žádnému osídlování střevní flóry laktobacily, ale bakteriemi jako *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* (Fanaro a kol., 2003; Thursby a Juge, 2017).

2.3. Mikroflóra trávicího traktu v dospělosti

Z 96-99 % se jedná o mikroorganismy anaerobní, které v dospělosti osídlují střevní trakt. Hlavním mechanismem udržení stability tlustého střeva jsou bakterie osidlující hlen, který pokrývá sliznici, odkud bakterie přestupují do střevního obsahu (Derrien a kol., 2019; Kasper 2015).

Během stárnutí dochází ke změně mikroorganismů v tlustém střevě a především tak, že dochází k poklesu bifidobakterií, a naopak se zvyšuje procento gram pozitivních anaerobních mikroorganismů. Zvýšený počet těchto bakterií má za následek vyšší produkci sirovodíku a dochází k poklesu tvorby MK s krátkým řetězcem (Thursby a Juge, 2017)

Celkově se mění kvalita slizničního hlenu střeva, a tudíž se snižuje mikrobiální bariéra, které zabraňuje invazi patogenních MO a působení toxinů (Kastl a kol., 2019).

2.4. Funkce střevní mikroflóry

Mikroorganismy přítomné ve střevním traktu se podílejí na tvorbě mikrobiální bariéry, která působí proti patogenům a podmíněným patogenům. Jsou schopni produkovat látky, které mají vliv na prokrvení a motilitu střeva. Dokáží stimulovat střevní imunitní systém a produkují vitamíny (Valdes a kol., 2018).

Další ochranou před působením patogenních mikroorganismů je tvorba mastných kyselin s krátkým řetězcem, které vznikají rozkladem sacharidů a snižují tak pH, což zabraňuje osídlování patogenními mikroorganismy (Thursby a Juge, 2017; Kasper 2015).

2.5. Mikrobiální bariéra

Hlavním úkolem mikrobiální bariéry střeva je zabránění působení a navázání patogenních mikroorganismů, což má za následek porušení homeostázy (Ghosh a kol., 2021; Soderholm a Pedicord, 2019).

Zabránění působení a navázání patogenních mikroorganismů je zajišťována následujícími mechanismy jako je bránění růstu nebo usmrcení cizích mikroorganismů, změnou pH (Soderholm a Pedicord, 2019).

2.5.1. Bránění růstu nebo usmrcení cizích mikroorganismů

Mikroorganismy vyskytující se v našem organismu fyziologicky produkují bakteriostatické a baktericidní látky, jako jsou např. volné MK s krátkým řetězcem (acetát, butyrát) a antibiotické látky (Soderholm a Pedicord, 2019).

2.5.2. Změna pH

Vlivem přeměny glycidů a vznikem volných MK s krátkým řetězcem dochází ke snížení pH. Volné MK vznikající ve střevech jsou propionová, máselná, mléčná a octová (Ghosh a kol., 2021).

2.6. Metody detekce střevní mikroflóry

Diagnostika průjmového onemocnění je velmi rozsáhlé stanovení, jelikož průjmové onemocnění člověka může způsobovat jak bakteriální, virové, parazitární agens, ale také toxiny obsažené v potravě. Při diagnostice je důležité brát v potaz anamnézu, kde se pacient před dostavením příznaků průjmu nacházel, co jedl, jaké bral léky a jeho celkový stav (Wu a kol., 2019).

2.6.1. Kultivace

Ke stanovení bakterií střevní mikroflóry se využívá kultivace na ztužených umělých živných půdách. Vzorek stolice nebo vzorek na vatovém tampónu se očkuje na selektivně-diagnostické půdy, které jsou specifické pro různé druhy střevních mikroorganismů, po kultivaci se suspektní kolonie očkují na neselektivní kultivační média, ze kterých se dělají potvrzující testy pro taxonomickou identifikaci hledaných patogenních mikroorganismů (Lagier a kol., 2015). Jako neselektivní kultivační média se používají většinou krevní agary nebo živný agar č. 2, kde vyrostou všechny bakterie přítomné ve vzorku, jelikož neobsahují inhibitory, které by potlačovaly růst ostatních bakterií. Selektivní kultivační půdy obsahují inhibitory, které potlačují růst nežádoucích mikroorganismů, jako MacConkey agar, XLD agar, DC agar, Endova půda (Murthy, 2021; Lagier a kol., 2015).

2.6.2. Moderní techniky v detekci mikroorganismů

2.6.2.1. Molekulární techniky

U molekulární identifikace se využívá DNA/RNA patogenního mikroorganismu způsobující infekci. Metodou, která se využívá je PCR, tzv. polymerázová řetězová reakce v reálném čase, která přišla do povědomí mnohých vlivem pandemie Covid-19 (Santhanam a kol., 2020).

Mourand a kolektiv využili metodu PCR ke stanovení vlivu probiotického kmene *E. coli* Nissle 1917 na *E. coli*, které produkují beta-laktamázu ve střevech prasat. PCR

metoda byla využita ke zjištění vylučování probiotického kmene ze vzorku trusu (Mourand a kol., 2021).

Výhodou molekulárních metod k detekci střevních patogenů je rychlost, možnost provedení identifikace více patogenů a vysoká citlivost metody. Nevýhodou molekulárních technik je vysoká pořizovací cena kitů a přístrojů, ale nevýhody stále nepřevyšují výhody těchto metod (Amjad, 2020).

Technika PCR byla vynalezena Kary Mullis v roce 1983 a v dnešní době je to metoda využívaná téměř ve všech laboratořích na celém světě. Metoda dokáže přesně a pečlivě určit nukleové kyseliny sledovaného mikroorganismu. Je běžnou výbavou v mikrobiologických laboratořích, kde se stanovují různé skupiny patogenních organismů, včetně virů (Shafeeq, 2021). Stanovení trvá zhruba 2-3 hodiny (Abbas, 2018).

Modifikace metody PCR je RealTime PCR, kde je zaznamenáván cyklus v reálném čase. Záznam amplifikace je založen na kontinuálním měření fluorescence. Využívají se sondy, které váží specificky nebo nespecificky amplifikované DNA (Kadri, 2020; Blum-Oehler a kol., 2003).

2.6.2.2. Imunochemické metody

Vedle molekulárních metod, existují imunochemické testy, které fungují na principu reakce protilátky a antigenu, které jsou značené většinou enzymem (ELISA). Bez imunochemických metod nejsme schopni určit sérotyp bakterie. ELISA metoda je podobně stejně zdlouhavá jako PCR metoda. Aby došlo ke zkrácení času metody, vědci vynalezli metodu p-ELISA, tzv. papírová ELISA. Studie Pang a kol. (2018) (Vývoj levné papírové ELISA metody pro rychlou detekci *Escherichia coli* O157:H7) potvrdila účinnost metody na detekci *E. coli* O157:H7 z potravin (Pang a kol., 2018).

2.6.2.3. MALDI-TOF MS

Hmotnostní spektrometr s laserovou desorpcí/ionizací za pomoci matrice je přístroj, který umožňuje v klinických provozech rychlé a přesné určení bakterií. Identifikace je založena na charakteristickém spektru každého druhu a poté je porovnávána s databází přístroje. Největší výhodou přístroje MALDI-TOF MS k identifikaci je úspora času, jelikož klasickou metodou identifikace se výsledek zjistí v rozmezí 24-48 hodin (Hou a kol., 2019).

Matrix v MALDI-TOF MS absorbuje energii z ultrafialových laserů a vytváří ionty z velkých molekul. Dochází ke krystalizaci vzorku s matricí, dále je desorbován a ionizován UV laserem. Iontové molekuly, včetně mikrobiálních peptidů jsou urychlovány v elektrickém poli a zanášeny do analyzátoru TOF (time-of-flight), kde jsou odděleny v souladu s hmotnostním spektrem (Patel, 2019; Torres-Sangiao a kol., 2021).

Kyselina α -kyano-4-hydroxyskořicová (HCCA) a kyselina 2,5-dihydroxybenzoová jsou matrice pro identifikaci v MALDI-TOF MS. Vzorky pro analýzu na MALDI-TOF MS jsou vyrostlé kolonie na živných půdách (Hou a kol., 2019). Paauw a kolektiv využili přístroje MALDI-TOF MS k rozeznání bakterie *E. coli* od bakterie rodu *Shigella*, kdy 94,4 % izolátů bylo rozeznáno správně (Paauw a kol., 2015).

2.6.2.4. Whole-genome sequencing (WGS)

Whole-genome sequencing je metoda, díky které se dá lépe porozumět virulenčním genům patogenních *E. coli*, ale také genomové sekvenci nepatogenních *E. coli* (Tetzschner Malberg a kol., 2020).

Seco a Fernández (2022) napsali studii týkající se využití bakteriální konjugace v kombinaci s genomovým inženýrstvím za cílem vzniku modifikovaných EcN, aniž by došlo ke genetické změně. Využitím metody WGS podložili předpoklady, že nedojde ke změně v genetickém uspořádání u modifikovaných EcN (Seco a Fernández, 2022).

3. *Escherichia coli*

3.1. Obecná charakteristika *E. coli*

Bakterie rodu *E. coli* byla objevena v roce 1885 doktorem Theodorem von Escherichiem, při jeho práci zabývající se bakteriemi nacházející se v kojenecké stolici. Po objevení *E. coli* rakouským lékařem se stala velmi oblíbeným mikroorganismem mezi bakteriology. Z historie je známa díky tomu, že byla a je velmi často používána z důvodu její nenáročnosti na vnější podmínky. Na této bakterii byla prokázána bakteriální konjugace a replikace DNA, kromě tohoto objevu byl genetický materiál *E. coli* využit k dalším laboratorním testům, což vedlo ke vzniku rekombinantních vakcín (Denamur a kol., 2020; Mare a kol., 2021).

Mikroorganismus může způsobovat řadu onemocnění, začínající průjmem, pokračující hemoragickou kolitidou a může způsobit až septické stavy (Mueller a Tainter, 2022; Bell a Kyriakides, 1998).

V dnešní době je bakterie rodu *E. coli* považována za ukazatele hygieny v potravinářství, její přítomnost ve vodách ukazuje na fekální znečištění vody (Jang a kol., 2017).

E. coli jsou řazeny s dalšími rody bakterií, jejichž místo výskytu je nejčastěji střevo, do čeledi *Enterobacteriaceae* (Baldelli a kol., 2021). Z morfologického hlediska jsou bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae* gramnegativní tyčinky nevytvářející spory. Délka tyčinek se pohybuje v rozmezí od 2 do 3 μm a šířka od 0,5 do 0,8 μm . Obecně jsou považovány pod mikroskopem jako velmi podobné bakterie s ostatními gramnegativními rody i mimo čeleď *Enterobacteriaceae*. *E. coli* je řazena mezi pohyblivé bakterie (Nakamura, 2019; Shiomi a kol., 2009).

Escherichia coli roste a rozmnožuje se velmi rychle, pokud má optimální podmínky, je schopna se replikovat do 20 minut (Jang a kol., 2017).

3.1.1. Vlastnosti

Teplota je důležitý faktor ovlivňující růst a rozmnožování všech živých organismů, včetně bakterie *E. coli*. Teplota optimální pro růst *E. coli* v hostitelském organismu se pohybuje v rozmezí od 36 do 40°C. Avšak vyšší teploty snáší mikroorganismus hůře než nižší, tudíž nižší teploty jsou pro *E. coli* vhodnější a vydrží v těchto teplotách delší dobu než v teplotě vyšší. (Jang a kol., 2017).

Vodní aktivita se označuje se jako a_w , přičemž vodní aktivita vody se rovná jedné. Vodní aktivita je důležitým ukazatelem řídicí schopnost rozmnožování bakterie.

Pokud je vodní aktivita velmi nízká, dochází k vysychání mikroorganismu, což vede k zabránění rozmnožování a dojde k usmrcení bakterie, malá hodnota vodní aktivity může být způsobena osmoticky aktivními látkami, jako je cukr a sůl. Naopak vyšší vodní aktivita může způsobit situaci, kdy buňka nemá možnost přijímání kyslíku a dochází k usmrcení buňky (Tapia a kol., 2020; Jang a kol., 2017).

Escherichia coli jsou pohyblivé fakultativně anaerobní mikroorganismy. Dokáží rozkládat glukózu a redukovat dusičnany na dusitany (Oliveira a Reygaert, 2019).

