

Principy hodnocení účinnosti a bezpečnosti probiotik a charakteristika registrovaných doplňků stravy s obsahem probiotik a prebiotik

RNDr. Vladimír Špelina, CSc., Ing. Daniela Winklerová

Státní zdravotní ústav Praha

Článek pojednává o probiotických mikroorganizmech v potravinách včetně doplňků stravy, jimž je v posledních letech věnována vzrůstající pozornost vědeckých kruhů, spotřebitelů a výrobců potravin. Tento zájem vychází z poznatků, že cílené používání mikroorganismů s vhodnými vlastnostmi může mít příznivé účinky na lidské zdraví. Prospěšné působení probiotik, zejména jejich potenciální schopnost imunomodulace, je prokazováno v řadě studií, přesto však není vždy jednoznačné. Proto vznikají nově definovaná pravidla a podmínky jak pro hodnocení účinnosti mikroorganismů cíleně přidávaných do potravin, tak pro oprávněnost zdravotních tvrzení tuto účinnost deklarujících. Současně je nezbytné posuzovat bezpečnost těchto mikroorganismů, a to způsobem, který stanoví jednotný postup a vezme do úvahy všechna potřebná kritéria.

Klíčová slova: probiotika, hodnocení, účinky, bezpečnost, doplňky stravy.

Principles of benefit and safety evaluation of probiotics and characterization of registered food supplements containing probiotics and prebiotics

The paper deals with probiotic microorganisms in foods including food supplements which are in increasing focus of scientists, consumers and food producers during last years. This interest arises from knowledge that intentional use of microorganisms with certain characteristics may provide beneficial effects on human health. Effects of probiotics, especially their potential of immunomodulation, have been shown in many studies, though not always confirmed explicitly. Therefore, new rules for evaluation of the effects of probiotics as well as for justification of health claims are being settled. At the same time the assessment of safety of relevant microorganisms which would consider all necessary criteria is needed and developed.

Key words: probiotics, assessment, effects, safety, food supplements.

Pediatr. pro Praxi 2009; 10(4): 247–250

Úvod

Podle všeobecně přijímané definice je *probiotikum* živá mikrobiální součást potraviny, která při konzumaci dostatečného množství vykazuje příznivé účinky na zdraví konzumenta. Z toho vyplývá, že potraviny obsahující probiotické bakterie (a případně také prebiotika) jsou často zařazovány mezi tzv. funkční potraviny (1). *Prebiotikum* pak je definováno jako nestavitelná složka potraviny, která selektivně stimuluje růst a/nebo modifikuje metabolickou aktivitu jednoho nebo více bakteriálních druhů ve střevě a tak zlepšuje zdraví hostitele. Probiotické mikroorganismy jsou nejčastěji používány jako doplňky stravy nebo jako součást specifických mléčných výrobků, v posledních letech také jako součást kojenecké a dětské výživy. V případě doplňků stravy jde nejčastěji o lyofilizované kultury, které mohou sestávat z jednoho nebo více druhů probiotických bakterií a které jsou samostatně nebo s dalšími látkami vyráběny ve formě kapslí, tobolek, tablet, dražé. Zakysané mléčné výrobky s obsahem probiotické mikroflóry bývají nejčastěji vyráběny jako speciální nápoje a jogurty a jejich různé formy (jogurtové nápoje, krémy, dezerty aj.), mléčná a cereální

dětská výživa jsou dodávány jako dehydrované produkty. Existují i méně typické případy spojení probiotických bakterií s potravinami. Na trhu se např. vyskytují oplatky s náplní obohacenou o bifidobakterie, trvanlivé masné výrobky, u nichž se však většinou jedná o startovací kultury.

