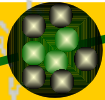


Střevní mikrobiom

– stále něco nového



Pavel Kohout

Interní klinika

3. LF UK a Thomayerova nemocnice

PRAHA

Základní pojmy :

- ☛ **ANTIBIOTIKUM:** látka, která působí proti bakteriím
- ☛ **PROBIOTIKUM:** živý mikrobiální dodatek stravy, který prospěšně ovlivní hostitele zlepšením jeho střevní mikrobiální bilance
- ☛ **PREBIOTIKUM:** látka, která slouží jako substrát pro střevní bakterie, které mají prospěšný účinek na hostitele
- ☛ **SYNBIOTIKUM:** kombinace prebiotika a probiotika

Pasteurův institut Paříž

☛ **Založen Pasteurem 1887**

☛ **konec 19. a začátek 20. stol.**

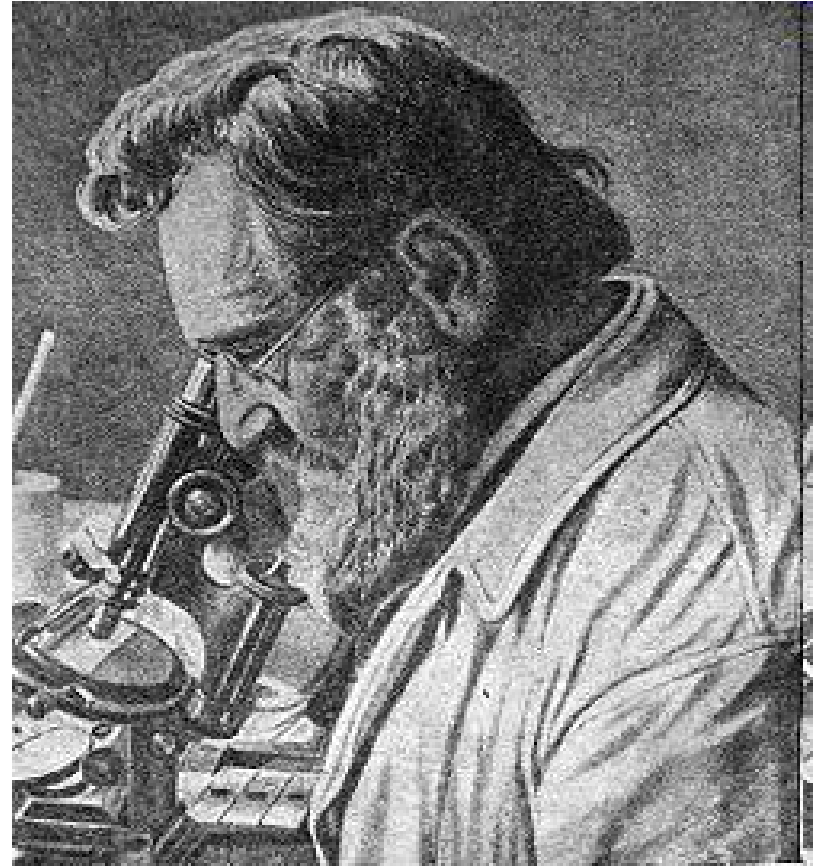
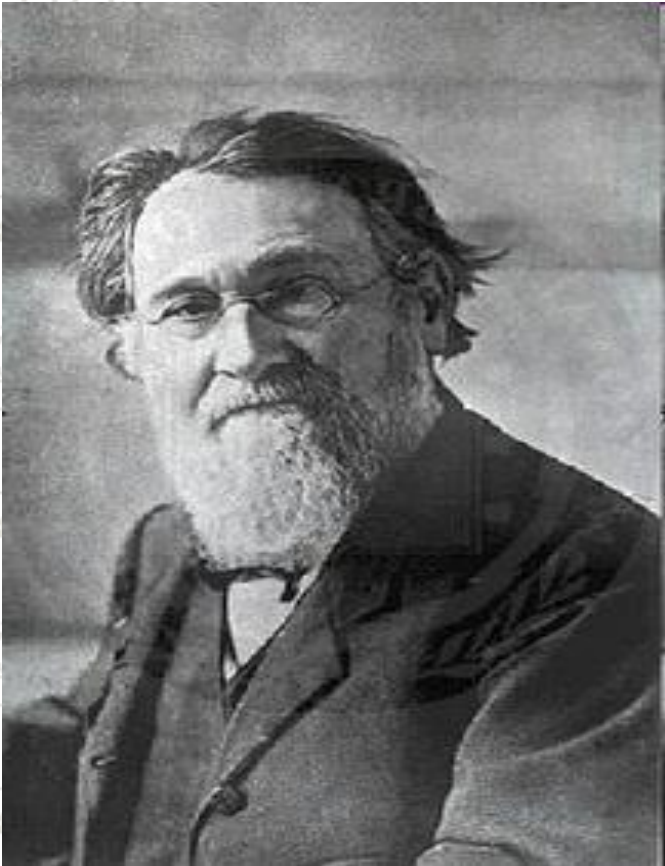
- Mekka mikrobiologického výzkumu

☛ **Od založení** – celkem 8 držitelů Nobelovy ceny
(m.j. Mečnikov)

☛ **1897** – disertace Ernest Duchesne – užití *Penicillium glaucum* v léčbě infekce – nebyl na ni brán zřetel

☛ Henry Tissier – kultivace *Bacillus bifidus communis* z kojeného dítěte, později přejmenováno na *Bifidobacterium*

Ilja Iljič Mečnikov (1845 – 1916)



Ilja Iljič Mečnikov (1845 – 1916)

☀️ **Koncept užívání probiotik**

- možnost **ovlivnění modifikovat střevní flóru** a nahradit potencionálně patogenní flóru užitečnými mikroby.