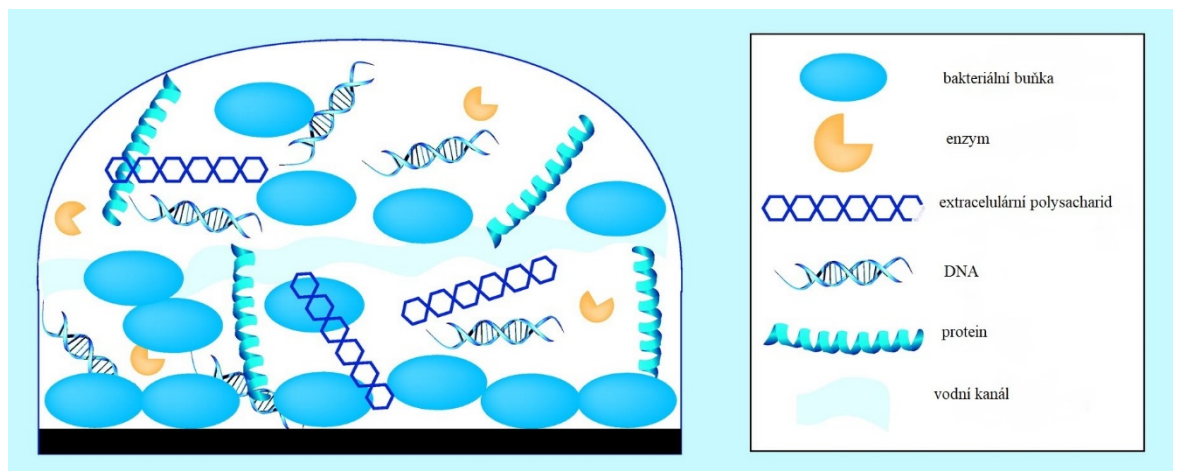
Bakterie rodu *E. coli*, jak již bylo zmíněno, není náročná na podmínky pro svůj růst. Živiny, které jsou důležité pro jejich správné fungování se myslí glukóza, uhlík, dusík, fosfor, těchto živin je ve střevním traktu hostitele velmi početné množství. Tudíž pokud dojde k situaci, že bakterie nemá dostatek živin, je velmi flexibilní a všestranná v získávání energie, protože dokáže rozkládat různé druhy uhlíkatých sloučenin, včetně aromatických látek. Díky těmto vlastnostem a schopnostem se přizpůsobit prostředí, dochází k tomu, že se bakterie stává velmi odolná (Jang a kol., 2017).

Kmen *E. coli* O157:H7 má lepší schopnost přežít v prostředí s nižším pH než ostatní kmeny (Jang a kol., 2017). Bakterie rodu *E. coli* dokáže ovlivňovat výskyt ostatních MO různými mechanismy, jako je např. soutěž o živiny s ostatními mikroorganismy (Jang a kol., 2017).

Biofilm je seskupení mikroorganismů, jež jsou schopny se přichytit na povrch, což vede ke vzniku perzistence bakteriálních infekcí. Pokud dojde k seskupení bakterií do biofilmu, jejich rezistence vůči ATB značně stoupá ve srovnání se samostatnou bakteriální buňkou, složení biofilmu zobrazuje obrázek č. 2 (Pu a kol., 2020; Rabin a kol., 2015). Strukturně se skládá z extracelulárního polysacharidu, eDNA (extracelulární) a proteinů. Kanálky, jež jsou v biofilmu, též přítomné mají funkci přenosu vody, vzduchu a živin do ostatních částí biofilmu (Emmanuel a kol., 2019; Rabin a kol., 2015). Přejít do formy biofilmu je děj u bakterií velmi běžný, existuje několik důvodů, proč dochází k jeho tvorbě. Bakterie reagují na nevhodné vnější podmínky přechodem ze samostatné bakteriální buňky do seskupení MO a tím zvýší svoji schopnost přežití. Také jsou odolné vůči fyzikálním vnějším vlivům, jako je smytí proudem vody či krví, pokud vytvoří biofil na tkáni. Díky struktuře biofilmu a přítomnosti extracelulárního polysacharidu jsou buňky odolnější vůči antimikrobiálním činidlům. Další důležitou schopností biofilmu je koncentrace buněk

na povrchu, což umožňuje jednotlivým buňkám v prostředí biofilm výměnu eDNA, přesněji plazmidů, pomocí konjugace, které jsou nositelé genetické informace ohledně rezistence vůči ATB (Rabin a kol., 2015).

Bakterie rodu *E. coli* jsou schopny tvorby biofilmu, a to převážně ve vodním prostředí, vytváří sedimenty a tím zvyšují jejich perzistenci. Výskyt biofilmů tvořené *E. coli* ve vodním prostředí, jako je potrubí, je nebezpečný z toho důvodu, že samostatné bakteriální buňky jsou schopny se přenášet na místa, kam by se dostat neměla a zkoumaná voda nejeví známky fekálního znečištění (Jang a kol., 2017).



Obr. č. 2.: Struktura biofilmu (Dawson a kol., 2012).

3.2. Antigenní struktura

Antigenní vlastnosti *Escherichia coli* řadíme dle OHK systému (Liu a kol., 2020; Amézquita-Lopéz a kol., 2018; Kunduru a kol., 2016).

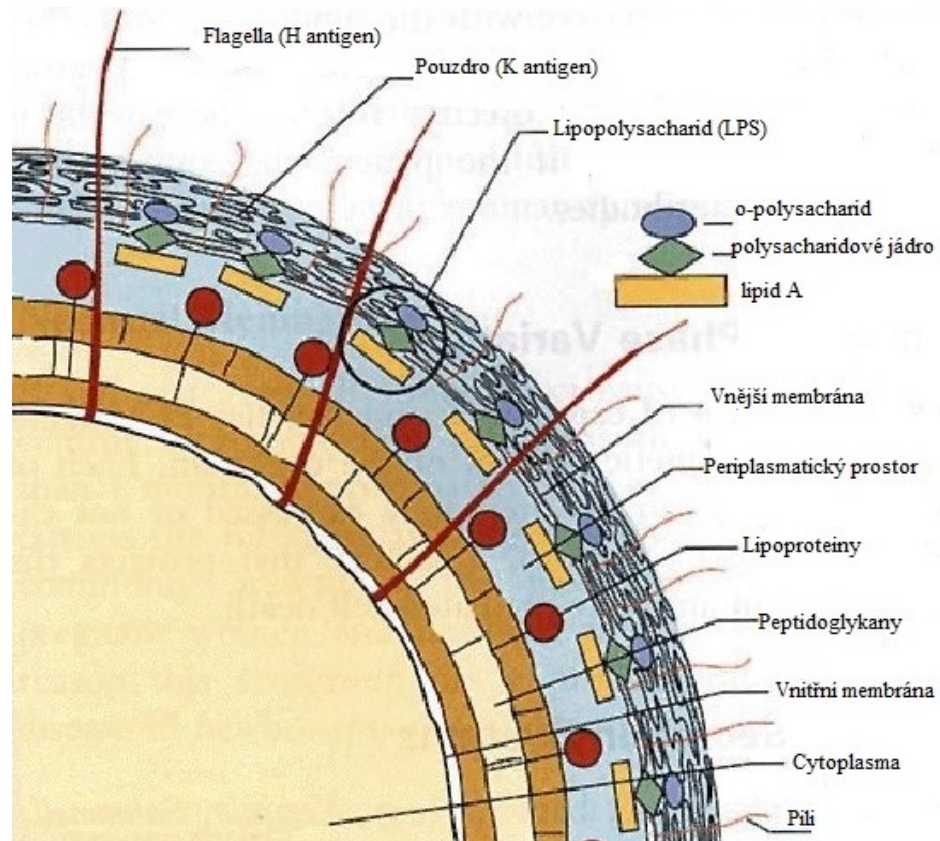
H antigen neboli bičíkový antigen se nachází u pohyblivých bakterií a je tvořen flagelinem. Uvádí se, že *E. coli* obsahuje až 53 H antigenů (Banjo a kol., 2018).

K antigeny (kapsulární antigeny) se vyskytují na povrchu *E. coli*, jedná se převážně o polysacharid, který umožňuje bakterii obranu proti imunitnímu systému hostitelské buňky. Pouzdro pokrývá bakteriální povrch a umožňuje tak uniknout obranným mechanismům imunitního systému hostitele. *Escherichia coli* má zhruba 80 K antigenů, jež mají různé cukerné složky. Vlivem objevení K antigenu a jeho struktury, došlo k zjednodušení syntézy vakcín a léku proti infekcím, jejichž původcem je *E. coli* (Kunduru a kol., 2016).

O antigeny, jedná se o část antigenu, který tvoří celek lipopolysacharidu (LPS), což je hlavní virulenční faktor gramnegativních bakterií. LPS se skládá z lipidu A,

z vnitřního a vnějšího jádra a samotného o antigenu, který vyčnívá do extracelulárního prostoru. Bylo jich objeveno zhruba 180 druhů (Liu a kol., 2020).

Antigenní struktura enterobakterií je vyobrazena na obrázku č. 3.



Obr. č. 3.: Antigenní struktura enterobakterií (Murray a kol., 2005).

3.3. **Prospěšné *E. coli***

E. coli jsou zvláštní svými vlastnostmi a chováním vůči hostitelskému organismu, a to především vůči střevnímu traktu. Existují druhy *E. coli*, jenž nejsou patogenní, naopak jsou prospěšné pro hostitelský organismus. Bakterie rodu *E. coli* ve střevech produkuje koliciny, což je látka, která zabraňuje působení a uchycení patogenních mikroorganismů na střevo hostitele. Kromě této látky, se také bakterie podílejí na tvorbě vitamínu K a B₁₂ (Stromberg a kol., 2018).

3.4. **Patogenní *E. coli***

Mikroorganismus dokáže způsobit řadu onemocnění, pokud je buňka opatřena určitým faktorem virulence, a to platí u *E. coli* především ve střevech, pokud se bakterie dostane mimo střevo, třeba do urogenitálního traktu, stane se patogenem způsobující infekce (extraintestinální patogen) (Sarowska a kol., 2019).

3.4.1. Enterotoxigenní *E. coli* (ETEC)

ETEC jsou příčinou průjmů u dětí, ale i dospělých osob v rozvojových zemích s teplým klimatem. Onemocnění, které enterotoxické *E. coli* způsobují se často nazývají jako cestovatelské průjmy (Duan a kol., 2019).

Hlavním faktorem virulence je produkce toxinů, produkuje dva druhy enterotoxinů, a to tepelně stabilní a tepelně labilní. Bakterie má na povrchu pili, jinak také nazývané colonization-factor antigens (CFA), jimiž se váží na polysacharidové receptory na epitelu tenkého střeva (Bin a kol., 2018).

Tepelně labilní toxin aktivuje adenylátcyklázu, což způsobuje zvýšenou produkci cAMP a to vede k tomu, že dochází k nadměrné sekreci vody a elektrolytů do lumen střeva, což má za následek vodnaté průjmy (Mirhoseini a kol., 2019; Duan a kol., 2019).

Tepelně stabilní toxin aktivuje guanylátcyklázu, což vede ke zvýšené produkci cGMP (Wang a kol., 2019).

3.4.2. Enterohemoragická *E. coli* (EHEC)

E. coli enterohemoragická byla objevena v 80. letech v USA. Jejich patogenita spočívá v produkci cytotoxinu, který se nazývá verotoxin a má podskupiny VT 1 a VT 2, jeho název vychází z toxického působení na Vero buňky. Nese také označení „shiga-like toxin“ *E. coli* (STEC). Infekce způsobené EHEC jsou řazeny mezi ty nejzávažnější a nejběžnějším sérotypem EHEC je O157:H7 (Kim a kol., 2020).

Mikroorganismus je znám svojí virulencí a odolností vůči vnějším podmínkám. Většina infekcí EHEC proběhne jako lehký průjem, ale může se v jistých případech objevit ve stolici krev (Sanchez-Villamil a kol., 2019).

K léčbě se využívají antibiotika ze skupiny chinolonů, jako např. ciprofloxacin, který působí na DNA a zabraňuje produkci toxinů (Mühlen a kol., 2020).

