

## VÝZKUM PROBIOTICKÝCH MIKROORGANISMŮ A JEJICH VLIV NA LIDSKÝ ORGANISMUS

Drbohlav Jan, Šalaková Alexandra, Pechačová Marta,  
Peroutková Jitka

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o. Praha

### Research of probiotic microorganisms and their influence on human organism

#### Abstrakt

Mléko, zejména fermentované, je potravina s celou řadou významných zdravotních a nutričních vlastností. Optimální je použití probiotických kvasových kultur, které mají preventivní, ale i ochranné schopnosti v působnosti na lidské zdraví. Tato problematika je již po několik let řešena v rámci výzkumného záměru MŠM 2672286101. V této etapě byla pozornost zaměřena na kmen *Enterococcus faecium* CCDM 922. Naším cílem bylo prověřit laboratorně ověřené probiotické vlastnosti tohoto kmene a dalších vybraných zástupců kmenů bakterií mléčného kvašení v podmínkách in vivo formou metabolického testu a tak navázat na klinickou studii konanou Státním zdravotním ústavem v Praze.

#### Abstract

Milk, especially fermented milk, is a food with many important health and nutritive properties. Application of probiotic starter cultures with preventive and protective properties on human health is optimal. This issue question is solved as the subject of the research project MŠM 2672286101 already several years. Attention was paid to stage CCDM 922 strain of *Enterococcus faecium* in this period. Our aim was to examine the laboratory verified probiotic properties of this strain and other selected strains by a metabolic test under in vivo conditions. Thus continue the clinical studies performed by the National Institute of Public Health in Prague.

#### Úvod

Problematické aplikace a zdravotního vlivu kmenu *Enterococcus faecium* je věnována pozornost v celé řadě lékařských randomizovaných dvojité zaslepených studií.

Jednou z nich je lékařská studie zabývající se výzkumem vlivu podání bifidobakterií, bakterií mléčného kvašení a *E. faecium* per os na kolonizaci jejunu. Vzorky z jejunu a vzorky feces byly mikrobiologicky vyšetřeny (Nielsen, Jorgensen, Pedersen, Justesen, 1994). Vzorky obsahující *E. faecium* a *B. longum* významně redukovaly anaerobní mikroorganismy. Studie ukazuje, že podání určitých

bakteriálních kultur může ovlivnit distální střevní mikroflóru.

Stále jsou diskutovány potenciální benefity mléka a fermentovaných mléčných výrobků na hladinu lipoproteinů. Agerbaek, Gerdes, Richelsen (1995) se zaměřili na sledování vlivu podávání menší denní dávky biologicky fermentovaného mléčného výrobku, který obsahoval *Enterococcus faecium* a dva kmeny *Streptococcus thermophilus*. Po 6 týdnech byl cholesterol redukován významně ve skupině biologicky fermentovaného mléka (-0,37 mmol/l), zatímco v placebové skupině nebylo možno pozorovat žádné změny (-0,02 mmol/l). Tato redukce cholesterolu se může kompletně připsat snížení LDL-cholesterolu, zatímco HDL-cholesterol a triglycerid byly beze změny v obou skupinách. Tato krátká studie (6 týdnů) demonstrovala vliv nového fermentovaného mléčného výrobku na snížení LDL-cholesterolu (10 % redukce).

Dlouhodobý vliv podávání *Enterococcus faecium* a dvou kmenů *Streptococcus thermophilus* v mléčném fermentovaném výrobku na úroveň plazmových lipoproteinů byl sledován ve studii (Richelsen, Kristensen, Pedersen, 1996), která trvala 6 měsíců a účastnilo se jí 87 neobézních žen a mužů ve věku 50-70 let s normální hladinou cholesterolu. Mléčný produkt obsahující *Enterococcus faecium* i placebo (chemicky fermentované mléko) byl podáván denně v dávce 200 ml. Bylo zjištěno, že se celkový a LDL-cholesterol významně redukoval ve skupině, která konzumovala fermentované mléko ve srovnání s placebovou skupinou, LDL-cholesterol byl redukován o 0,21 mmol/l. Maximální redukce bylo dosaženo po 3 měsících, kdy se hodnota snížila o 0,32 mmol/l. V placebové skupině byl pozorován postupný úbytek celkového a LDL-cholesterolu. Po šesti měsících byl stejný úbytek LDL-cholesterolu v obou skupinách. Během studie nebyl pozorován žádný vliv na HDL-cholesterol a triglyceridy. Žádné rozdíly nebyly pozorovány mezi ženami a muži. Závěrem bylo konstatováno, že fermentovaný mléčný výrobek způsobil rychlou redukci LDL-cholesterolu po podávání výrobku po dobu 1 měsíce, ale dlouhodobý příjem měl podobný vliv jako příjem placebového mléčného produktu. Bylo konstatováno, že nízkotučné mléko a fermentovaný mléčný výrobek mají stejný hypocholesterolický vliv.