- **stárnutí** je způsobeno **otravou střevní flórou**, dochází k její změně při konzumaci živých jogurtů – inspirace bulharskými venkovany

☀️ **Prodloužení života, London 1907**

☀️ 1908 – Nobelova cena za imunologii

Alexander Fleming, 1881 - 1995

- ✦ 1928 – Nobelova cena
- ✦ Objev *Penicillium notatum*
- ✦ **Antibiotická éra**
od 40.let do 80.let 20. stol.
- ✦ Záchrana desetitisíců lidí





Probiotický koncept

Genesis, 18.8 : Abraham vděčil za svou dlouhověkost kyselému mléku a výrobkům z nich

Symbióza s nepatogenními mikroorganismy kůže, střeva, dýchacích cest je pro nás nutná a nevyhnutelná –
PROBIOTICKÝ KONCEPT

Počátek 20.století – beze znalosti antibiotik, jediný proces známý z vytlačení patogenní flóry

Mikrobi kolonizují epiteliální povrchy lidského těla („microbial organ“)

KŮŽE 10^{12}

Staph. aureus
Staph. epidermidis
Ps. aeruginosa
Propionibacterium acnes
Anaerobes

HRTAN

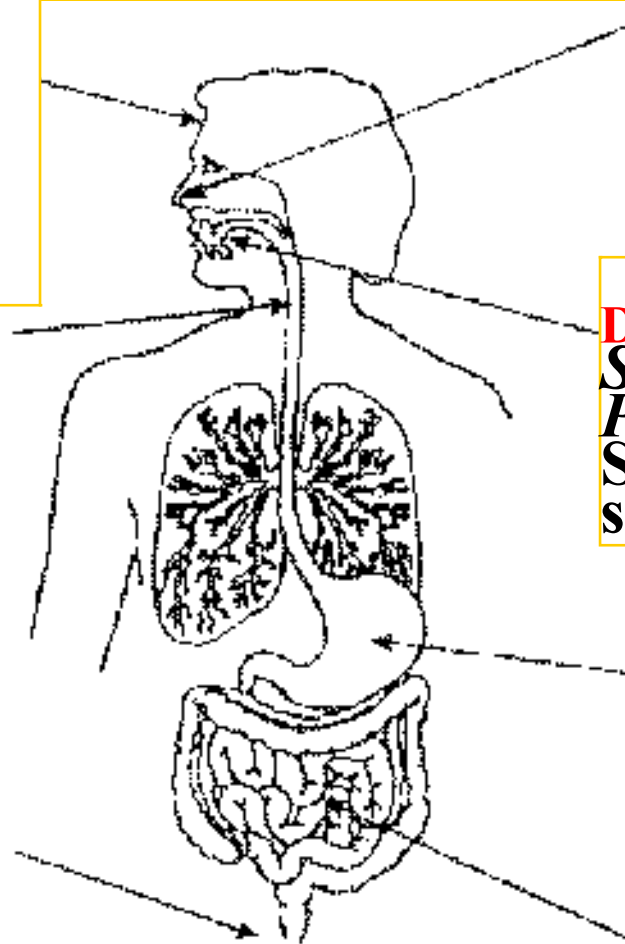
Staph. epidermidis
Haem. influenzae
Neisseria spp.
Strep. Pneumoniae
Strep. pyogenes

URETHRA A

VAGINA 10^8

Staph. epidermidis
Streptococci
Lactobacilli
Veillonella
etc.