Onemocnění doprovázející infekci EHEC je hemoragický průjem, což je krvavá stolice, později se může rozvinout až do hemolyticko-uremického syndromu, což může vést až k selhání ledvin (Menge, 2020).

3.4.3. Enteropatogenní *E. coli* (EPEC)

Onemocnění způsobené EPEC se vyskytovalo dříve a jednalo se o nejčastějšího původce průjmového onemocnění u novorozenců a malých dětí, ale v dnešní době se průjmové onemocnění způsobené kontaminací EPEC vyskytují velmi málo (Serapio-Palacios a Finlay, 2019).

Mezi nejznámější kmeny EPEC řadíme O55, O111, O126 a O86. Principem patogenity je vazba pomocí specifických adhesinů na buňky tlustého střeva, přičemž do střeva nepronikají, ale jsou schopny vyvolávat změny v buňkách střeva (Mare a kol., 2021).

EPEC jsou podle genomového dělení rozděleny na atypické a typické. Typické kmeny způsobují u lidského hostitele infekční průjmy, faktorem virulence, jež způsobí toto onemocnění je plasmid nesoucí genetickou informaci o vzniku fimbrie typu IV, jež se nazývá bundle-forming pilus. Vedle toho atypická EPEC nemá plasmid, jenž by kódoval vznik virulenčního faktoru (Gomes a kol., 2016).

3.4.4. Enteroinvazivní *E. coli* (EIEC)

EIEC způsobuje onemocnění, které je velmi podobné bacilární úplavici. Infekce může vést ke krvavým průjmům (Belotserkovsky a Sansonetti, 2018).

Patogenita spočívá v invazi do střevních buněk pomocí proteinů, které jsou kódované v plasmidu. Exprese těchto genů vede ke vzniku proteinů vnější membrány, které umožňují invazi EIEC. Jejím dalším mechanismem patogenity je zneužití hostitelských AMK, které bakteriální patogen využije ve svůj prospěch. Nejběžnější EIEC sérotyp je O124 (Van den Beld a kol., 2019; Hendriks a kol., 2020).

3.4.5. Uropatogenní *E. coli* (UPEC)

UPEC jsou nejčastější patogeny, které způsobují urogenitální infekce, pokud se dostanou mimo střevo. Jejich schopnost způsobit tyto infekce je dána přítomností specifických adhezínů, které mají afinitu k epitelíím močových cest (Karam a kol., 2019).

Infekce močových cest způsobená UPEC se může vyskytnout z nedostatečné hygieny, kdy se bakterie běžně vyskytující se ve střevě dostane do močových cest. Velmi častou infekcí je u lidí, jež střídají sexuální partnery a nedodrží pravidla bezpečného sexu (Brannon a kol., 2020).

3.5. Diagnostika *E. coli*

Lze využít antigenní analýzu, většinou se využívá aglutinace na sklíčku. Principem stanovení je reakce antigenu, který je ve vyšetřovaném séru s protilátkou, jež mi přidáváme na sklíčko. Na sklíčko se nanese kapka fyziologického roztoku s kapkou vyšetřovaného séra, promíchá se a poté se přikápnou antisérum, opět se promíchá a aglutinace se projeví zrníčkovým vzhledem. Výsledek by se měl odečítat

pro lepší viditelnost na tmavém pozadí. Lepší metoda ke stanovení *E. coli* je latexová aglutinace, kde latexové částice jsou pokryty protilátkami proti vyšetřovanému antigenu (Dejene a kol., 2022). Assefa a Bihon (2018) využili ke své studii prokazující *Escherichia coli* v potravinách a ve zvířatech v Etiopii metodu latexové aglutinace (Assefa a Bihon, 2018).

Barvení dle Grama je vhodné diagnostické stanovení pro řadu mikroorganismů, avšak na bakterii rodu *E. coli* je zbytečné, protože všechny mikroorganismy z čeledi *Enterobacteriaceae* jsou gramnegativní a jeví se pod mikroskopem stejně (Julák, 2006). Karigoudar a kol. (2019) využili ve své studii Gramovo barvení ke zjištění původce zánětu močových cest u pacientů. Podstatou Gramova barvení je rozdílnost ve složení bakteriální stěny. Rozdělujeme je na grampozitivní a gramnegativní. Grampozitivní bakterie mají bakteriální stěnu složenou ze silnější vrstvy peptidoglykanů a při odbarvení alkoholem nedochází k vyplavení krystalové violeti a jeví se pod mikroskopem jako modrofialové. Gramnegativní mikroorganismy mají tenčí vrstvu peptidoglykanů a obsahují vrstvu lipidů. Při vymývání alkoholem dojde k vytvoření pórů ve stěně a dojde k lepšímu vymytí violeti (Tripathi a Sapra, 2020).

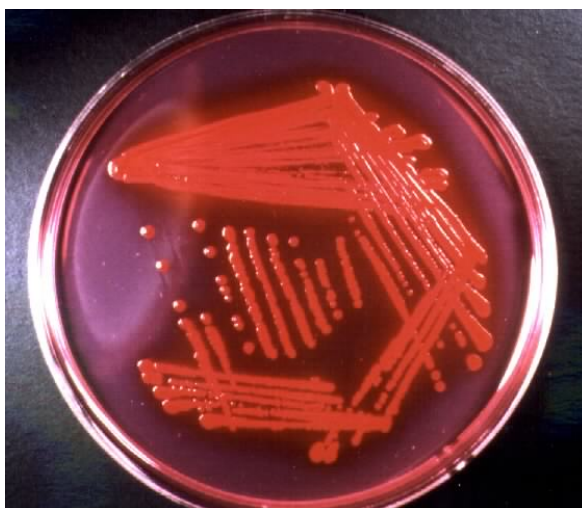
Kultivace mikroorganismů probíhá tzv. „*in vitro*“, což znamená, že můžeme mikroorganismy vypěstovat na umělých živných půdách, ale abychom toho mohli dosáhnout, je potřeba jim zajistit vhodné podmínky pro jejich růst jako je vlhkost, živiny, růstové faktory, teplo, nároky na kyslík, pH, osmotický tlak a sterilita prostředí, aby nedocházelo k přerůstání žádoucích mikroorganismů jinou mikroflórou (Lagier a kol., 2015).

Na obrázku č. 6 a 7 jsou vidět kolonie *E. coli* vyrostlé na krevním agaru a β hemolýza kolem kolonií.

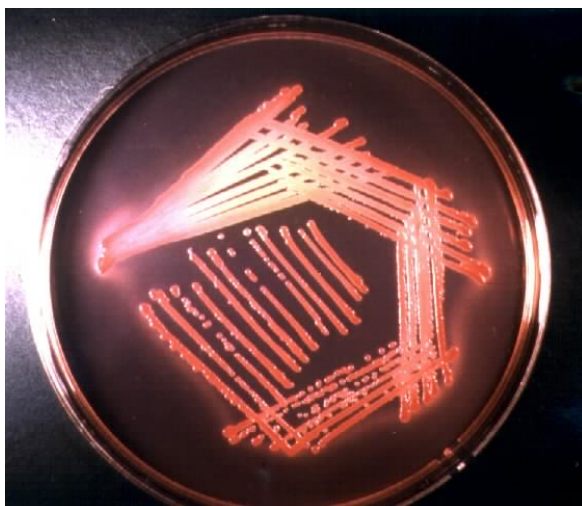
E. coli, vzhledem k tomu, že je gramnegativní bakterie roste na Endově půdě jako laktóza pozitivní bakterie mající kovový lesk, na krevním agaru bude vyrůstat v šedých koloniích se zónou hemolýzy kolem kolonií, jak je vidět na obrázku č. 4 (Schwidder a kol., 2019).

Na McConkeyho agaru vyrůstají bakterie v růžových koloniích, ale je zabarvená i půda kolem kolonií do růžova, jak zobrazuje obrázek č. 5 (Jung a Hoilat, 2021).

Další půdou, která se využívá ke kultivaci bakterií druhu *E. coli* je McConkeyho agar se sorbitolem, což je selektivně-diagnostická půda pro STEC. Tyto kmeny *E. coli* sorbitol nedokáží štěpit (laktóza je nahrazena sorbitolem), a proto vyrůstají na Petriho misce v bezbarvých koloniích (Khusnan a Prihtiyantoro, 2020).



Obr. č. 4.: *E. coli* na Endově pěstě (Skalka, staženo dne 28.6.2022).



Obr. č. 5.: *E. coli* na MacConkeyho agaru (Skalka, staženo dne 28.6.2022).



Obr. č. 6.: *E. coli* na krevním agaru (Skalka, staženo dne 28.6.2022).



Obr. č. 7.: Beta hemolýza na krevním agaru způsobená hemolytickou *E. coli* (Skalka, staženo dne 28.6.2022).

4. Probiotické *E. coli*

Nepatogenní *Escherichia coli* jsou ty kmeny, které se využívají k výrobě probiotik. Jedním ze zástupců probiotických *E. coli* je kmen *E. coli* Nissle 1917 (Mirsepasi-Lauridsen a kol., 2019).

Dalšími probiotickými kmeny jsou *E. coli* s genotypy G3/10, G1/2, G4/9, G5, G6/7 a G8, které jsou součástí probiotického přípravku Symbioflor 2, který je vyráběn firmou SymbioPharm v Německu. Přípravek obsahuje všech šest genotypů *Escherichia coli* a doporučuje se podávat lidem se syndromem dráždivého tračníku u dětí a dospělých (Zschüttig a kol., 2015).

Probiotický přípravek Colinfant New Born vyráběný v České republice, obsahuje lyofilizovaný nepatogenní kmen *E. coli*. Kmen je schopen kolonizace zasaženého střeva patogenními mikroorganismy. Jedná se o *E. coli* sérotyp O83:K24:H31, který neprodukuje do svého okolí enterotoxiny, nemá plazmidy a zabraňuje navázání enteropatogenních kmenů *E. coli* obsazením vazebných míst ve střevě, ale hlavně zvyšuje hladiny protilátek ve střevě a v krevním oběhu (Liška a kol., 2017; Mandal a Misra, 2008).

5. *Escherichia coli* Nissle 1917

E. coli Nissle 1917 je nepatogenní kmen bakterie druhu *Escherichia coli*, který je hojně využíván k výrobě probiotik (Zbořil a kol., 2005). Z názvu vyplývá fakt, že kmen byl nalezen v roce 1917 v oblasti s vysokým výskytem střevních onemocnění. Doktora Alfreda Nissla, který je vyobrazen na obrázku č. 8, jež v oblasti Dobrušky působil, zaujala skutečnost, že voják pohybující se v oblasti s vysokým výskytem střevních onemocnění způsobující bakterií rodu *Shigella*, neprojevuje žádné klinické příznaky (Zhao a kol., 2022).



Obr. č. 8.: Alfred Nissle (Sonnenborn, 2016).

Kmen *Escherichia coli* Nissle 1917 je využit ve formě probiotik k léčbě průjmů, onemocnění trávicího traktu, IBD apod., pod názvem Mutaflor. Nepatogenní kmen *E. coli* Nissle 1917 má antigenní strukturu odpovídající OKH systému, přesněji O6:K5:H1 (Massip a kol., 2019; Yu a kol., 2019).

5.1. Mutaflor

Mutaflor je farmaceutický preparát vyráběný firmou Ardeypharm GmbH, jenž byl ze začátku využíván k léčbě infekčních průjmů. Podává se pacientům s jaterní cirhózou, čímž podle studie došlo ke zlepšení střevního osídlení ve prospěch laktobacilů a bifidobakterií. Probiotikum omezuje produkci endotoxinu, čímž dochází ke zlepšení funkce jater (Pradhan a Weiss, 2020).

Název Mutaflor vznikl z latinské mutare a flora, což vyjadřuje schopnost *EcN* měnit pozitivně střevní mikroflóru (Zbořil a kol., 2005).

Mutalfor od německé společnosti Ardeypharm GmbH obsahuje životaschopné buňky jediného kmene *E. coli* Nissle 1917. Preparát Symbioflor 2 je vyráběn německou firmou SymbioPharm GmbH a obsahuje šest různých genotypů *E. coli*. Poslední vyráběný farmaceutický přípravek Colinfant New Born obsahuje pouze jeden sérotyp *E. coli*, a to sérotyp O83:K24:H31. Tento typ přípravku je vyráběný v České republice a využívá se převážně k léčbě novorozenců a kojenců (Beloysova a kol., 2018; Wassenaar, 2016).