Mléčné bakterie LAB v potravinách mohou kolonizovat střeva a vykazovat zdravotní benefity. To zahrnuje: 1) Štěpení laktózy, zlepšení stavu průjmových onemocnění včetně cestovatelského průjmu, profylaxe střevních a urogenitálních infekcí tj. obnovení a rekonstrukce vyvážené mikroflóry. 2) Inhibice mutagenity ve střevním obsahu a redukce výskytu střevních nádorů. 3) Imunomodulační efekty vedou ke zlepšení hostitelovy rezistence. 4) Snížení hladiny sérového cholesterolu. Tyto efekty byly pozorovány na skupině dospělých, kterým byl podáván lyofilizovaný kmen *Enterococcus faecium* M-74 ve formě vafli (Dr. Ebi) během devíti týdnů (Ferenčík, Ebringer, Mikes, Jahnová, Ciznár, 1999). Sledovaná bakterie kolonizovala střeva a střevní sekrety hostitele a toto bylo pozorováno ve stolici i po 6 týdnech po podání poslední

dávky. Průměrná aktivita beta-D-glucuronidázy ve stolici subjektů, kterým byly podávány vafle s enterokoky, byla redukována ve srovnání se stolicemi subjektů s placebem.

Některé fermentované mléčné produkty mohou mít vliv na úroveň cholesterolu v plasmě. V práci (Agerholm-Larsen, Bell, Grunwald, Astrup, 2000) byl sledován vliv jogurtového výrobku Gaio, který byl fermentován *Enterococem faecium* (humánní druh) s předpokládaným efektem na snižování cholesterolu a dvěma kmeny *Streptococcus thermophilus*. Šest provedených studií bylo podrobeno statistické analýze. Tato meta-analýza krátkodobých studií ukázala, že fermentovaný jogurtový produkt o 4 % snížil celkový cholesterol a o 5 % snížil LDL-cholesterol.

Objev, že hypercholesterolemie hraje důležitou roli v rozvoji aterosklerózy, vedl k celé řadě farmakologických a nefarmakologických (včetně dietetických) přístupů k její eliminaci. Do randomizované studie (Hlivak, Odraska, Ferencik, Ebringer, Jahnova, Mikes, 2005) bylo zapojeno 43 dobrovolníků. Studie trvala 60 týdnů. Periferní krev byla analyzována z hlediska lipidových parametrů před podáváním a po 6, 12, 33, 44 a 56 týdnech podávání kapslí a čtyři týdny po ukončení podání. V této studii se podávání *E. faecia* M-74 projevilo redukcí koncentrace cholesterolu v séru o 12 % po 56 týdnech.

Jiná studie se zabývá sledováním vlivu nových fermentovaných výrobků ze sojového mléka na úroveň sérových lipidů u dospělých mužů s normální hladinou cholesterolu (Rossi a kol., 2003). Fermentované výrobky byly zaočkovány *Lactobacillem jugurti* a *Enterococem faecium*. Studie trvala 6 týdnů. Vzorky krve 44 dobrovolníků (mužů ve věku 40-55 let) byly odebrány na začátku a po 3 a 6 týdnech. Zjišťovaly se hodnoty celkového cholesterolu, HDL-cholesterolu a triglyceridů. LDL-cholesterol se dopočítával. Nebyly pozorovány žádné významné změny v hladině celkového cholesterolu, LDL-cholesterolu a triglyceridů, ale HDL-cholesterol byl po 6 týdnech významně vyšší. Ve skupině s placebem nebyly pozorovány změny v HDL-cholesterolu a triglyceridech během experimentálního období, LDL-cholesterol byl však významně vyšší.

Oddělení klinické bakteriologie ve Stockholmu (Lund a kol., 2002) se zabývalo sledováním přežití probiotického kmene *Enterococcus faecium*. Primárním cílem studie bylo sledování počtu živých bakterií *Enterococcus faecium* po průchodu zažívacím traktem a počtu hostitelských enterokoků. Druhým cílem byl výzkum vlivu současného příjmu vancomycinu na přežití a životnost probiotického kmene a na stabilitu endogenních enterokokových kmenů.

Dvanácti zdravým dobrovolníkům byl podáván probiotický výrobek jednou denně po dobu 10 dnů. Polovina z nich současně dostávala vancomycin. Izoláty *E. faecium* byly analyzovány genotypicky a fenotypicky PFGE a Phene Plate systémem. Bylo konstatováno, že *E. faecium* přežívá tranzit trávicím traktem, probiotický kmen *E. faecium* navyšuje v trávicím traktu počty enterokoků, ale po ukončení podávání probiotického kmene je jeho výskyt

v lidském střevu pomíjivý. Rekolonizace *E. faecia* po současném podávání probiotika a vancomycinu se objevuje, ale jedná se hlavně o kmeny bez blízké genetické příbuznosti ke kmenům před ošetřením nebo ke zkoumanému kmenu *E. faecium*.