29.1.2019



NOS 10^8

Staph. aureus
Staph. epidermidis
Diphtheroids
Streptococci

DUTINA ÚSTNÍ 10^{10}

Strep. mutans
Por. Gingivalis plus
Some 700 other species

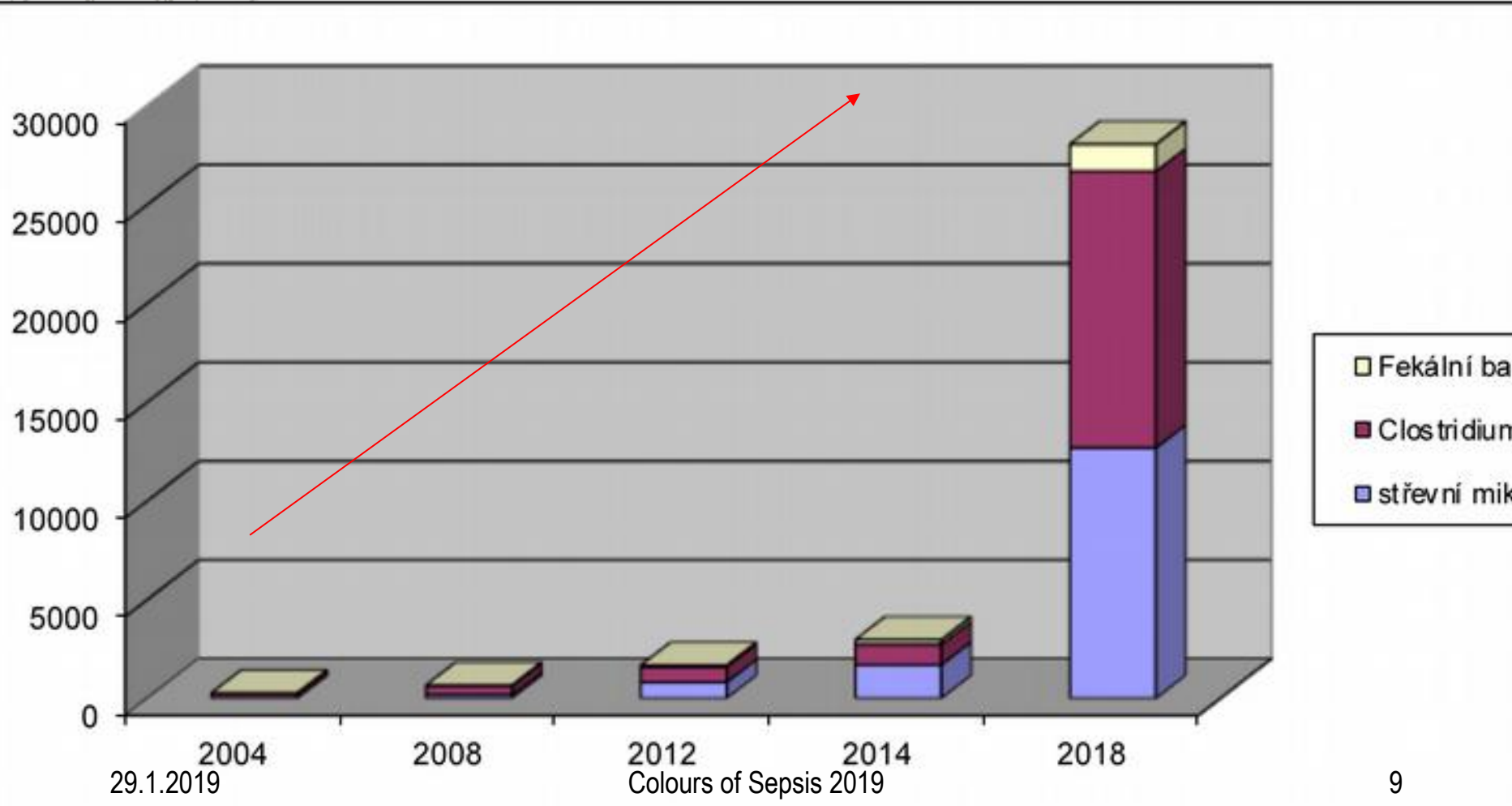
ŽALUDEK 10^4

Hel. pylori

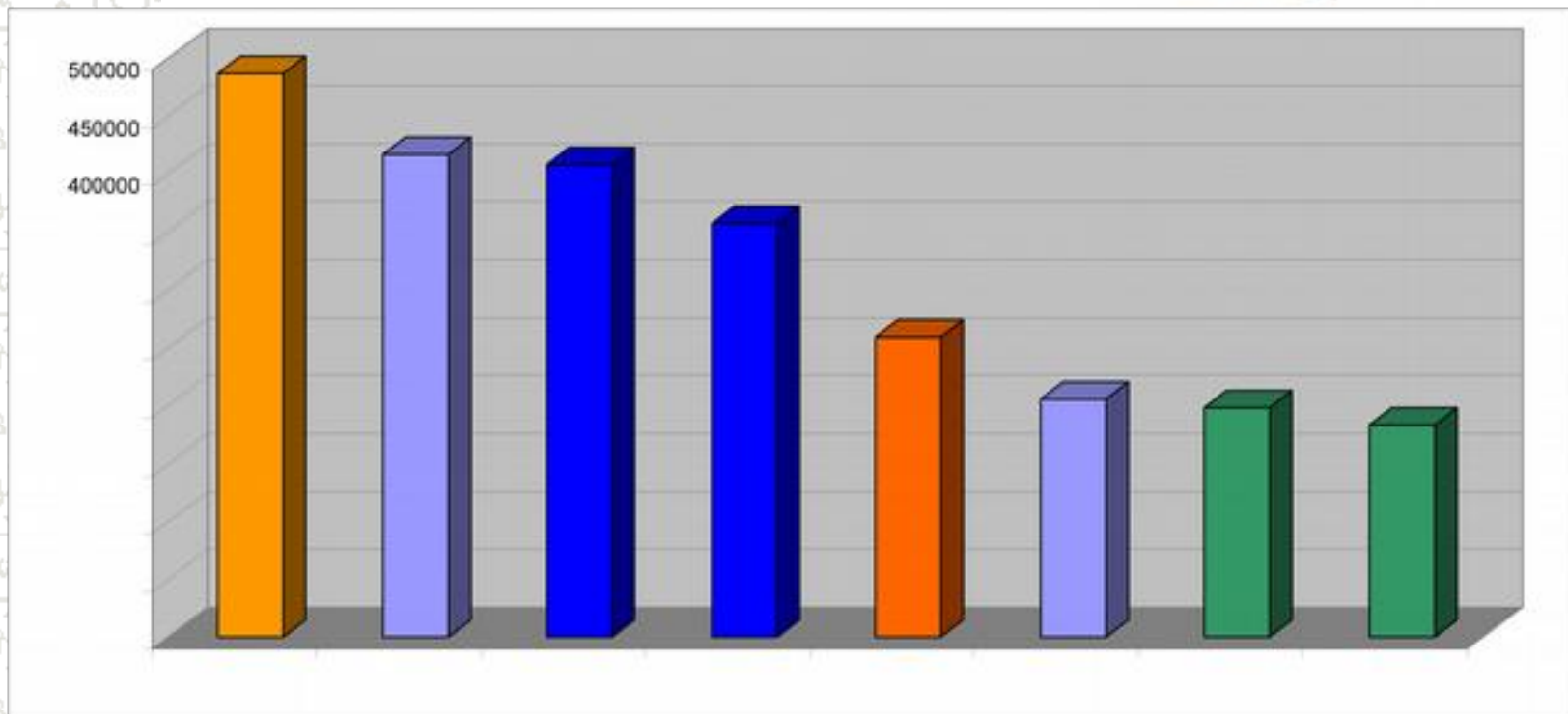
STŘEVO 10^{14} ~220g

Bacteroides spp.
Bifidobacter spp.
Bacillus spp.
Eubacteria
Ruminococcus albus
etc.