Příznivé účinky probiotik na zdraví

Mezi nejuznávanějšími příznivými účinky probiotik na lidské zdraví jsou schopnosti imunomodulační (2). Místem, kde probiotika působí, je střevní trakt. Střevní sliznice představuje důležitou bariéru mezi vnitřním prostředím a velkým množstvím cizorodých složek (potravinových antigenů, patogenních mikroorganismů apod.), které přicházejí do střeva s potravou. Důležitou součástí střevní bariéry je, vedle střevního epitelu s vrstvou ochranného hlenu a vedle imunitního systému střevní sliznice, také střevní mikroflóra. Střevní mikroflóra má důležitou úlohu při ochraně proti kolonizaci střevní sliznice patogenními mikroorganismy a dále hraje významnou úlohu v navození správné funkce imunitního systému střevní sliznice (GALT – Gut Associated Lymphoid Tissue). Projevem správné funkce je mimo jiné

navození tzv. orální tolerance. Jde o jev, který zajišťuje toleranci, to znamená nereaktivnost střevní a humorální imunity na imunogenní složky potravy. V rámci orální tolerance dokáže střevní imunitní systém rozpoznat prospěšnou střevní mikroflóru od mikroorganismů vyvolávajících onemocnění. Narušením rovnováhy mezi imunitní reakcí a imunitní tolerancí dochází k rozvoji řady onemocnění infekčních, alergických a autoimunitních. Mikrobiální kolonizace střeva začíná při narození a je ovlivněna vnějšími faktory. Např. kojení podporuje růst bifidobakterií, které jsou důležité pro správnou funkci střevní bariéry, zatímco při náhradní výživě se vytváří komplexnější mikroflóra s menším zastoupením bifidobakterií. Střevní mikroflóra tak má klíčovou úlohu při vytváření funkčního imunitního systému.

Zdravotní účinky probiotik jsou často přičítány prospěšnému vlivu právě na střevní mikroflóru a slizniční i systémovou imunitu. Účinky probiotik na imunitní systém byly pozorovány v *in vitro* studiích, na zvířecích modelech a v klinických studiích. Konkrétní oznámené případy u lidí se týkaly zkrácení doby či zmírnění příznaků onemocnění (3):

- průjem spojený s podáváním antibiotik
- gastroenteritida spojená s infekcí rotaviry
- laktózová intolerance
- ulcerózní kolitida
- Crohnova nemoc
- infekce *Helicobacter pylori*
- atopická dermatitida
- potravinová alergie

Mezi nespecifické imunitní účinky probiotik lze počítat celkové zvýšení odolnosti organismu, které může být výsledkem kompetice mezi probiotickými a patogenními bakteriemi v místě adherence na střevní sliznici a produkce tzv. bakteriocinů. Některé probiotické kmeny také mohou stimulovat buněčnou imunitu, jak naznačuje analýza produkovaných cytokinů, dále byla pozorována zvýšená fagocytóza a aktivita buněk tzv. přirozených zabíječů (natural killer – NK buňky).

Podmínky působení

Probiotické bakterie nekolonizují střevo natrvalo, ale jen dočasně a většinou jsou detekovatelné jen po dobu přijímání potravin s probiotiky. Aby vůbec do svého cíle dorazily, je třeba splnění celé řady důležitých okolností a podmínek, včetně vlastností mikro- a makroorganismu:

- K dosažení potřebné koncentrace probiotických bakterií ve střevě (udává se množství vyšší než $10^5/\text{g}$ v tenkém střevě a $10^8/\text{g}$ v tlustém střevě) je nutné, aby denzita těchto bakterií v konzumované potravíně nebo doplňku stravy činila 10^{10} . Avšak přežití v gastrointestinálním traktu samo o sobě neimplikuje vznik prospěšných účinků a naopak nepřetržitá neznámená automaticky absenci takových účinků.
- Probiotické bakterie musí být odolné k působení žaludeční kyselosti (vlastnost kmenů nebo způsob podání, např. v kapslích nebo spolu se stravou s velkou pufovací kapacitou).
- Probiotické bakterie musí být odolné k působení žlučových kyselin a pankreatických šťáv.
- Schopnost kolonizace střeva a imunomodulace je vázána na vlastnosti určitého kmene a nemůže být extrapolována na jiné kmeny, byť téhož bakteriálního druhu.