Tabulka č. 1.: Rozdělení probiotických přípravků obsahující *E. coli* (Wassenaar, 2016).

	EcN	Symbioflor 2	Colinfant New Born
Popis	životaschopné buňky <i>E. coli</i>	6 variant genotypu <i>E. coli</i>	jeden kmen <i>E. coli</i>
Produkt	Kapsle Mutaflor	suspenze Symbioflor 2	prášek na přípravu perorálního roztoku
Obsah	2,5-25*10 ⁹ CFU/kapsle	1,5-4,5*10 ⁷ CFU/ml	0,8-1,6*10 ⁸ CFU/dávka
Doporučená denní dávka	1-2 kapsle/den (2,5-50*10 ⁹ CFU)	2-4 ml (3,0-18*10 ⁷ CFU)	0,8-1,6*10 ⁸ CFU třikrát týdně
Maximální dávka	4 kapsle	18*10 ⁷ CFU	není přesně dáno, max. 4 týdny
Datum objevu	1917	1954	není datováno
Sérotyp	O6:K5:H1	O35;O129;O169, všechny H	O83:K24:H31
Plazmid	2 kryptické plazmidy	12 plazmidy	žádné plazmidy
Produkce mikrocinu	mikrocin M, H47	mikrocin S	není známo
Pohyblivost	Pohyblivé - přítomny bičíky	nepohyblivé	není známo
Počet genů	5324 genů	28,180 genů patří do 6486 genových rodin	není známo
Příbuzní jedinci	Uropatogenní <i>E. coli</i>	Komenzál <i>E. coli</i> K12	Uropatogenní <i>E. coli</i>

Mutalfor je ve všech ohledech výhodný pro konzumaci, jelikož jeho genetické vlastnosti znemožňují rezistenci vůči antibiotikům, nemá geny vedoucí ke vzniku

plasmidu, který by byl schopný přenášet cizí a patogenní DNA a neprodukuje do okolí žádné toxiny (cytolysin a hemolysin) (Scaldaferri a kol., 2016).

Kapsle Mutaflor jsou lyofylizované bakterie *E. coli* Nissle 1917, jenž jsou kryty želatinou a látkou skýtající vysokou odolnost vůči střevním šťávám (Zbořil a kol., 2005). EcN kolonizuje střevní sliznici během několika dnů a po podání zůstává až měsíc součástí mikroflóry střev, jejich vzhled je vyobrazen na obrázku č. 9 (Scaldaferri a kol., 2016).

Přípravek Mutaflor (EcN) není výhodný pro léčbu ulcerózní kolitidy (UC). UC může vést ke vzniku kolorektálního karcinomu. Po podání přípravku Mutaflor nedošlo ke snížení rizika vzniku karcinomu (Massip a kol., 2019).

U Crohnovy choroby nedochází ke zlepšení stavu po podání přípravku EcN, jelikož Crohnova choroba souvisí s adherentními invazivními *E. coli* a EcN nemá schopnost soutěžit s invazivními *E. coli*, a tudíž nejsou vhodnými přípravky pro léčbu Crohnovy choroby (Wassenaar, 2016).

U IBD (zánětlivé onemocnění střev) je potvrzeno, že dochází ke zlepšení stavu střeva. Studie z roku 1989 poskytuje data 78 % lidí s IBD, kteří hodnotí léčbu jako účinnou a velmi dobrou. Ke zlepšení zdravotního stavu u pacientů s diagnostikovanou IBD došlo po 10 až 11 týdnech léčby (Zhao a kol., 2022; Wassenaar, 2016).



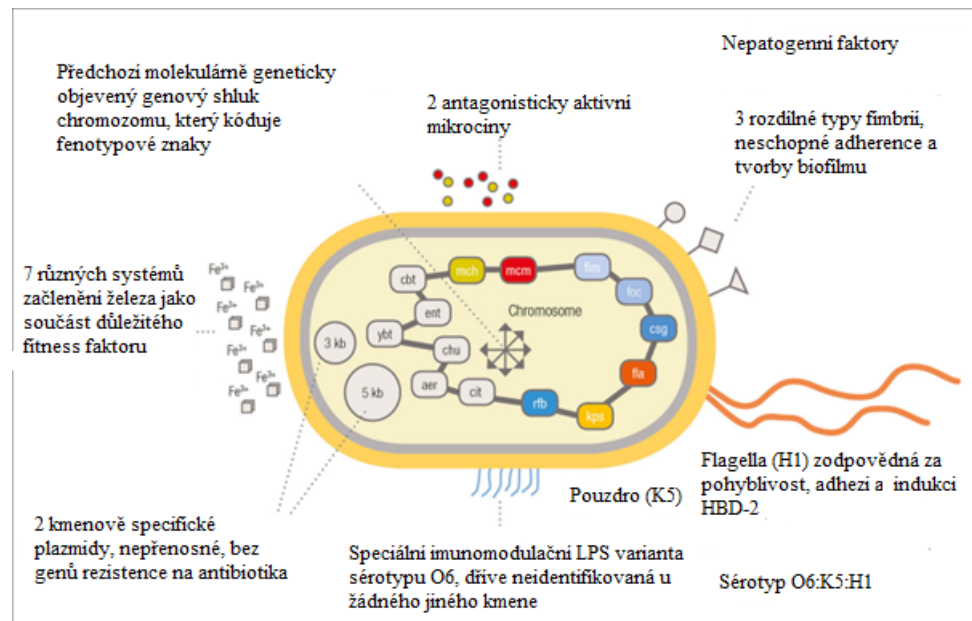
Obr. č. 9.: Probiotický přípravek Mutaflor (Pazdera, 2019).

5.2. Účinek na organismus

E. coli Nissle 1917 pozitivně ovlivňuje střevní mikroflóru posílením slizniční vrstvy ve střevech, případně jejím obnovením prostřednictvím regulace exprese mRNA pro proteiny zonula occludens (tight junction) ZO-1 a ZO-2, díky nimž

dokáže opravit mezery mezi enterocyty a zlepšit funkci střeva (Sonnenborn, 2016; Behrouzi a kol., 2020).

Mechanismus účinku nepatogenního kmene *E. coli* Nissle 1917 je vyobrazen na obrázku č. 10.



Obr. č. 10.: Mechanismus účinku nepatogenní *E. coli* (Mutaflor).

Vedle přímého působení na enterocyty může docházet k modulaci imunitní funkce střev. Probiotický kmen nese na svém povrchu lipopolysacharid, který nevykazuje známky toxicity, na rozdíl od patogenní *E. coli*, a je imunogenní. *E. coli* dokáže regulovat expanzi nově přijatých T-buněk do sliznice, čímž výrazně omezí vznik střevního zánětu. Nedojde tím k ovlivnění již aktivovaných T-buněk vázaných na tkáň a dojde k zachování rovnováhy při zneškodnění cizorodých antigenů (Schröder a kol., 2022; Sonnenborn, 2016).

Escherichia coli Nissle 1917 je schopna snížit sekreci prozánětlivých cytokinů, např. IL-2, TNF- α a IFN- γ a naopak zvýšit sekreci IL-10, což umožňuje probiotiku regulovat protizánětlivou odpověď organismu (Kittana a kol., 2018; Lu a kol., 2020).

Probiotický kmen *Escherichia coli* je schopen kolonizace nejen lidského, ale také krysího a prasečího střeva. Výhody užití *Escherichia coli* Nissle 1917 jsou spojené s tím, že neprodukuje do svého okolí a do hostitele žádné enterotoxiny či jiné toxické látky, které patogenní kmeny *E. coli* běžně produkují (Scaldaferri a kol., 2016). V polovině 80. let 20. století došla společnost vlastníci patent Mutaflor k nálezům genetických vlastností *Escherichia coli* Nissle 1917, což bylo podloženo

molekulárně genetickými analýzami vedoucími k porozumění plazmidové a genomové sekvence (Sonnenborn, 2016).

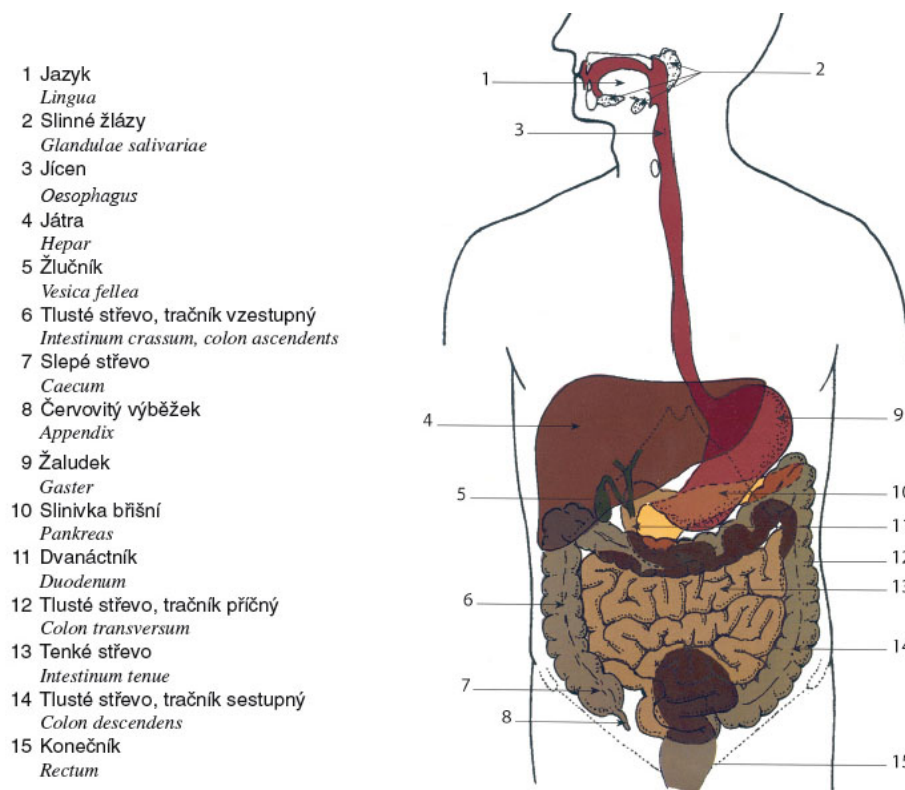
V roce 2014 byla uvedena kompletní genetická sekvence *Escherichia coli* Nissle 1917 a dále identifikovány geny, které kódují vznik produktů, jenž jsou potřebné pro správné probiotické fungování. Velikost genomu *Escherichia coli* Nissle 1917 je 5 441 200 bp a 5324 genů. Patogenita *Escherichia coli* Nissle 1917 je vyloučena přítomností kryptických plazmidů pMUT 1 a pMUT2. Genetickou analýzou se přišlo na to, že jsou stabilní a nejsou schopny přenosu z buňky na buňku (Kan a kol., 2020; Arribas a kol., 2009).

Studie (Hodnocení střevního protizánětlivého účinku *E. coli* Nissle 1917 v TNBS modelu krysí kolitidy) prokázala, že probiotický kmen *Escherichia coli* Nissle 1917 lze využít u střevních potíží spojených s poruchou imunitního systému (Arribas a kol., 2009).

Nejdůležitějším orgánem pro *Escherichia coli* je tlusté střevo. Je součástí trávicí soustavy a skládá se ze slepého střeva (caecum), vzestupného tračníku (colon ascendens), příčného (colon transversum) a sestupného tračníku (colon descendens), který postupně přechází do esovité kličky navazující na konečník (Azzouz a Sharma, 2018).

Hlavní funkcí tlustého střeva je vstřebávání vody, iontů a zahuštění obsahu. Tlusté střevo na rozdíl od tenkého střeva nemá klky. Na povrchu sliznice tlustého střeva se přichycují bakterie jako např. *Escherichia coli*, které zabraňují adhezi patogenních MO a dokáží produkovat látky zabraňující tomuto ději. Bakterie druhu *Escherichia coli* se podílejí na produkci vitamínu K a B₁₂ (Petřek, 2019).

Schéma trávicí soustavy je zobrazeno na obrázku č. 11.



Obr. č. 11.: Schéma trávicí soustavy (Hanzlová a Hemza, 2012).

5.3. Colinfant New Born

Název Colinfant New Born se vyskytl poprvé v roce 1998, kde byl spojován s probiotickým přípravkem Mutaflor (Wassenaar, 2016).

