

RESUME

Neisseria meningitidis, je lidský patogen způsobující život ohrožující onemocnění. Tato onemocnění jsou velice závažná a mohou být smrtelná již za několika hodin po manifestaci prvních příznaků.

Proto je nezbytně nutná rychlá diagnóza a okamžité nasazení antibiotik.

Avšak díky zvýšenému výskytu rezistentních bakteriálních kmenů se stává léčba i prevence velmi obtížná, a jsou tedy hledány nové způsoby terapie.

Jedním z nových přístupů může být antiadhesivní terapie využívající glykanů, které zabraňují adhezi bakterií na hostitelské tkáň. Oligosacharidy a glykokonjugáty izolované z kravského a mateřského mléka prokázaly antiadhesivní účinky proti mnoho patogenům, stejně tak i proti *N. meningitidis*.

Tyto komponenty by mohly být tedy využity jako bioaktivní přísada do potravin, a snižovat tak incidenci bakteriálních onemocnění.

Toto využití je však velmi ekonomicky náročné, a jsou tedy hledány jiné zdroje, které by mohly snížit náklady. Takový zdroj představuje syrovátka vznikající jako odpadní produkt při výrobě sýrů. Cílem této práce tedy bylo izolovat oligosacharidy z kravské syrovátky, separovat je na neutrální a acidické a otestovat jejich antiadhesivní účinky.

Pro separaci izolovaných oligosacharidů bylo užito gelové a iontově výměnné chromatografie. Schopnost oligosacharidů zabránit adhezi *N. meningitidis* byla studována inhibičním testem využívajícího preinkubaci izolovaných a biotinem značených neisserialních pili s izolovanými oligosacharidy, jejichž koncentrace byla postupně snižována.

Testování bylo prováděno na mikrotitračních destičkách s imobilizovaným thyroglobulinem jako referenčním vazebným glykoproteinem neisserialních pili a preinkubovanou směsí oligosacharidů s pili. Inhibiční aktivita byla určena enzymatickou reakcí se streptavidin-POD konjugátem a měřením absorbance.

Bylo předpokládáno, že oligosacharidy izolované ze syrovátky budou mít stejné účinky jako oligosacharidy kravského mléka. Acidické oligosacharidy však neprokázaly žádnou inhibici.

Neopomenutelným faktem při jejich testování byla malá vazebná aktivita použitých pili. Neutrální oligosacharidy vykazovaly inhibici pouze při nízkých koncentracích.

Tento rozdíl v antiadhesivní aktivitě od oligosacharidů izolovaných z mléka může být způsobem jejich původem, tedy syrovátkou. Předtím, než je z mléka separována syrovátka, je ošetřeno varem, bakteriálními kulturami, syřidlem a jinými přísadami. To vše může ovlivnit vlastnosti a složení komponent syrovátky, což se může odrazit i v jejich biologické aktivitě.

Výsledky této práce nedávají jednoznačné závěry o antiadhesivní aktivitě oligosacharidů syrovátky, přestože neutrální oligosacharidy vykazovaly inhibiční efekt, který je dobrým příslibem do budoucna.

Předtím než bude syrovátka využívána jako nové antiinfektivum, je nutné provést více komplexních studií antiadhesivní aktivity jejich oligosacharidů a glykokonjugátů.