Příznivé účinky prebiotik na zdraví

Prebiotiky jsou většinou fruktooligosacharidy (např. inulin) nebo vláknina (jen podle některých odborníků), které podporují růst a metabo-

lickou aktivitu probiotických a nikoli ostatních střevních bakterií a tím zvyšují jejich prospěšné účinky. Tím, že např. inulin je specificky využíván bifidobakteriemi, hovoří se o tzv. bifidogenním efektu, jenž však dosud nebyl zcela přesvědčivě demonstrován v klinických studiích.

Hodnocení účinnosti probiotik

Deklarace příznivých zdravotních účinků probiotik jsou jejich výrobci často poněkud přehnané přesto, že literární údaje jsou v některých případech protichůdné nebo nepotvrzené, výsledky studií na zvířatech jsou neoprávněně extrapolovány na lidskou populaci nebo jsou stejné účinky připisovány stejnému bakteriálnímu druhu, aniž by byla zohledněna specifická vlastností kmenů probiotických bakterií. Proto vznikla potřeba systematického přístupu k hodnocení probiotických organismů, resp. potravin je obsahujících a sdruženou expertní pracovní skupinou FAO/WHO byla vypracována směrnice Pokyny pro hodnocení probiotik v potravinách (4).

Podle vypracovaného postupu musí být nejprve identifikován fenotyp a genotyp probiotického kmene (druhu a rodu) a organismus má být začleněn do uznávané mezinárodní sbírky kultur. Poté se provede hodnocení účinnosti (a bezpečnosti) a funkční charakterizace v *in vitro* testech a studiích na zvířatech. *In vitro* testy mohou sloužit k získání znalostí např. o adherenci k liniím buněk střevní sliznice nebo schopnosti redukovat adherenci patogenů. Účinky *in vitro* je vhodné potvrdit na zvířecích modelech. Dále mají následovat standardní klinické zkoušky (dvojitě zaslepené, placebem kontrolované, s náhodným výběrem testovaných – DBPC studie), pokud možno potvrzené druhou nezávislou studií. Je-li požadováno tvrzení o schopnosti probiotika ovlivňovat konkrétní onemocnění, provede se porovnání účinku probiotika s obvyklým léčebným postupem.

Způsob prokazování prospěšných účinků na zdraví podle uvedené směrnice doporučuje mj. Mezinárodní vědecká asociace pro probiotika a prebiotika (ISAPP) a Evropská asociace pro kultury do potravin a krmiv (EFFCA) (5, 6).

Principiálním výsledkem studií účinnosti probiotika mají být prokázané prospěšné účinky, jako jsou statisticky a biologicky významné zlepšení stavu, symptomů, příznaků, pohody a kvality života, snížení rizika onemocnění, rychlejší uzdravení, a to v prokázané korelaci s testovaným probiotikem. Doporučena je publikace získaných výsledků v uznávaných vědeckých nebo lékařských časopisech.

Hodnocení bezpečnosti probiotických mikroorganismů

V Evropě pracovní skupina sestavená z členů evropského Vědeckého výboru pro potraviny, Vědeckého výboru pro výživu zvířat a Vědeckého výboru pro rostliny vypracovala obecně použitelný postup k hodnocení bezpečnosti mikroorganismů používaných v potravinách (a krmivech) (7, 8). Jde o systém posuzování, který by umožnil „kvalifikovaný předpoklad bezpečnosti“ (Qualified presumption of safety – QPS).

Schéma postupu pro udělení (nebo neudělení) statutu QPS:

- Identifikace mikroba na požadované taxonomické úrovni (rod, druh, kmen).
- Stupeň obeznámenosti (familiarity), tj. praktické zkušenosti z používání předmětného mikroorganismu pro určité účely již v minulosti.
- U organismů běžně nepoužívaných nebo nemajících delší historii je třeba získat genetická data, biochemické charakteristiky a údaje o patogenitě. Jedná-li se o taxonomickou skupinu s patogenními vlastnostmi, status QPS nelze udělit. Je-li však patogenita vázána pouze na určité kmeny nebo se projevuje jen za extrémních podmínek, lze v postupu dále pokračovat.
- Živý organismus bude součástí finálního produktu a bude konzumován nebo je použit pro výrobu fermentačního produktu (metabolitu), který má být prost živých organismů.
- Živé mikroorganismy vstupující do potravy člověka nemají mít získanou rezistenci na antibiotika (tento požadavek byl na základě došlých připomínek značně relativizován).
- Posuzované organismy nemají mít schopnost produkovat antibiotika podobná těm, která jsou používána v humánní a veterinární medicíně.
- Bakterie z taxonomických skupin se známou produkcí toxinů mají mít prokázanou neschopnost takové produkce.

V USA je obecně látkám, jejichž bezpečné používání vyplývá z historické zkušenosti, udělován status GRAS (Generally regarded as safe). Posuzování neprovádí federální úřad pro potraviny a léky (FDA), ale kvalifikovaní experti se zkušeností v hodnocení bezpečnosti, kteří se na výsledku posuzování musí shodnout.

Zdravotní tvrzení a značení

Deklarování příznivých účinků na zdraví konzumentů, tj. tzv. zdravotní tvrzení, je nyní

v Evropě regulováno (9). Cílem tohoto nařízení je zajistit, aby u látek, které jsou předmětem tvrzení, bylo skutečně vědecky prokázáno, že mají příznivý výživový nebo fyziologický účinek. Dalším cílem je zajistit srozumitelnost těchto tvrzení a ochránit spotřebitele před klamavými tvrzeními. V současné době jednotlivá tvrzení předložená členskými státy posuzuje Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA). Výsledkem bude seznam povolených tvrzení ve vztahu k určité živině nebo složce. O každé nové tvrzení neuvedené v seznamu bude muset výrobce nově žádat (EFSA) o schválení.

Pokud výrobce chce uvádět zdravotní tvrzení na potravinách určených pro kojence nebo děti, platí pro něj zvláštní pravidla a musí vždy požádat o schválení EFSA. Předpokladem schválení tvrzení týkajících se zdraví a vývoje dětí je doložení kvalitních vědeckých studií, které příslušná tvrzení podporují.

Probiotika registrovaná jako doplňky stravy

V ČR jsou na základě posouzení bezpečnosti doplňků stravy Státním zdravotním ústavem (pokud si výrobce nebo dovozce takové posouzení vyžádá) nebo na základě notifikace těchto subjektů MZd ČR (předložení etikety a oznámení o uvedení na trh) doplňky stravy registrovány v databázi RoHy – Registru hlavního hygienika, která je zčásti přístupná veřejnosti (10). V současné době je registrováno více než 100 druhů doplňků stravy s obsahem probiotik a prebiotik, přičemž asi 40 % obsahuje obě skupiny současně. Obsah mikroorganismů je vyjadřován obvykle jako 10ⁿ v jedné tobolce/kapsli nebo v denní dávce, což považujeme jako způsob vyjádření za vhodný. Nevhodným způsobem je vyjádření obsahu probiotických mikroorganismů jako % hmotnostní podíl nebo absolutní obsah v hmotnostních jednotkách (nejčastěji mg). Deklarovaná množství mikroorganismů se pohybují v rozpětí řádů 10⁷ (což je vzhledem k výše uvedenému evidentně nedostatečné množství) až 10¹⁰. Nejužívanější formou jsou kapsle/tobolky, dále dražé, žvýkácké tablety, jen výjimečně se jedná o práškovité formy nebo roztoky (suspenze). Pokud jde o zastoupení mikroorganismů v registrovaných doplňcích stravy, bylo zjištěno toto pořadí četnosti: *Lactobacillus acidophilus* (73 %), *Bifidobacterium bifidum* (40 %),

Tabulka 1. Ověření životaschopnosti probiotických mikroorganismů v doplňcích stravy