Ve studiích je zmíněno, že kmen použitý k výrobě tohoto farmaceutického přípravku, byl izolován z trusu prasat. V roce 1967 byla publikovaná práce, kde bylo popsáno, že tento kmen byl podán pěti kojencům ve věku 3 dnů. Dávka *Escherichia coli* O83 byla $5 \cdot 10^8$ CFU/dávka (Liška a kol., 2019; Wassenaar, 2016).

Studie potvrdila, že při podání léčivého přípravku Colinfant New Born byl nižší výskyt patogenní flóry u novorozenců, stejně tak došlo k snížení alergických reakcí u pacientů (přípravek byl podáván od 2. dne života do 4. týdne). Colinfant New Born byl taktéž podán předčasně narozeným dětem, což vedlo k rapidnímu snížení možnosti infekce a snížení nutnosti podání antibiotik. Přesné složení a povaha tohoto přípravku je nejasná, ale studiemi bylo dokázáno, že kmen *Escherichia coli* v přípravku Colinfant New Born produkuje velmi slabou hemolýzu, což může být velký problém u novorozenců (Súkeníková a kol., 2022; Wassenaar, 2016).

5.4. Symbioflor 2

Přípravek Symbioflor 2 není příliš rozsáhle prozkoumán. Studie z roku 1998 zkoumala vliv na organismus, kde bylo dokázáno, že přípravek nemá vliv na střevní mikroflóru, ale působí na produkci protilátek, kdy zvyšuje koncentraci cirkulujícího IgG, který je namířen proti podanému *Escherichia coli* (Wassenaar, 2016).

V další studii, která byla provedena o deset let později, byl 23 zdravým jedincům podán přípravek Symbioflor 2, kde bylo dokázáno zvýšení β -defensinů v době 9 týdnů po ukončení léčby (Wassenaar, 2016). Probiotický přípravek je předepisován převážně k regulaci imunitního systému, léčbě gastrointestinálních chorob a IBS (Zschüttig a kol., 2015).

Escherichia coli G3/10 produkuje antimikrobiální látku peptidové povahy, mikrocin S. (Zschüttig a kol., 2012).

Účinek genu G3/10 je srovnatelný se zkoumanými *Escherichia coli* Nissle 1917. Schopnost kolonizace kmene *Escherichia coli* v přípravku Symbioflor 2 byla dokázána s trváním až 20 týdnů, ale byla způsobená pouze jedním genotypem, a to G1/2 (Zimmer a Dorea, 2019; Wassenaar, 2016). Přípravek Symbioflor 2 je vyobrazen na obrázku č. 12.



Obr. č. 12.: Přípravek Symbioflor 2 (Symbiopharm).

5.5. Působení na mikroorganismy

Escherichia coli Nissle 1917 vedle přímého účinku na střeva také působí na patogenní mikroorganismy. Mezi přímé nepříznivé vlivy na střeva lze zařadit např. produkci Shiga toxinu EHEC. Podáním přípravku obsahující probiotický kmen *Escherichia coli* Nissle 1917 dochází ke kolonizaci střevní mikroflóry, čímž inhibuje patogenní druh *Escherichia coli* a zabrání produkci Shiga toxinu (Arribas a kol., 2009).

Probiotický kmen funguje na principu inhibice adheze a invaze adherentních a invazivních kmenů bakterie druhu *Escherichia coli*. Účinek zabránění invaze a adheze patogenních kmenů *Escherichia coli* může být zprostředkovaním indukci antimikrobiálních látek, např. β -defensin 2, jenž je strukturně zobrazen na obrázku 18. β -defensin 2 působí jako antimikrobiální látka vůči G⁺ a G⁻ bakteriím, a tím omezí možnost navázání patogenních mikroorganismů. Probiotický kmen *Escherichia coli* Nissle 1917 působí přímým antagonistickým účinkem na patogenní mikroorganismy produkcí kolicinů (vysokomolekulární proteiny) a mikrocinů (nízkomolekulární proteiny) (Arribas a kol., 2009; Zhao a kol., 2022).

Escherichia coli Nissle 1917 má nedostatek virulenčních faktorů, jako např. endotoxiny (lipopolysacharidy), hemolysiny a adheziny, které by poškozovaly svými mechanismy střeva, narozdíl od enteropatogenních *Escherichia coli*. Zvýšeným příjmem železa dochází ke zvýšení probiotického účinku EcN (Yu a kol., 2020; Zhao a kol., 2022).

Kapsulární antigen K5 bakterii rodu *E. coli* Nissle 1917 umožňuje adhezi a kolonizaci hostitele a stimuluje imunitní odpověď reakcí s Toll-like receptorem 5, který způsobí produkci chemokinů (Zhao a kol., 2022; Yu a kol., 2020).

5.5.1. Lidský β -defensin 2

Jedná se o nízkomolekulární látku peptidové povahy s antimikrobiálními účinky objevenou v roce 1997. Struktura HBD-2 je zobrazena na obrázku č. 13. Epiteliální buňky kůže produkují tento peptid jako ochranu proti G⁻ bakteriím, kvasince *Candida*, ale nejsou účinné proti G⁺ bakterii druhu *Staphylococcus aureus* (Schröder a Harder, 1999).

β -defensiny 2 jsou produkovány převážně keratinocyty, kde byl původně objeven, ale mohou být produkovány jinými epiteliálními buňkami, a to převážně v orgánech, ve kterých je sliznice vystavena různým druhům mikroorganismů.

Jakmile dojde k produkci hBD-2, dochází k vyvolání okamžité odpovědi ve formě antimikrobiální ochrany vůči mikroorganismu, který produkci hBD-2 indukoval (Koeninger a kol., 2020; Schröder a Harder, 1999).



Obr. č. 13.: Lidský β -defensin 2 (Hoover a Lubkowski, 2000).

5.5.2. Mikrociny

Jedná se o antibiotika peptidové struktury produkované bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae*. Jejich velikost je menší jak 10 kDa. Jsou aktivní vůči fylogeneticky příbuzným bakteriálním kmenům. Kmen *Escherichia coli* Nissle 1917 produkuje mikrociny typu H47 a M, které mohou pronikat membránou bakterie a způsobit inhibici patogenů (Zhao a kol., 2022; Pavlova a kol., 2008).

5.5.3. Koliciny

Látky vysokomolekulární proteinové povahy o 40 až 80 kDa, jenž jsou produkované některými kmeny *Escherichia coli* nesoucí kolicinogenní plazmid, v němž je uložena genetická informace kódující vznik a uvolňování kolicinů. Koliciny se řadí mezi bakteriociny, což jsou toxické látky produkované určitými kmeny bakterií a působící na příbuzné jedince těchto kmenů, ale nikoli na vlastní buňku (Jansen a kol., 2020; Cascales a kol., 2007).

Působení kolicinů k citlivé buňce je dáno přítomností specifických receptorů, na které se koliciny před likvidací buňky vážou. Receptory pro navázání kolicinu jsou receptory na povrchu membrány, které slouží ke vstupu živin (Cramer a kol., 2018).

První byl objeven kolicin V, který byl nalezen v kultuře bakterie rodu *Escherichia coli* (Cascales a kol., 2007).

6. Závěr

Ve své bakalářské práci jsem se zabývala probiotickým kmenem *Escherichia coli* Nissle 1917.

Znalost vlastností tohoto kmene, jakožto probiotického přípravku k léčbě infekčních průjmů, zácpy a nadýmavosti, je značně rozsáhlá. Cílem mé bakalářské práce bylo shromáždit co nejvíce informací o probiotickém kmenu *Escherichia coli* Nissle 1917.

Probiotický kmen *E. coli* Nissle 1917 skýtá značné množství výhod. Na rozdíl od patogenních druhů má nedostatek virulenčních faktorů, které potenciálně negativně ovlivňují střevo hostitele, dokáže stimulovat imunitní odpověď, není schopen produkovat toxiny do střeva, produkuje antimikrobiální látky bránící růstu patogenních bakterií, jako jsou koliciny, mikrocinny a má schopnost indukce hBD-2. V tlustém střevě *E. coli* Nissle 1917 posiluje slizniční vrstvu a zesiluje tak bariéru proti patogenním mikroorganismům. Další výhodou EcN je přítomnost nepřenosných a stabilních kryptických plazmidů. *Escherichia coli* Nissle 1917 ovlivňuje tvorbu prozánětlivých cytokinů, díky nimž může stimulovat imunitní odpověď organismu.

Při dlouhodobém užívání probiotické *E. coli* Nissle 1917, bylo prokázáno zlepšení u zánětlivého onemocnění střev, nicméně k velkému zlepšení zdravotního stavu nedochází u lidí trpících Crohnovou chorobou a ulcerózní kolitidou. Probiotický přípravek s *E. coli* Nissle 1917 by neměl být užíván lidmi s potlačenou imunitní odpovědí.

Přípravek Symbioflor 2 je využíván převážně k léčbě imunitních chorob, jelikož nepůsobí přímo na střevní trakt, ale ovlivňuje tvorbu imunoglobulinů, hlavně IgA protilátek. Je doporučeno tento přípravek dále využívat k léčbě syndromu dráždivého tračníku, ale pouze u dospělých osob. Naopak probiotický přípravek Colinfant New Born má výhodu podání u předčasně narozených dětí, u kterých zmírňuje invazi patogenních mikroorganismů do střeva, ale nevýhodou je hemolytická aktivita probiotického kmene *E. coli* v přípravku Colinfant New Born.

Domnívám se, že by bylo vhodné navázat na svojí bakalářskou práci dalším studiem daného tématu, a to například praktickým výzkumem zahrnujícím vývoj zdravotního stavu u vybraných pacientů léčených tímto probiotickým kmenem.

Seznam literatury

- AMÉZQUITA-LÓPEZ, B.A., SOTO-BELTRÁN, M., LEE, B.G., YAMBAO, J.C., QUIÑONES, B. Isolation, genotyping and antimicrobial resistance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2018; **51**(4), 425-434. ISSN 1684-1182.
- AMJAD, M. An Overview of the Molecular Methods in the Diagnosis of Gastrointestinal Infectious Diseases. *International Journal of Microbiology*. 2020; **2020**. ISSN 1687-9198.
- ARRIBAS, B., RODRÍGUEZ-CABEZAS, ME., CAMUESCO, D., COMALADA, M., BAILÓN, E., UTRILLA, P., NIETO, A., CONCHA, A., ZARZUELO, A., GÁLVEZ, J. A probiotic strain of *Escherichia coli*, Nissle 1917, given orally exerts local and systemic anti-inflammatory effects in lipopolysaccharide-induced sepsis in mice. *British Journal of Pharmacology*. 2009; **157**(6), 1024-33. ISSN 1476-5381.
- Assefa, A., Bihon, A. A systematic review and meta-analysis of prevalence of *Escherichia coli* in foods of animal origin in Ethiopia. *Heliyon*. 2018; **4**(8), e00716. ISSN 2405-8440.
- AZZOUZ, LL., SHARMA, S. Physiology, Large Intestine. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2021. PMID: 29939634.
- BAJWA, SA., TORO, F., KASI, A. Physiology, Esophagus. [Updated 2022 May 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519011/>
- BAJWA, SA., TORO, F., KASI, A. Physiology, Esophagus. [Updated 2022 May 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519011/>
- BALDELLI, V., SCALDAFERRI, F., PUTIGNANI, L., DEL CHIERICO, F. The Role of *Enterobacteriaceae* in Gut Microbiota Dysbiosis in Inflammatory Bowel Diseases. *Microorganisms*. 2021; **9**(4), 697. ISSN 2076-2607.
- BANJO, M., IGUCHI, A., SETO, K., KIKUCHI, T., HARADA, T., SCHEUTZ, F., IYODA, S. Pathogenic *E. coli* Working Group in Japan. *Escherichia coli* H-Genotyping PCR: a Complete and Practical Platform for Molecular H Typing. *Journal of Clinical Microbiology*. 2018; **56**(6). ISSN 1098-660X.
- BEHROUZI, A., MAZAHERI, H., FALSAFI, S., TAVASSOL, ZH., MOSHIRI, A., SIADAT, SD. Intestinal effect of the probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 and its OMV. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*. 2020; **19**(1), 597-604. ISSN 2251-6581.
- BELL, CH., KYRIAKIDES, A. *E. coli*. A partical approach to the organism and its control in food. London: Thomson Science, 1998. ISBN 0751404624.