(Wilson et al, 2002)



Google



počet odkazů - doba vyhledání cca 0,25 sec 😊



29.1.2019

Střevní mikrobiota 1

☀ V tračníku člověka

– 10^{12} bakterií na 1 ml střevního obsahu

☀ Druhová rozmanitost (více než 1000 druhů)

☀ 98% anaeroby, obtížně kultivovatelné

☀ 60-80% druhů **nelze kultivovat** vůbec

detekce pomocí metod **molekulární biologie** (PCR)

☀ 100x více genů než genů lidských

☀ **Složitější průkaz účinnosti**, změna mikrobioty probiotiky – dlouhodobá, ATB – okamžitě, diverzita !!!

O'Hara AM, Shanah F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO Rep 2006.

Střevní mikrobiota 2

- ☛ Za den **70 – 100 g** dietních reziduí do tlustého střeva, kde jsou využity bakteriemi
- ☛ **Rezidua** – nerozložené cukry (oligo- a polysacharidy = vláknina, rezistentní škrob, laktulóza, laktóza (!)...)
- ☛ Metabolická aktivita bakterií odpovídá metabolické aktivitě jater
- ☛ **Produkce** – SCFA (acetát, propionát, butyrát ...), AAs, polyfenoly, metan, vitaminy K a řady B, CO₂

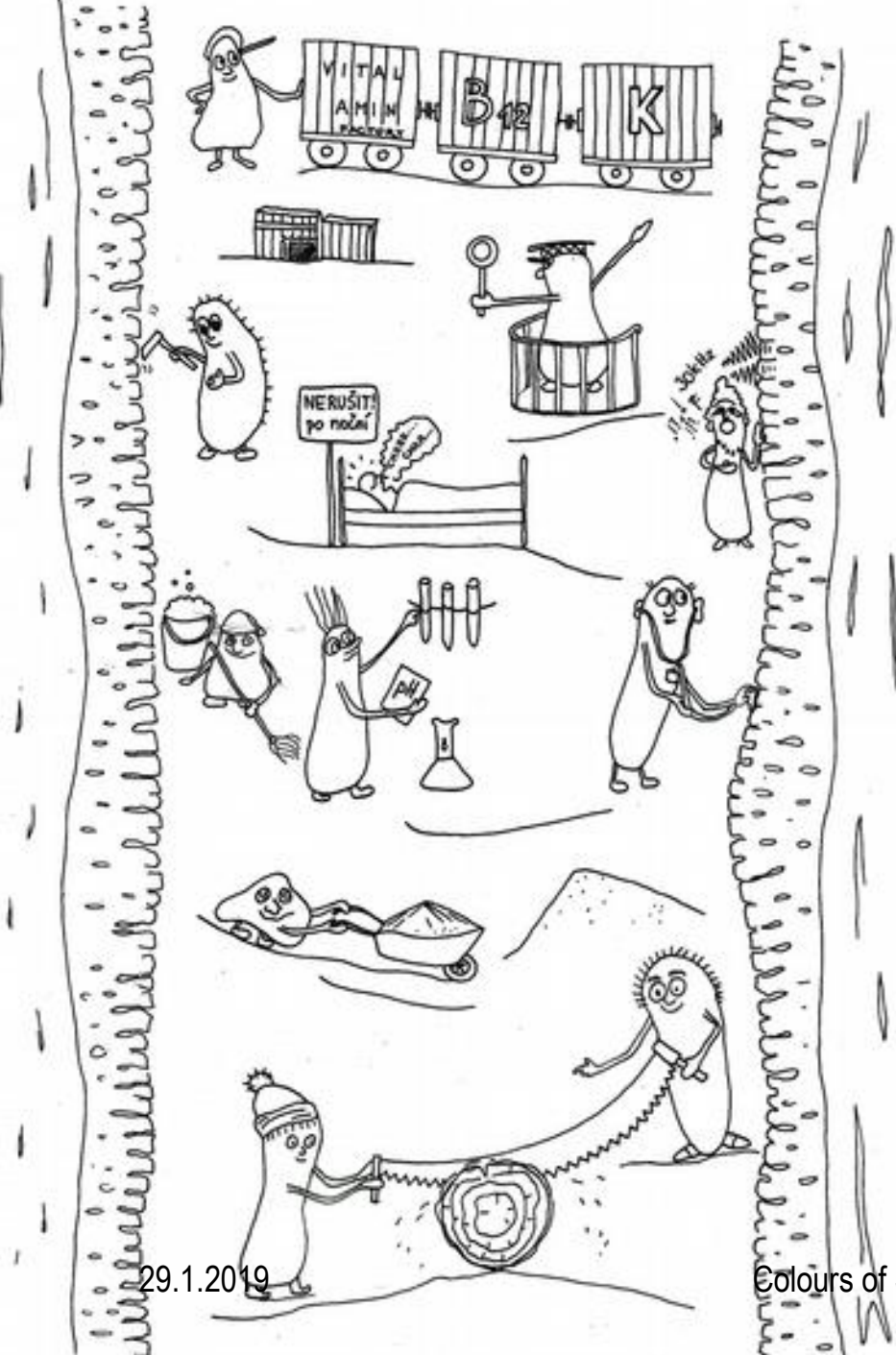
Střevní mikrobiota 3



- ☛ Počet bakterií ve stolici za rok – odpovídá váze člověka
- ☛ V 70 letech váha bakterií v našich exkrementech odpovídá 12 slonům
- ☛ Počet bakterií v naší stolici převyšuje počet lidí, kteří dohromady žili na této planetě