Počet vzorků	Deklarované množství	Zjištěné množství	Exspirace ¹⁾ (měsíce)
3	1 až 4 × 10 ⁹	< 50	-18 až -6
4	5 × 10 ⁹ až 1 × 10 ¹⁰	< 50	+4 až +8
1	1 × 10 ¹⁰	2 × 10 ²	+8
1	3 × 10 ⁹	3 × 10 ⁷	+10
4	3 × 10 ⁹ až 1 × 10 ¹⁰	1 × 10 ⁹ až 2 × 10 ⁹	+15 až +18

¹⁾ Při expiraci 24 měsíců: – expirace prošla o udaný počet měsíců; + udaný počet měsíců zbývá do uplynutí doby expirace

L. rhamnosus, *L. casei*, *B. longum*, *L. plantarum*, *L. lactis* (15 %). U méně než 10 % výrobků byly zastoupeny *Streptococcus thermophilus*, *L. fermenti*, *L. helveticus*, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces boulardii*, *B. infantis*, *B. lactis*, *Bacillus subtilis* a ojedinelé pak řada dalších rodů, resp. druhů bakterií a kvasinek.

Ověřování účinnosti deklarovaných příznivých účinků na zdraví nebo obecně zdravotních tvrzení není součástí posuzování. Přesto jsme u malého počtu doplňků stravy s probiotiky provedli namátkové ověření množství živých laktobacilů a porovnali zjištěné výsledky s výrobcem/dovozcem deklarovaným množstvím a dobou expirace, resp. fází, ve které se výrobek v době zkoušení nacházel. Výsledky uvádí tabulka 1.

Z těchto nečetných výsledků nelze vyvozovat jednoznačné závěry, avšak je zřejmé, že životaschopnost bakterií v běžných formách doplňků stravy během deklarované doby minimální trvanlivosti (většinou 24 měsíců) poměrně rychle klesá na hodnoty, kdy již požadované účinky nelze předpokládat – viz množství živých bakterií v produktech, kdy do konce doby trvanlivosti zbývají ještě 4 až 10 měsíců. Nejméně vhodnou formou se z tohoto hlediska jeví tablety. Toto naše dílčí zjištění je v souladu s řadou dalších zjištění z různých zdrojů poukazujících na poměrně podstatné odchylky:

- počet živých mikrobů, zejména ke konci doby trvanlivosti, je v mnoha případech nižší než deklarovaný
- mikroorganismy nejsou pojmenovány v souladu s platnou vědeckou nomenklaturou
- tvrzení o účinnosti produktu nejsou adekvátně odůvodněna
- termín „probiotický“ je užíván neoprávněně, tj. i v případech, kdy není žádný záznam o příznivých účincích na lidské zdraví.

Závěr

Probiotické mikroorganismy mohou mít za splnění určitých podmínek příznivé účinky na lidské zdraví, zejména při vytváření správné funkce imunitního systému. Hodnocení jejich účinků v dané potravíně včetně doplňků stravy je třeba náležitě prokazovat a použité mikroorganismy musí být bezpečné. Deklarování zdravotních tvrzení je nezbytné opírat o vědecky řádně podložená a správným způsobem získaná data.

Literatura

1. Concepts of functional foods, ILSI Europe concise monograph series, 2002.
2. Effects of probiotics and prebiotics on flora and immunity in adults, AFSSA, 2005.
3. Immunomodulation by probiotics: efficacy and safety evaluation, RIVM Report 340320003, 2005.
4. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Report of a Joint FAO/WHO Working Group, 2002.
5. Establishing Standards for Probiotic Products: ISAPP's Role, 2005.
6. EFFCA Guidelines for Probiotics in Food and Dietary Supplements.
7. Qualified Presumption of Safety of Micro-organisms in Food and Feed, EFSA Scientific Colloquium Summary Report, 2004.
8. On a generic approach to the safety assessment of micro-organisms used in feed/food and feed/food production, DG SANCO (EK), 2003.
9. Nařízení EP a R č. 1924/2006 o výživových a zdravotních tvrzeních při označování potravin.
10. <http://snzr.ksrzis.cz>.

RNDr. Vladimír Špelina, CSc.
Státní zdravotní ústav
Šrobárova 48, 110 00 Praha 10
vspel@szu.cz