- BELOTSEKOVSKY, I., SANSONETTI, P.J. (2018). *Shigella* and Enteroinvasive *Escherichia Coli*. In: Frankel, G., Ron, E. (eds) *Escherichia coli*, a Versatile Pathogen. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, vol 416. Springer, Cham. ISBN 978-3-319-99664-6.
- BELOYSOVA, O., SAVYTSKA, K., PAVLENKO, N., SOLODOVNICHENKO, I., KAAFARANI, A., & VOLIANSKYI, A. Diarrhea in young children: clinical picture, diagnosis, principles of therapy. *CHILD'S HEALTH*. 2021; **13**(1), 63–68. ISSN 2307-1168.
- BIN, P., TANG, Z., LIU, S., CHEN, S., XIA, Y., LIU, J., WU, H., ZHU, G. Intestinal microbiota mediates Enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced diarrhea in piglets. *BMC Vet Res*. 2018; **14**(1), 385. ISSN 1746-6148.
- BLUM-OEHLER, G., OSWALD, S., EITELJÖRGE, K., SONNENBORN, U., SCHULZE, J., KRUIS, W., HACKER, J. Development of strain-specific PCR reactions for the detection of the probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 in fecal samples. *Research in Microbiology*. 2003; **154**(1), 59-66. ISSN 0923-2508.
- BRANDSTAETER, S., FUCHS, SL., AYDIN, RC., CYRON, CJ. Mechanics of the stomach: A review of an emerging field of biomechanics. *GAMM Mitteilungen* 2019; 42, e201900001. ISSN1522-2608.
- BRANNON, J.R., DUNIGAN, T.L., BEEBOUT, C.J., ROSS, T., WIEBE M.A., REYNOLDS W.S., HADJIFRANGISKOU M. Invasion of vaginal epithelial cells by uropathogenic *Escherichia coli*. *Nature Communications*. 2020; **11**(2803). ISSN 2041-1723.
- BUZINSCHI, S. The formation and the structure of the intestinal microflora. *Romanian Journal of Pediatrics*. 2018; **67**(2). ISSN 2069-6175.
- CASCALES, E., BUCHANAN, S. K., DUCHÉ, D., KLEANTHOUS, C., LLOUBÈS, R., POSTLE, K., RILEY, M., SLATIN, S., CAVARD, D. Colicin biology. *ASM Journals. Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2007; **71**(1),
- CASTRO-GONZÁLEZ, JM., CASTRO, P., SANDOVAL, H., CASTRO-SANDOVAL, D. Probiotic *Lactobacilli* Precautions. *Frontiers in Microbiology*. 2019; **10**, 375. ISSN 1664-302X.
- CRAMER, W.A., SHARMA, O., ZAKHAROV, S.D. On mechanisms of colicin import: the outer membrane quandary. *Biochemical Journal*. 2018; **475** (23), 3903–3915. ISSN 1470-8728.
- DASTOOR, P., PATIL, R., UNDE, M., PATIL, S. Probiotics for life; Part I general health perspectives. *Journal of Dental and Allied Sciences*. 2018; **7**(2), 75-80. ISSN 2277-6672.

DEJENE, H., ABUNNA, F., TUFFA, AC., GEBRESENBET, G. Epidemiology and Antimicrobial Susceptibility Pattern of *E. coli* O157:H7 Along Dairy Milk Supply Chain in Central Ethiopia. *Veterinary Medicine (Auckl)*. 2022; **13**, 131-142. ISSN 2230-2034.

DENAMUR, E., CLERMONT, O., BONACORSI, S., GORDON D. The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *National Reviews of Microbiology*. 2021; **19**, 37–54. ISSN 1740-1534.

DERRIEN, M., ALVAREZ, A-S., DE VOS WILLEM, M. The Gut Microbiota in the First Decade of Life. *Trends in Microbiology*. 2019; **27**(12), 997-1010. ISSN 1878-4380.

DUAN, Q., XIA, P., NANDRE, R., ZHANG, W., ZHU, G. Review of Newly Identified Functions Associated With the Heat-Labile Toxin of Enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2019; **9**. ISSN 2235-2988.

ELMER, G.W., MCFARLAND, L. V., MCFARLAND, M, RUSSO, E.B. The power of probiotics: improving your health with beneficial microbes. New York: Haworth Press, c2007. ISBN 9780789029010.

EMMANUEL, E.S.CH., PRIYA, S.S., GEORGE, s. Isolation of Biosurfactant from *Lactobacillus* sp. and Study of Its Inhibitory Properties Against *E.coli* Biofilm. *Journal of pure and applied microbiology*. 2019; **3**(1), 403-411. ISSN 2581-690X.

FANARO, S., CHIERICI, R., GUERRINI, P., VIGI, V. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatr Suppl*. 2003; **91**(441), 48-55. ISSN 1651-2227.

FIJAN, S. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2014; **11**(5), 4745-67. ISSN 1660-4601.

GASBARRINI, G., BONVICINI, F., GRAMENZI, A. Probiotics History. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2016; **50**, S116-S119. ISSN 1539-2031.

GOMES, TA., ELIAS, WP., SCALETSKY, IC., GUTH, BE., RODRIGUES, JF., PIAZZA, RM., FERREIRA, LC., MARTINEZ, MB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2016; **47**(1), 3-30. ISSN 1678-4405.

GUPTA, V., GARG, R. Probiotics. *Indian Journal of Medicinal Microbiology*. 2009; **27**(3), 202-9. ISSN 1998-3646 .

HALLORAN, K., UNDERWOOD, M.A. Probiotic mechanisms of action. *Early Human Development*. 2019; **135**, 58-65. ISSN 0378-3782.

HENDRIKS, A.C.A., REUBSAET, F.A.G., KOOISTRA-SMID, A.M.D.(M)., ROSSEN, J.W.A., DUTILH, B.E., ZOMER, A.L., VAN DEN BELD, M.J.C. Genome-wide association studies of *Shigella* spp. and Enteroinvasive *Escherichia coli* isolates demonstrate an absence

of genetic markers for prediction of disease severity. *BMC Genomics*. 2020; 21(138). ISSN 1471-2164.

HOU, T-Y., NI-CHIANG, CH., TENG, S-H. Current status of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical mikrobiology. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2019; 27(2), 404-414. ISSN 1021-9498.

HSU, M., SAFADI, AO., LUI, F. Physiology, Stomach. [Updated 2021 Jul 22]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535425/>

HUSSIEN, H., ELBEHIRY, A., SAAD, M., HADAD, G., MOUSSA, I., DAWOUD, T., MUBARAK, A., MARZOUK, E. Molecular characterization of *Escherichia coli* isolated from cheese and biocontrol of Shiga toxigenic *E. coli* with essential oils. *Italian Journal of Food Safety*. 2019; 8(3), 82-91. ISSN 2239-7132.

ISOLAURI, E., SÜTAS, Y., KANKAANPÄÄ, P., ARVILOMMI, H., SALMINEN, S. Probiotics: effects on immunity. *Amercian Journal of Clinical Nutrition*. 2001; 73(2), 444S-450S. ISSN 1938-3207.

JAKUBCZYK, D., LESZCZYŃSKA, K., GÓRSKA, S. The Effectiveness of Probiotics in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease (IBD)—A Critical Review. *Nutrients*. 2020; 12(7). ISSN 2072-6643.

JANG, J., HUR, HG., SADOWSKY, MJ., BYAPPANAHALLI, MN., YAN, T., ISHII, S. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. *Journal of Applied Microbiology*. 2017; 123(3), 570-581. ISSN 1365-2672.

JANSEN, K.B., INNS, P.G., HOUSDEN, N.G., HOPPER, J.T.S., KAMINSKA, R., LEE, S., ROBINSON, C.V., BAYLEY, H., KLEANTHOUS, C. Bifurcated binding of the OmpF receptor underpins import of the bacteriocin colicin N into *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*. 2020; 295(27), p9147-9156. ISSN 1083-351X.

JONES, RJ., HUSSEIN, H.M., ZAGORES, M., BRIGHTWELL, G., TAGG, J.R. Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat. *Food Microbiol*. 2008; 25(2), 228-234. ISSN 1095-9998.

JUDKINS, T.C., ARCHER, D.L., KRAMER, D.C., SOLCH, R.J. Probiotics, Nutrition, and the Small Intestine. *Current Gastroenterology Reports*. 2020; 22(2). ISSN 1534-312X.

JULÁK, J. Úvod do lékařské bakteriologie. Praha: Karolinum, 2006. ISBN 80-246-1270-4.

JUNG, B., HOILAT, GJ.. MacConkey Medium. 2021 Oct 5. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan—. PMID: 32491326.

- KAN, A., GELFAT, I., EMANI, S., PRAVESCHOTINUNT, P., JOSHI, N.S. Plasmid Vectors for in Vivo Selection-Free Use with the Probiotic *E. coli* Nissle 1917. *American chemical society*. 2020; 10(1), 94-106. ISSN 1520-5126.
- KARAH, N., RAFEI, R., ELAMIN, W., GHAZY, A., ABBARA, A., HAMZE, M., UHLIN, B.E. Guideline for Urine Culture and Biochemical Identification of Bacterial Urinary Pathogens in Low-Resource Settings. *Diagnostics*. 2020; **10**(10), 832. ISSN 2075-4418.
- KARAM, M.R.A., HABIBI, M., BOUZARI, S. Urinary tract infection: Pathogenicity, antibiotic resistance and development of effective vaccines against Uropathogenic *Escherichia coli*. *Molecular Immunology*. 2019; **108**, 56-67. ISSN 0161-5890.
- KARIGOUDAR, R. M., KARIGOUDAR, M. H., WAVARE, S. M., MANGALGI, S. S. Detection of biofilm among uropathogenic *Escherichia coli* and its correlation with antibiotic resistance pattern. *Journal of Laboratory Physicians*. 2019; **11**(01), 017-022. ISSN 0974-7826.
- KASPER, H. Výživa v medicíně a dietetika. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-4533-6.
- KASTL, A.J., TERRY, A. A., WU, G.D, ALBENBERG, L.G. The Structure and Function of the Human Small Intestinal Microbiota: Current Understanding and Future Directions. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*. 2020; **9**(1), 33-45. ISSN 2352-345X.
- KHUSNAN, K., PRIHTIYANTORO, W. Characterization of Virulent Factors of Sorbitol-Negative *Escherichia coli* Isolated from Quail. *Indonesian Journal of Veterinary Sciences*. 2020; 1(1), 28-39. ISSN 2722-421X.
- KIM, J.S., LEE, M.S., KIM, J.H. Recent Updates on Outbreaks of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and Its Potential Reservoirs. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2020; **10**. ISSN 2235-2988.
- KIM, S.K., GUEVARRA, R. B., KIM, Y-T. KWON, J. KIM, H., CHO, J.H., KIM, H.B., LEE, J-H.. Role of Probiotics in Human Gut Microbiome-Associated Diseases. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2019; **29**(9): 1335-1340. ISSN 1738-8872.
- KITTANA, H., GOMES-NETO, J.C., HECK, K., GEIS, A.L., SEGURA MUÑOZ, R.R., CODY, L.A., SCHMALTZ, R.J., BINDELS, L. B., SINHA, R., HOSTETTER, J.M., BENSON, A. K., RAMER-TAIT, A. E. Commensal *Escherichia coli* Strains Can Promote Intestinal Inflammation via Differential Interleukin-6 Production. *Frontiers in Immunology*. 2018; **9**. ISSN 1664-3224.
- KOENINGER, L., ARMBRUSTER, N. S., BRINCH, K.S., KJAERULF, S., ANDERSEN, B., LANGNAU, C., AUTENRIETH, S.E., SCHNEIDAWIND, D., STANGE, E.F., MALEK,