29.1.2019

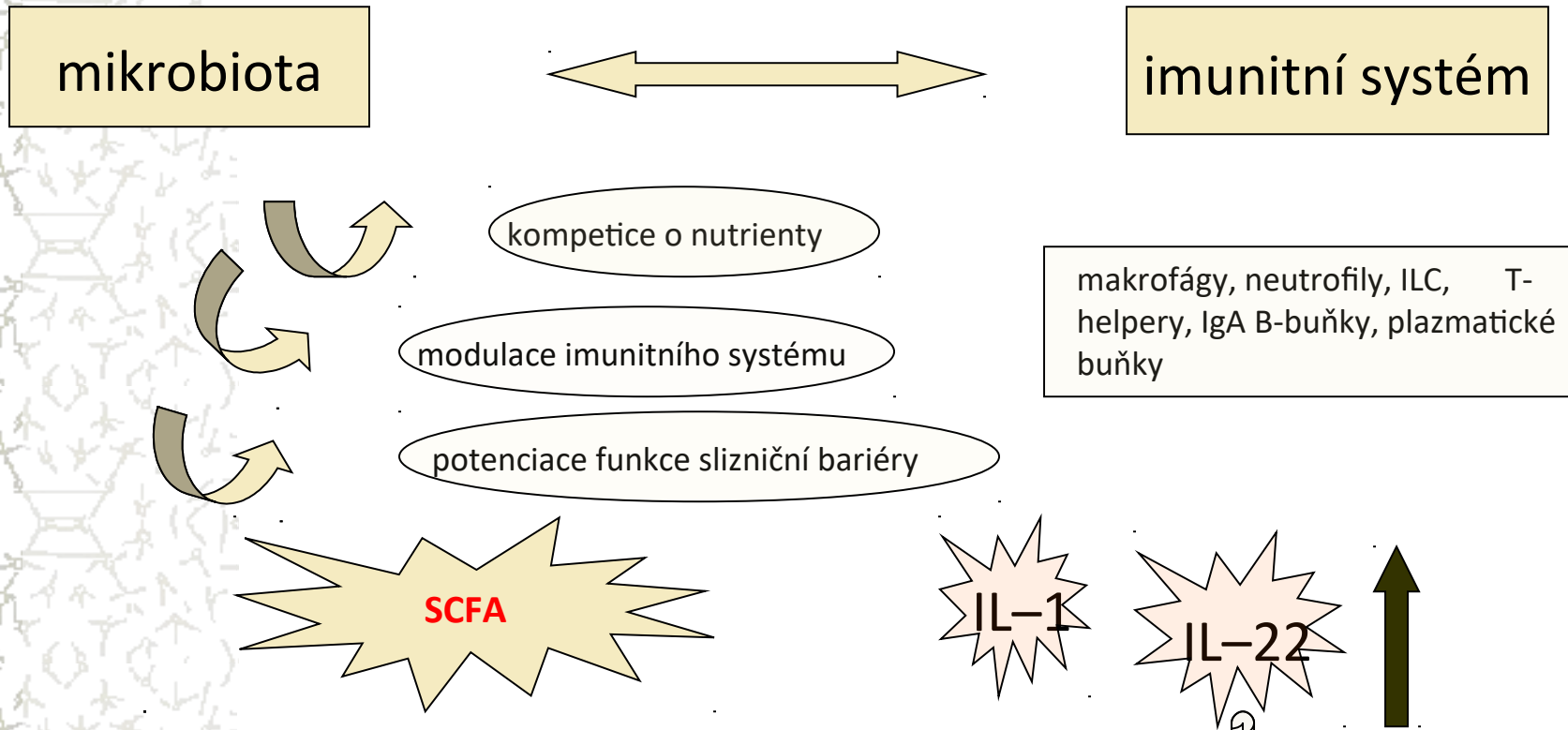
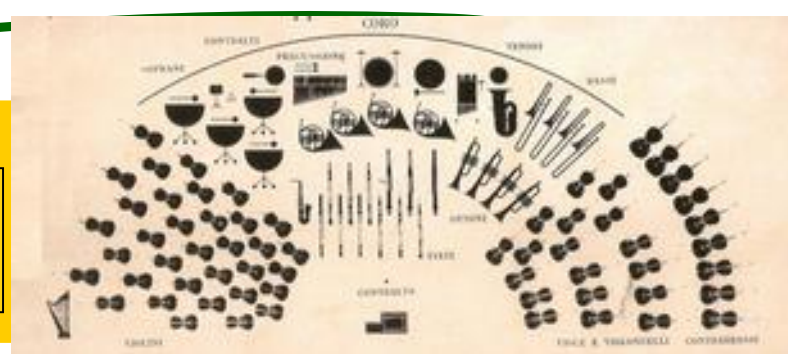


Firmicutes	60%
Bacteroidetes	20%
Actinobacteria	10%
Proteobacteria	1%

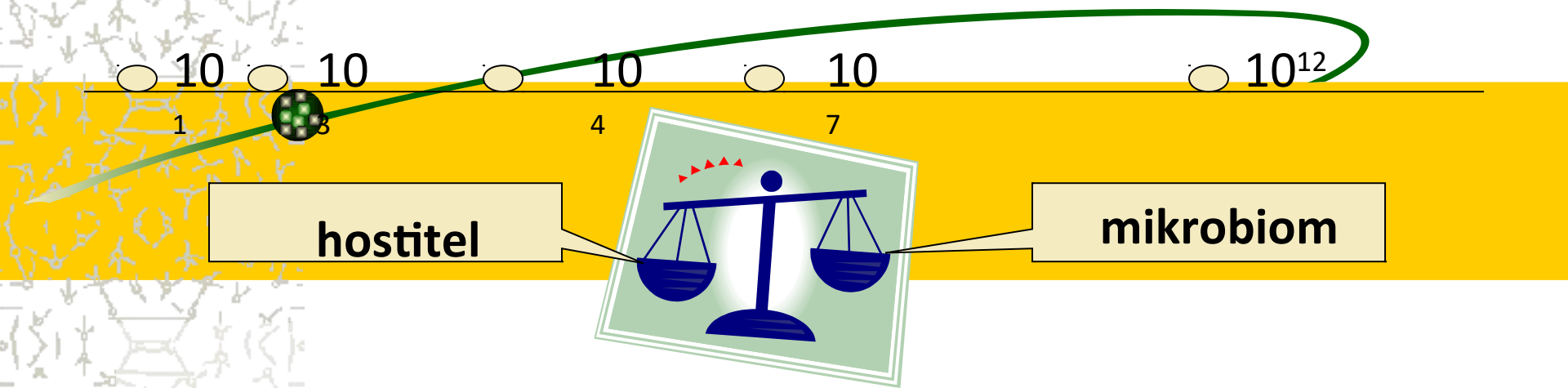
70-80% intestinální mikrobioty běžnými metodami nevykultivováno

<http://www.hmpdacc.org/>
<http://www.metahit.eu/>

Intestinální homeostáza



Kamada et al. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. Nat Rev Immunol. 2013



3 hlavní clustery (ENTEROTYPY)

- fylogenetické a funkční odlišnosti:

enterotyp 1: **Bacteroides**

- sacharolytický a proteolytický potenciál

enterotyp 2: **Prevotella** - degradace mucinu

enterotyp 3: **Ruminococcus** - degradace mucinu

= různé metabolické cesty

ENT 1 a 2: biotin, riboflavin, pantothenát, askorbát, thiamin, folát, kobalamin, menachinon - MK4

Zdroj: Enterotypes of the human gut microbiome, Nature 2011



Souhrn funkcí střevní mikrobioty

- ☀️ metabolismus substrátů
- ☀️ imunomodulace
- ☀️ ovlivnění střevní motility
- ☀️ syntéza vitamínů (biotin, folát....)
- ☀️ enterohepatální oběh žlučových kyselin
- ☀️ metabolismus cholesterolu

Zdroj: Amy E. Foxx-Orenstein, DO, William D. Chey, MD. 2012

dg.	mechanismus	zdroj
Hashimotova thyroiditis	zvýšená střevní permeabilita, Yersinia enterocolitica	Sasso et al. 2004 Strieder et al. 2003
Diabetes mellitus 1. typu	zvýšená střevní permeabilita, alterace mikrobiomu, Th 17, pronikání bakterií do pankreatického duktálního systému	Wen et al. 2008 Vaarala et al. 2008 Korsgren et al. 2012 Hand et al. 2012
Diabetes mellitus 2. typu	zvýšená střevní permeabilita, alterace mikrobiomu	Gummesson et al. 2011 Qin et al. 2012 Vrieze et al. 2012
Celiakie	alterace intestinálního mikrobiomu	Nistal et al. 2012

IBD	30-50% redukce diverzity: CD - Faecalibacterium prausnitzii, UC - Akkermansia muciniphila	Jostins et al. 2012 Sokol et al. 2008
NASH	bakteriální endotoxiny např. Proteobacteria	Marchesi et al. 2010
Ateroskleróza	- hladiny endotoxinů nad 90 percentil = 3x vyšší KV-riziko - DNA Porphyromonas gingivalis v karotickém plátu	Wiedermann et al. 1999 Figuro et al. 2011 Koren et al. 2011
Revmatoidní arthritida	zvýšená střevní permeabilita, alterace mikrobiomu, nárůst Porphyromonas gingivalis	Weber et al. 2003 Scher et al. 2012



Therapeutic Potential of the Gut Microbiota in the Prevention and Treatment of Sepsis

Bastiaan W. Haak^{1*}, *Hallie C. Prescott*^{2,3} and *W. Joost Wiersinga*^{1,4}

¹ Center for Experimental and Molecular Medicine, Amsterdam UMC, Amsterdam Infection & Immunity Institute, University of Amsterdam, Amsterdam, Netherlands, ² Department of Medicine, University of Michigan, Ann Arbor, MI, United States, ³ VA Center for Clinical Management Research, Ann Arbor, MI, United States, ⁴ Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Amsterdam UMC, Amsterdam Infection & Immunity Institute, University of Amsterdam, Amsterdam, Netherlands

✦ Lankelma JM Antibiotic-induced gut microbiota disruption during human endotoxemia: a randomised controlled study. *Gut* 2017

Střevní mikrobiom – sepse

Souvislost poškození střevního mikrobiomu se vznikem sepse pravděpodobná, špatně dokazatelná exaktními metodami

Terapeutické možnosti

- *Prevence poškození ATB* – probiotika, synbiotika
- *Udržení střevní bilance při sepsi* – probiotika, synbiotika
- *Rekonstrukce poškozené mikrobioty sepsí a její léčbou* – probiotika, synbiotika, fekální mikrobiální terapie
- *Dlouhodobé udržení zdravé střevní mikrobioty* – probiotika, synbiotika

Probiotický koncept – renesance ?

- ✚ **Renezance** – 80.léta 20.století
- ✚ **Medline** – databáze – 20203 odkazů na téma probiotika
28.1.2019.
- ✚ Úspěšné vědecké práce – léčba a prevence různých chorob a
chorobných stavů
- ✚ Boom vědeckých prací, boom komerčních přípravků
- ✚ **Výzkum** – účinnost jednotlivých kmenů
- ✚ Snaha **definovat mikrobiální kmeny** – mapování DNA, účinku
léčby

Současné oblasti užívání probiotik

- ☀️ Prevence a léčba **dysmikrobií po léčbě antibiotiky (POSTUP LEGE ARTIS)**
- ☀️ Průjem, zácpa, dyspepsie, IBS – syndrom dráždivého tračníku
- ☀️ Cestovatelský průjem
- ☀️ Eradikace *Helicobacter pylori*
- ☀️ Udržovací léčba idiopatických střevních zánětů, prevence pouchitidy
- ☀️ Zlepšení **imunologické odpovědi** organismu (chronické respirační infekty, infekce urogenitální oblasti)
- ☀️ Prevence spontánní bakteriální peritonitidy u **Ci hepatis**
- ☀️ **Kriticky nemocní** – udržení střevní bariéry, prevence infikovaných nekrotů u akutní pankreatitidy, polytraumat, stavů po rozsáhlých operacích, komplikací parenterální výživy (zácpa, průjem, bakteriální přerůstání, cholecystolithiasa...)