- N.P., NORDKILD, P., JENSEN, B.A.H., WEHKAMP, J. Human β -Defensin 2 Mediated Immune Modulation as Treatment for Experimental Colitis. *Frontiers in Immunology*. 2020; **11**. ISSN 1664-3224.
- KOEPSSELL, H. Glucose transporter in the small intestine in health and disease. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*. 2020; **472**, 1207-1248. ISSN 1432-2013.
- KONIECZNA, P., CEZMI, A. A., QUIGLEY, E. M.M., SHANAHAN, F., O'MAHONY, L. Portrait of an immunoregulatory bifidobacterium. *Gut microbes*. 2012; **3**(3), 261-266. ISSN 19490984.
- KUNDURU, BR., NAIR, SA., RATHINAVELAN, T. EK3D: an *E. coli* K antigen 3-dimensional structure database. *Nucleic Acids Res*. 2016; **44**(D1), D675-81. ISSN 1362-4962.
- LAGIER JC, EDOUARD S, PAGNIER I, MEDIANNIKOV O, DRANCOURT M, RAOULT D. Current and past strategies for bacterial culture in clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*. 2015; **28**(1), 208-36. ISSN 1098-6618.
- LIŠKA, J., SIALA, K., ČULÁKOVÁ, B., HOLEČEK, V., SOBOTOVÁ, Š., SÝKORA, J., ŠEFRNA, F. 10-year experience with umbilical cord blood IgE and microbiome therapy. *Italian Journal of Pediatrics*. 2019; **45**(35). ISSN 1824-7288.
- LIŠKA, J., SIALA, K., ČULÁKOVÁ, B., HOLEČEK, V., SOBOTOVÁ, Š., SÝKORA, J., ŠEFRNA, F. Significance of Immunoglobulin E in Umbilical Blood in Relation to an Allergic Family History, Seasonality, Child Immunity and the Impact of Applied Non-pathogenic *E. coli* on Children's Microbiome. *Journal of Life Sciences*. 2017; **1**(1), 105-124. ISSN 1879-0631.
- LIU, B., FUREVI, A., PEREPELOV, A. V, GUO, X., CAO, H., WANG, Q., REEVES, P. R, KNIREL, Y. A, WANG, L., WIDMALM, G. Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens. *FEMS Microbiology Reviews*. 2020; **44**(6), 655-683. ISSN 1574-6976.
- LU, B., YANG, H., LIU, F., Yunju, S., HE H., DING X., HU S., XIA L. *Escherichia coli* Nissle 1917 secreting functional interleukin 2 targets tumours and enhances the immune response to suppress tumours. *Research Square*. 2020, **4**. ISSN 2693-5015.
- MANDAL, K.P., MISRA, K.A. Concise synthesis of the pentasaccharide O-antigen of *Escherichia coli* O83:K24:H31 present in the Colinfant vaccine. *Glycoconjugate Journal*. 2008; **25**, 713- 722. ISSN 1573-4986.
- MARE, A.D., CIUREA, C.N., MAN, A., TUDOR, B., MOLDOVAN, V., DECEAN, L., TOMA, F. Enteropathogenic *Escherichia coli*—A Summary of the Literature. *Gastroenterology Insights*. 2021; **12**(1), 28-40. ISSN 2036-7422.

- MASSIP, C., BRANCHU, P., BOSSUET-GREIF, N., CHAGNEAU, C.V., GAILLARD, D., MARTIN, P., BOURY, M., SÉCHER, T., DUBOIS, D., NOUGAYRÈDE, J-P., OSWALD, E. Deciphering the interplay between the genotoxic and probiotic activities of *Escherichia coli* Nissle 1917. *PLOS Pathogens*. 2019; **15**(9), 1-24. ISSN 1553-7366.
- MENGE, CH. The Role of *Escherichia coli* Shiga Toxins in STEC Colonization of Cattle. *Toxins*. 2020; **12**(9), 607. ISSN 2072-6651.
- MIRHOSEINI. A., AMANI, J., NAZARIAN, S. Review on pathogenicity mechanism of enterotoxigenic *Escherichia coli* and vaccines against it. *Microbial Pathogenesis*. 2018; **117**, 162-169. ISSN 0882-4010.
- MIRSEPASI- LAURIDSEN, H.Ch., VALLANCE, B.A., KROGFELT, K.A., PETERSEN, M.A. *Escherichia coli* Pathobionts Associated with Inflammatory Bowel Disease. *Clinical Microbiology Reviews*. 2019; **32**(2), e00060-18. ISSN 1098-6618.
- MOURAND, G., PABOEUF, F., GRIPPON, P. LUCAS, P., BOUGEARD, S., DENAMUR, E., KEMPF, I. Impact of *Escherichia coli* probiotic strains ED1a and Nissle 1917 on the excretion and gut carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *E. coli* in pigs. *Veterinary and Animal Science*. 2021; **14**. ISSN 2451-943X.
- MUELLER, M, TAINTER, CR. *Escherichia Coli*. 2022 Apr 30. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. PMID: 33231968.
- MÜHLEN, S., RAMMING I., PILS, MARINA C., KOEPEL, M. GLASER, J., LEONG J., FLIEGER A., STECHER B., DERSCH P. Identification of Antibiotics That Diminish Disease in a Murine Model of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2020; **64**(4), e02159-19. ISSN 1098-6596.
- MURTHY, K. DR.R. Introductory Microbiology-I. Indie. Sankalp Publication. 2022. ISBN: 9391190073.
- NAGPAL, M., BOLDURA, O., BALŤĂ, C., ENANY, S. 2020, Synthetic Biology - New Interdisciplinary Science, IntechOpen, London. ISBN: 9781789853292.
- NAKAMURA, S., MINAMINO, T. Flagella-Driven Motility of Bacteria. *Biomolecules*. 2019; **9**(7), 279. ISSN 2218-273X.
- OLIVEIRA, J., REYGAERT, WC. Gram Negative Bacteria. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2021. PMID: 30855801.
- OU, B., YANG, Y., THAM, W.L., CHEN, L., GUO, J., ZHU, G. Genetic engineering of probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 for clinical application. *Applied Microbiology and Biotechnology* 100. 2016; 8693–8699. ISSN 1432-0614.

- PAAUW, A., JONKER, D., ROESELERS, G., HENG, J.M.E., MARS-GROENENDIJK, R.H., TRIP, H., MARGO MOLHOEK E., JANSEN, H-J., VAN DER PLAS, J., DE JONG, A.L., MAJCHRZYKIEWICZ-KOEHORST, J.A., SPEKSNIJDER, A.G.C.L. Rapid and reliable discrimination between *Shigella* species and *Escherichia coli* using MALDI-TOF mass spectrometry. *International Journal of Medical Microbiology*. 2015; **305**(4-5), 446-452. ISSN 1438-4221.
- PAIS, P., ALMEIDA, V., YILMAZ, M., TEIXEIRA, M. C. *Saccharomyces boulardii*: What Makes It Tick as Successful Probiotic. *Journal of Fungi*. 2020; **6**(2). ISSN 2309-608X.
- PANARA, K., RAMEZANPOUR, A.E., PADALIA, D. Physiology, Swallowing. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541071/>
- PANG, B., ZHAO, CH., LI, L., SONG, X., XU, K., WANG, J., LIU, Y., FU, K., BAO, H., SONG, D., MENG, X., QU, X., ZHANG, Z., LI, J. DEVELOPMENT of a low-cost paper-based ELISA method for rapid *Escherichia coli* O157:H7 detection. *Analytical Biochemistry*. 2018; **542**, 58-62. ISSN 0003-2697.
- PAREDES-PAREDES, M., FLORES-FIGUEROA, J., DUPONT, HL. Advances in the treatment of travelers' diarrhea. *Current Gastroenterology Reports*. 2011; **13**(5), 402-407. ISSN 1534-312X.
- PATEL, R. A Moldy Application of MALDI: MALDI-ToF Mass Spectrometry for Fungal Identification. *Journal of Fungi*. 2019; **5**(1), 4. ISSN 2309-608X.
- PETŘEK, J. *Základy fyziologie člověka pro nelékařské zdravotnické obory*. Praha: Grada Publishing, 2019. ISBN 978-80-271-2208-0.
- PLAZA-DIAZ, J., RUIZ-OJEDA, FJ., GIL-CAMPOS, M., GIL, A. Mechanisms of Action of Probiotics. *Advances of Nutrition*. 2019; **10**(1), S49-S66. ISSN 2156-5376.
- PRADHAN, S., WEISS, A.A., BARBOUR, A.G. Probiotic Properties of *Escherichia coli* Nissle in Human Intestinal. *American Society for Microbiology*. 2020; **11**(4), e01470-20. ISSN 0021-9193.
- PU, J., LIU, Y., ZHANG, J., AN, B., LI, Y., WANG, X., DIN, K., QIN, C., LI, K., CUI, M., LIU, S., HUANG, Y., WANG, Y., LV, Y., HUANG, J., CUI, Z., ZHAO, S., ZHONG, C., Virus Disinfection from Environmental Water Sources Using Living Engineered Biofilm Materials. *Advanced Science*. 2020; **7**, 1903558. ISSN 2198-3844.
- PUVANESWARI, P., CHOU. M.CH., SURIANA, S., MD. SABRI, Y., MURNI, K. Multi-strain probiotics: Functions, effectiveness and formulations for aquaculture applications. *Aquaculture Reports*. 2021; **21**. ISSN 2352-5134.

- RABIN, N., ZHENG, Y., OPOKU-TEMENG C, D. Y., BONSU, E., SINTIM, H. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Medicinal Chemistry*. 2015; **7**(4), 493-512. ISSN 1756-892.
- RAWLA, P., SUNKARA, T., THANDRA, CH. K., BARSOUK, A. Epidemiology of gallbladder cancer. *Clinical and Experimental Hepatology*. 2019, **5**(2), 93-102. ISSN 2449-8238.
- REQUE MAGRO, P., BRANDELLI, A. Chapter 1 - An introduction to probiotics. Editor(s): Adriano Brandelli. Probiotics. Academic Press. 2022. ISBN 9780323851701.
- ROKYTA, R. Fyziologie. Třetí, přepracované vydání (první vydání v nakladatelství Galén). Praha: Galén, [2016]. ISBN 978-80-7492-238-1.
- SANDERS, ME., AKKERMANS, LM., HALLER, D., HAMMERMAN, C., HEIMBACH, J., HÖRMANNSPERGER, G., HUYS, G., LEVY, DD., LUTGENDORFF, F., MACK, D., PHOTHIRATH, P., SOLANO-AGUILAR, G., VAUGHAN, E. Safety assessment of probiotics for human use. *Gut Microbes*. 2010; **1**(3), 164-85. ISSN 1949-0984.
- SANCHEZ-VILLAMINL, J.I., TAPIA, D., TORRES, A.G., SPERANDIO, V., MOBLEY, H., NATARO, J. Development of a Gold Nanoparticle Vaccine against Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *mBIO*. 2019; **10**(4), e01869-19. ISSN 2150-7511.
- SANTHANAM, M., ALGOV, I., ALFONTA, L. DNA/RNA Electrochemical Biosensing Devices a Future Replacement of PCR Methods for a Fast Epidemic Containment. *Sensors*. 2020; **20**(16), 46-48. ISSN 1424-8220.
- SAROWSKA, J., FUTOMA-KOLOCH, B., JAMA-KMIECIK, A., FREJ-MADRZAK M., KSIAZCZYK M., BUGLA-PLOSKONSKA G., CHOROSZY-KROL, I. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut Pathogens*. 2019; **11**, 10. ISSN 1757-4749.
- SCALDAFERRI, F., GERARDI, V., MANGIOLA, F., LOPETUSO, LR., PIZZOFEERRATO, M., PETITO, V., PAPA, A., STOJANOVIC, J., POSCIA, A., CAMMAROTA, G., GASBARRINI, A. Role and mechanisms of action of *Escherichia coli* Nissle 1917 in the maintenance of remission in ulcerative colitis patients: An update. *World Journal of Gastroenterology*. 2016; **22**(24), 505-11. ISSN 2219-2840.
- SECO, E.M., FERNÁNDEZ, L.A. Efficient markerless integration of genes in the chromosome of probiotic *E. coli* Nissle 1917 by bacterial conjugation. *Microbial Biotechnology*. 2022; **15**(5), 1374-1391. ISSN 1751-7915.
- SENDER, R., FUCHS, S., MILO, R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biology*. 2016; **14**(8): e1002533. ISSN 1545-7885.

SERAPIO-PALACIOS, A., FINLAY B.B. Dynamics of expression, secretion and translocation of type III effectors during enteropathogenic *Escherichia coli* infection. *Current Opinion in Microbiology*. 2020; **54**, 67-76. ISSN 1369-5274.