Potraviny vs. nutraceutika vs.léky

- ☛ **PREBIOTIKA** – obsažena v potravinách, funkčních potravinách, potravinových doplncích i lécích (Laktulóza)
- ☛ **PROBIOTIKA** – obsažena v potravinách, funkčních potravinách, potravinových doplncích i lécích (Mutaflor, Enterol)
- ☛ **SYNBIOTIKA** – obsažena ve funkčních potravinách či potravinových doplncích
- ☛ **ANTIBIOTIKA** – vždy ve formě léků
- ☛ **Fekální mikrobiální terapie** – MZd – je to i není léčivý přípravek

Probiotický koncept vs. plnohodnotná léčba

☛ PROČ PROBIOTIKA VŽDY NEFUNGUJÍ ?

- ☛ Otázka množství bakterií (TURBO PROBIOTIKA 10^{11}) a diverzity (CAVE maximálně 8 kmenů v 1 přípravku)
- ☛ Monokultury x směsná probiotika ?

☛ MOŽNOST ?

- ☛ Fekální transplantace (transplantace stolice, transplantace fekálních bakterií)

SELHÁNÍ STŘEVNÍHO MIKROBIOMU

M. C. Rea and others

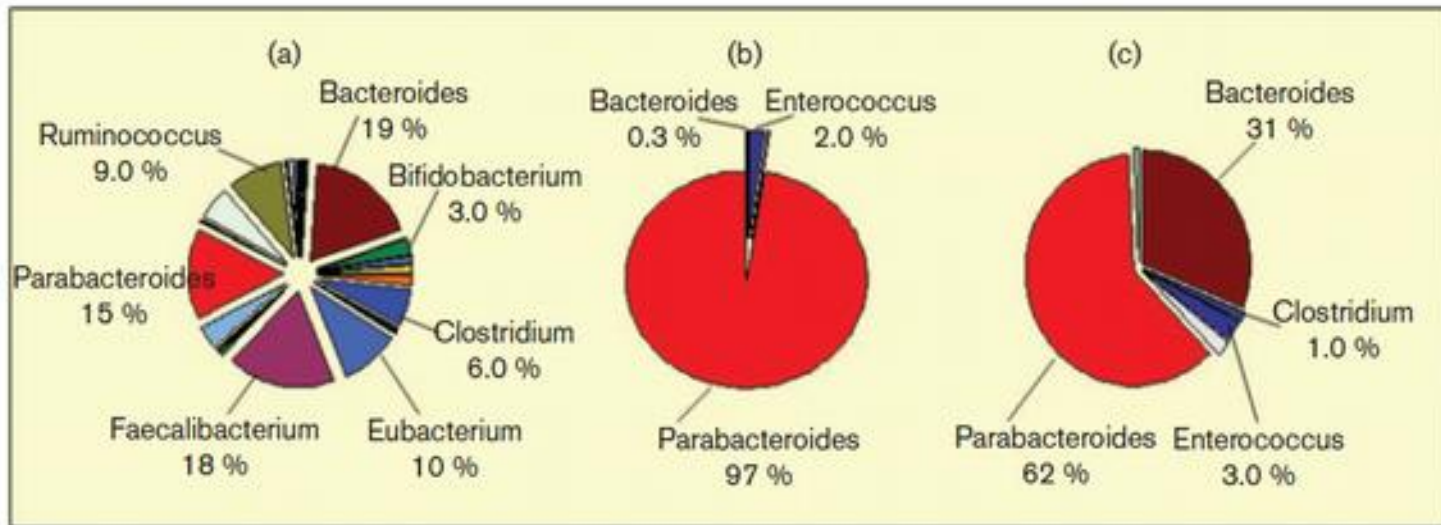


Fig. 3. Genus level diversity of gut communities of three subjects carrying *C. difficile* ribotype 027. (a) Asymptomatic carrier. (b) and (c) Patients with active CDI at the time of sampling. The results are expressed as a percentage of the total population of assigned tags. [Redrawn from Rea *et al.* (2012).]

Zdroj: Journal of Medical Microbiology (2013), 62, 1369–1378.

Postantibiotické dysmikrobie

- ✚ 5 – 30 % případů, 30 % z nich: klostridiové střevní infekce
- ✚ narušení střevní bariéry (mikrobiota tlustého střeva)
- ✚ alterace sacharidového metabolismu a metabolismu žlučových kyselin
- ✚ alergický a toxický mechanismus poškození střevní sliznice
- ✚ farmakologické ovlivnění střevní motility

- ✚ Širokospektrá ATB

Endoskopický obraz těžké pablánové kolitidy



Pseudomembrána, obraz C.diff v el. mikroskopu



29.1.2019

Colours of Sepsis 2019

29

Transplantace stolice

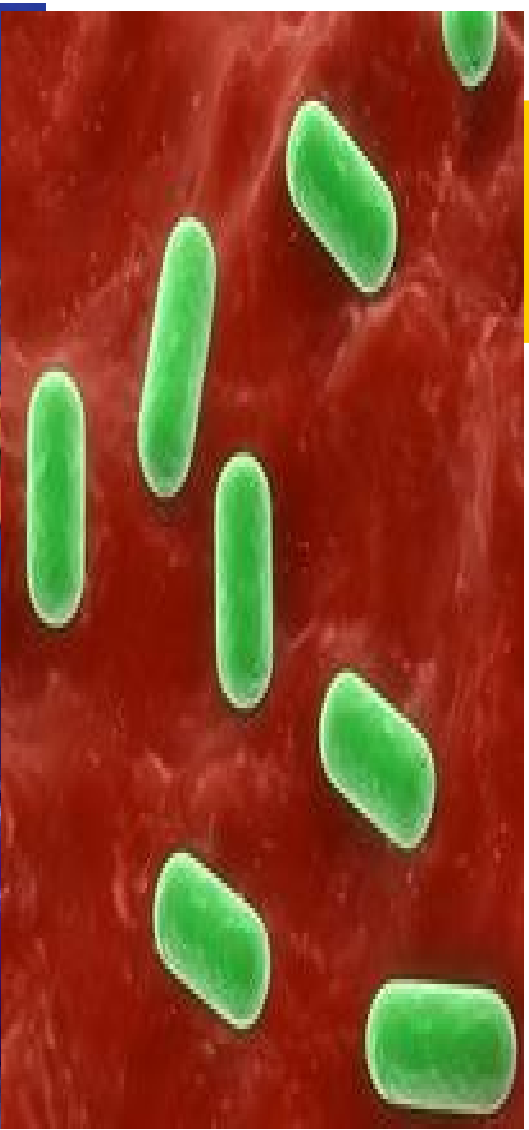
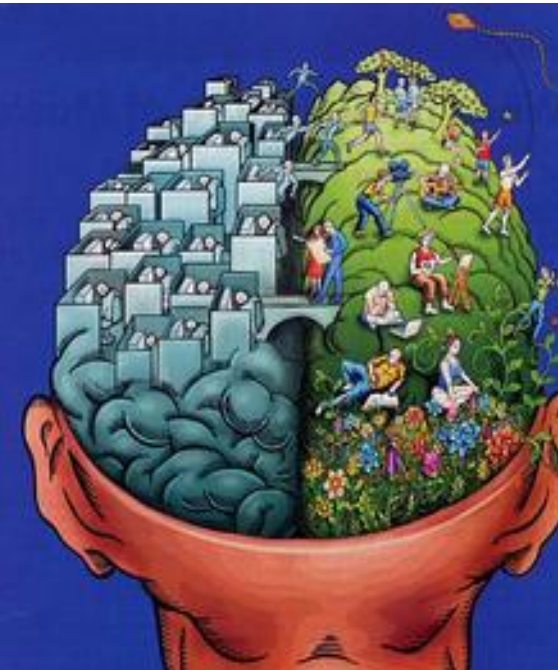
Human Probiotic Infusion(HPI)



- ✿ Aas J, Gessert CE, Bakken JS. Recurrent clostridium difficile colitis: Case series involving 18 patients treated with donor stool administered via a nasogastric tube. Clin Infect Dis. 2003; 36(5):580-585.

A	Gastrointestinální onemocnění
1.	rekurentní klostridiová střevní infekce*
2.	idiopatické střevní záněty, zejména ulcerózní kolitida*
3.	syndrom dráždivého tračníku*
4.	kolorektální karcinom
5.	jaterní encefalopatie
6.	karcinom a lymfom žaludku
7.	cholelitiáza
B	Negastrointestinální onemocnění
1.	sclerosis multiplex*
2.	Parkinsonova choroba*
3.	myoklonická dystonie*
4.	autismus*
5.	chronický únavový syndrom*
6.	fibromyalgie*
7.	astma
8.	atopie
9.	ekzém
10.	obezita
11.	diabetes mellitus a inzulínová rezistence*
12.	hypercholesterolémie
13.	metabolický syndrom*
14.	ischemická choroba srdeční
15.	idiopatická trombocytopenická purpura*

*Literárně dokumentováno zlepšení průběhu onemocnění nebo vyléčení po provedení fekální bakterioterapie.



Brandt LJ, Aroniadis O. Fecal microbiota transplantation: past, present and future. Curr Opin Gastroenterol 2013; 29: 79–84.

FMT u kriticky nemocných

☛ Klostridiová sepse. Toxické megakolon

kasuistiky a malé série,
terapie ultimum refugium – většinou klysmatem

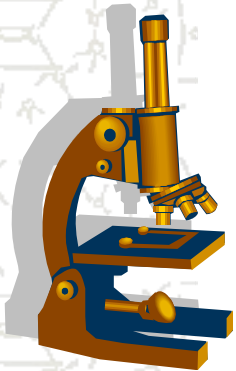
Sepse – CAVE per os !

- ☛ FMT 5 případů v jiné indikaci než CDI
systematická zánětlivá odpověď, susp, podíl dysbiózy

Limketkai BM et al, Nutr Clin Pract 2019

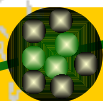


15 000 g stolice



1 500 000 000 000 000 CFU

Možnosti aplikace stolice



- do duodena/jejuna sondou či gastrokopem
- „self-administered“ klyzmata
- Koloskopem do colon ascendens
- klyzma (pouze splenická flexura)



400 Tx: 75 % kolonoskopicky, 25 % NGS nebo NJS, GSK

Homogenizace transplantátu



50 g

4x vyšší riziko
pokud méně
než 50 g

FR, voda,
mléko, jogurt

+ 300 ml FR 1/1



filtrace stolice přes sterilní gázu



Homogenizát





200-500 ml

Přenos transplantátu endoskopem



Závěr

- ☛ **Střevní mikrobiom (resp. jeho poškození)** – možný vyvolávající moment sepse
- ☛ **Probiotický koncept** – správný – prevence dysbiózy a udržení protektivní funkce střevního mikrobiomu – pro- a synbiotika, rekonstrukce střevní mikrobioty – pro-, synbiotika a FMT, prevence recidivy obtíží – pro- synbiotika.
- ☛ Vzhledem ke komplexitě systému – složitý proces
- ☛ **Preparáty s probiotiky** – dostatečné množství mikrobů ?
Dostatečná diverzita ? FMT !!

Děkuji Vám za pozornost



A ještěéééé

29.1.2019

Colours of Sepsis 2019

42