SERINO, M., LUCHE, E., CHABO, C., AMAR, J., BURCELIN, R. Intestinal microflora and metabolic diseases. *Diabetes & Metabolism*. 2009; **35**(4), 262-272. ISSN 1262-3636.

SHAFEEQ, N.K. Polymer chain reaction (PCR): Principle and Applications. *Ibn Al Haitham Journal for Pure and Applied Science*. 2021; **34**(4). ISSN 1609-4042.

SHIOMI, D., MORI, H., NIKI, H. Genetic mechanism regulating bacterial cell shape and metabolism. *Communicative and Integrative Biology*. 2009; **2**(3), 219-20. ISSN 1942-0889.

SCHRÖDER, J-M., HARDER, J. Human beta-defensin-2. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 1999; **31**(6), 645-651. ISSN 1357-2725.

SCHRÖDER, N.C.H., KORŠA, A., WAMI, H., MANTEL, O., DOBRINDT, U., KURTZ, J. Serial passage in an insect host indicates genetic stability of the human probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917. *Evolution, Medicine, and Public Health*. 2022; **10**(1), 71-86. ISSN 2050-6201.

SCHWIDDER, M., HEINISCH, L., SCHMIDT, H. Genetics, Toxicity, and Distribution of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Hemolysin. *Toxins*. 2019; **11**(9), 502. ISSN 2072-6651.

SODERHOLM, A.T., PEDICORD, V. A. Intestinal epithelial cells: at the interface of the microbiota and mucosal immunity. *Immunology*. 2019; **158**(4), 267-280. ISSN 1365-2567.

SONNENBORN, U. *Escherichia coli* strain Nissle 1917—from bench to bedside and back: history of a special *Escherichia coli* strain with probiotic properties, *FEMS Microbiology Letters*. 2016; **363** (19). ISSN 1574-6968.

STROMBERG, Z.R., GOOR VAN, A., REDWEIK, G.A. J., WYMORE BRAND, M.J., WANNEMUEHLER, M.J., MELLATA, M. Pathogenic and non-pathogenic *Escherichia coli* colonization and host inflammatory response in a defined microbiota mouse model. *Disease models and mechanisms*. 2018; **11** (11). ISSN 1754-8411.

SÚKENÍKOVÁ, L., ČERNÝ, V., VĚCEK, J., PETRÁSKOVÁ, P., NOVOTNÁ, O., VOBRUBA, Š., MICHALČÍKOVÁ, T., KOLÁŘOVÁ, L., HRDÝ, J. The Impact of *Escherichia coli* Probiotic Strain O83:K24:H31 on the Maturation of Dendritic Cells and Immunoregulatory Functions In Vitro and In Vivo. *Cells*. 2022; **11**(10), 1624. ISSN 2073-4409.

SWANSON, K.S., GIBSON, G.R., HUTKINS, R. REIMER, R.A., REID, G., VERBEKE, K., SCOTT, K.P., HOLSCHER, H.D., AZAD, M.B., DELZENNE, N.M., SANDERS, M.E. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus

- statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2020; **17**, 687–701. ISSN 1759-5053.
- ŠPELINA, V., WINKLEROVÁ, D. Principy hodnocení účinnosti a bezpečnosti probiotik a charakteristika registrovaných doplňků stravy s obsahem probiotik a prebiotik. *Pediatric pro praxi*. 2009; **10**(4), 247-250. ISSN 1803-5264.
- TAPIA, M.S., ALZAMORA, S.M. AND CHIRIFE, J. (2020). Effects of Water Activity (a_w) on Microbial Stability as a Hurdle in Food Preservation. In *Water Activity in Foods* (eds G.V. Barbosa-Cánovas, A.J. Fontana, S.J. Schmidt and T.P. Labuza).
- TETZSCHNER MALBERG, A.M., JOHNSON. J.R., JOHNSTON, B.D., LUND, O., SCHEUTZ, F., DEKKER, J.P. *In Silico* Genotyping of *Escherichia coli* Isolates for Extraintestinal Virulence Genes by Use of Whole-Genome Sequencing Data. *Journal of Clinical Microbiology*. 2020; **58**(10), e01269-20. ISSN 1098-660X.
- THURSBY, E., JUGE, N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal*. 2017; **474**(11), 1823-1836. ISSN1470-8728.
- TORRES-SANGIAO, E., LEAL RODRIGUEZ, CH., GARCÍA-RIESTRA, C. Application and Perspectives of MALDI–TOF Mass Spectrometry in Clinical Microbiology Laboratories. *Microorganisms*. 2021; **9**(7), 15-39. ISSN 2076-2607.
- TRIPATHI, N., SAPRA, A. Gram Staining. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2021. PMID: 32965827.
- VALDES, A.M., WALTER, J., SEGAL, E., SPECTOR, T.D. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *Science and Politics of Nutrition*. 2018; **361**, k2179. ISSN 1756-1833.
- VAN DEN BELD, M.J.C., WARMELINK, E., FRIEDRICH, A.W., REUBSAET, F.A.G., SCHIPPER, M., DE BOER, R.F., NOTERMANS, D.W., PETRIGNANI, M.W.F., VAN ZANTEN, E., ROSSEN, J.W.A., FRIESEMA, I.H.M., KOOISTRA-SMID, A.M.D.(M). Incidence, clinical implications and impact on public health of infections with *Shigella* spp. and entero-invasive *Escherichia coli* (EIEC): results of a multicenter cross-sectional study in the Netherlands during 2016–2017. *BMC Infectious Disease*. 2019; **19**(1037). ISSN 1471-2334.
- WANG, H., ZHONG, Z., LUO, Y., COX, E., DEVRIENDT, B. Heat-Stable Enterotoxins of Enterotoxigenic *Escherichia coli* and Their Impact on Host Immunity. *Toxins*. 2019; **11**(1), 24. ISSN 2072-6651.
- WANG, R., TANG, R., LI, B. MA, X., SCHNABL, B., TILG, H. Gut microbiome, liver immunology, and liver diseases. *Cellular and Molecular Immunology*. 2021. **18**, 4–17. ISSN 2042-0226.

WASSENAAR, TM. Insights from 100 Years of Research with Probiotic *E. Coli*. *European Journal of Microbiology and Immunology (Bp)*. 2016; **6**(3), 147-161. ISSN 2062-8633.

WIEËRS, G., BELKHIR, L., ENAUD, R., LECLERCQ, S., PHILIPPART DE FOY, JM., DEQUENNE, I., DE TIMARY, P., CANI, PD. How Probiotics Affect the Microbiota. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020; **9**, 454. ISSN 2235-2988.

WILKINS, T., SEQUOIA, J. Probiotics for Gastrointestinal Conditions: A Summary of the Evidence. *American Family Physician*. 2017; **96**(3), 170-178. ISSN 0002-838X.

WILLIAMS, NT. Probiotics. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 2010; **67**(6), 449-58. ISSN 1535-2900.

WU, W-K., CHEN, CH-CH., PANYOD, S., CHEN, R-A., WU, M-S., SHEEN, L-Y., CHANG, S-CH. Optimization of fecal sample processing for microbiome study- The journey from bathroom to bench. *Journal of the Formosan Medical Association*. 2019; **118**(2), 545-555. ISSN 0929-6646.

YU, X., LIN, C., YU, J., QI, Q., WANG, Q. Bioengineered *Escherichia coli* Nissle 1917 for tumour-targeting therapy. *Microbial Biotechnology*. 2020; **13**(3), 629-636. ISSN 1751-7915.

ZBOŘIL, V. Mikroflóra trávicího traktu: klinické souvislosti. Praha: Grada, 2005. ISBN 80-247-0584-2.

ZENG, L., YU, G., YANG, K., HAO, W., CHEN, H. The Improving Effect and Safety of Probiotic Supplements on Patients with Osteoporosis and Osteopenia: A Systematic Review and Meta-Analysis of 10 Randomized Controlled Trials. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021, **13**. ISSN 1741-4288.

ZHAO, Z., XU, S., ZHANG, W., WU, D., YANG, G. Probiotic *Escherichia coli* NISSLE 1917 for inflammatory bowel. *Food and Function*. 2022; **13**(11), 5914-5924. ISSN 2042-6496.

ZHOU, Q., MELTON, D.A. Pancreas regeneration. *Nature*. 2018; **557**, 351–358. ISSN 1476-4687.

ZIMMER, C., DOREA, C. Enumeration of *Escherichia coli* in Probiotic Products. *Microorganisms*. 2019; **7**(10), 437. ISSN 2076-2607.

ŻÓLKIEWICZ, J., MARZEC, A., RUSZCZYŃSKI, M., FELESZKO, W. Postbiotics-A Step Beyond Pre- and Probiotics. *Nutrients*. 2020; **12**(8), 2189. ISSN 2072-6643.

ZSCHÜTTIG, A., AUERBACH, CH., MELTKE, S., EICHHORN, CH., BRANDT, M., BLOM, J., GOESMANN, A., JAREK, M., SCHARFE, M., ZIMMERMANN, K., WASSENAAR, T.M., GUNZER, F. Complete Sequence of Probiotic Symbioflor 2

Escherichia coli Strain G3/10 and Draft Sequences of Symbioflor 2 *E. coli* Strains G1/2, G4/9, G5, G6/7, and G8. *Genome Announcements*. 2015; **3**(2), e01330-14. ISSN 2169-8287.

ZSCHÜTTIG, A., ZIMMERMANN, K., BLOM, J., GOESMANN, A., PÖHLMANN, C., GUNZER, F. Identification and Characterization of Microcin S, a New Antibacterial Peptide Produced by Probiotic *Escherichia coli* G3/10. *Plos One*. 2012; **7**(3), e33351. ISSN 1932-6203.

Seznam zdrojů použitých obrázků

Obr. 1.: BERMUDEZ-BRITO, M., PLAZA-DÍAZ, J., MUÑOZ-QUEZADA, S., GÓMEZ-LLORENTE, C., GIL, A., Probiotic Mechanisms of Action. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2012; **61**, 160-174. ISSN 1421-9697.

Obr. 2.: RABIN, N., ZHENG, Y., OPOKU-TEMENG C, D. Y., BONSU, E., SINTIM, H. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Medicinal Chemistry*. 2015; **7**(4), 493-512. ISSN 1756-892.

Obr. 3.: Introduction to *Enterobacteriaceae* *Enterobacteriaceae* Small gramnegative rods 2. SlideToDoc.com - one of the largest repository of presentations [online]. Dostupné z: <https://slidetodoc.com/introduction-to-enterobacteriaceae-enterobacteriaceae-small-gramnegative-rods-2/>

Obr. 4, 5, 6, 7.: SKALKA, B. MEDMICRO [online]. Dostupné z: http://www.medmicro.info/atlas/bacteriology/escherichia/atlas_cs.html

Obr.č.8.: SONNENBORN, U. *Escherichia coli* strain Nissle 1917-from bench to bedside and back: history of a special *Escherichia coli* strain with probiotic properties. *FEMS Microbiology Letters*. 2016; **363**(19), fnw212. ISSN 1574-6968.

Obr. 9.: MUTAFLOR [online]. Dostupné z: <https://www.mutaflor.com/index.html>

Obr. 10.: About Mutaflor | Mutaflor Australia. Mutaflor® Australia [online]. 2021 *Natural Therapy Imports*. Dostupné z: <https://www.mutaflor.com.au/about-mutaflor/>.

Obr. 11.: HANZLOVÁ, J., HEMZA, J. *Základy anatomie pohybového ústrojí*. 2., dopl. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2009. ISBN 978-80-210-4937-6.

Obr. 12.: SYMBIOFLOR 2 Suspension 50 ml - Stomach, intestine & bile - All Medicine - arzneiprivat. Arzneiprivat - Deutsche Versandapotheke - EU Versand Deutsche Versandapotheke - günstige Arzneimittel - EU Versand [online]. Dostupné z: https://www.arzneiprivat.de/product/symbioflor-2-suspension.45641.html?language_code=en

Obr. 13.: RCSB PDB - 1FD3: HUMAN BETA-DEFENSIN 2. RCSB PDB: Homepage [online]. Dostupné z: <https://www.rcsb.org/structure/1fd3>

Seznam zdrojů tabulek

Tabulka č. 1.: WASSENAAR, TM. Insights from 100 Years of Research with Probiotic *E. coli*. *European Journal of Microbiology and Immunology (Bp)*. 2016; **6**(3), 147-161. ISSN 2062-8633.