Bakterie mléčného kvašení ve funkčních potravinách mohou dočasně kolonizovat střevo člověka a projevovat se zdravotními benefity (Ferencik a kol., 2000). Tyto byly pozorovány ve skupině dospělých, kterým byl denně podáván lyofilizovaný *E. faecium* M-74 ve formě vafel (Dr. Ebi) v průběhu devíti týdnů. Jednalo se o klinickou zkoušku dvojité zaslepenou s placebem. Výsledky ukázaly významný imunostimulační efekt.

## Metodika a pracovní postup

Metabolický test byl připraven na základě konzultací s lékaři Fakultní nemocnice v Motole. Současně bylo navázáno na předchozí zkušenosti v organizaci metabolického testu.

Nárůst civilizačních onemocnění /diabetes, různé druhy karcinomů, kardiovaskulární onemocnění, alergií apod./ nás nutí se tímto negativním trendem zabývat, analyzovat příčiny a hledat cesty k nápravě. Na příčině tomuto trendu bývá nezdravý životní styl, obezita, nevyvážená nebo zcela nevhodná strava a nedostatek pohybu.

Významným faktorem ovlivňujícím prospívání lidského organismu je vhodná skladba mikroflóry trávicího traktu a známým faktem je, že celá řada mikroorganismů má schopnosti pozitivně působit ve střevě. Z literatury je známo, že výzkumné studie jednoznačně determinují určité pozitivní účinky určitých druhů mikroorganismů. Zaměření připravovaného testu bylo orientováno na opakované prověřování kmene CCDM 922 *Enterococcus faecium* ve směru eliminování některých fyziologických parametrů umožňujících vznik kardiovaskulárních onemocnění. Naším úkolem bylo nejprve oslovit dostatečně široký soubor respondentů, kteří byli ochotni zapojit se do projektu a pravidelně konzumovat po dobu 12 týdnů fermentovaný výrobek. Naší snahou bylo oslovit věkově širokou skupinu lidí s těžištěm zaměřeným na střední věk a to z důvodu, že v této době se nejvíce setkáváme s počínajícími příznaky onemocnění a současně v této době přibývá lidí s vyšší váhou - faktorem, který též může onemocnění podporovat.

Pokusnou kohortu bylo třeba sestavit i s ohledem na pohlaví a věk v jednotlivých pokusných skupinách.

Ze sledovaných parametrů jsme se zaměřili na ukazatele, které mohou signalizovat obezitu tj. zejména BMI, WHR a proto jsme měřili výšku, váhu a obvody pasu a boků.

Dalšími sledovanými parametry byly hodnoty krevního tlaku a hodnoty krevního cholesterolu. S přibývajícím věkem přibývá hypertoniiků i lidí s problémy v lipidovém metabolismu tj. zdravotními problémy tzv. metabolického syndromu.

Metabolický syndrom se stal pojmem v klinické medicíně vžitým pro současný výskyt inzulinorezistence a kompenzační hyperinzulinémie, abdominální (viscerální) obezity,

dyslipidémie (nízké hladiny HDL-cholesterolu), hypertriglyceridémie, hypertenze, poruchy glukózové tolerance (PGT), resp. diabetu 2. typu s následným zvýšením rizika rozvoje ICHS. Primárním nálezem je inzulinorezistence, poměrně pevně sdruženým nálezem je hypertenze, hypertriglyceridémie a diabetes, ve volnější vazbě jsou mikrovaskulární angina, poruchy koagulace a fibrinolýzy a v ještě volnější vazbě jsou ICHS a androidní obezita.

Vyšetření na metabolický syndrom je snadné (změřit obvod pasu, váhu, cukr v krvi, cholesterol a krevní tlak), léčba v jeho počátcích je levná, ale při komplikacích velmi drahá.

Dobrovolníci, kteří se zapojili do testu, obdrželi dotazník, kde bylo třeba vyplnit údaje týkající se věku, povahy zaměstnání, zda je sedavé nebo fyzicky náročné, abychom mohli zahrnout vliv i tělesné aktivity.

Další dotazy byly zaměřeny na současný zdravotní stav, zda jsou nebo někdy byli léčeni na zvýšenou hladinu cholesterolu.

Podrobně byly kladeny dotazy týkající se trávení a to jak na pravidelnost vyměšování, tak i na případné obtíže s trávením spojené.

V neposlední řadě nás zajímal vztah k mléku a mléčným výrobkům a jejich pravidelná konzumace.

Pro metabolický test byl připraven pokusný výrobek jogurtového typu s přidavkem kmene CCDM 922 a jako placebový výrobek byl použit totožný jogurt bez přidavku testovaného kmene. Tak abychom testovali pouze vliv prověřovaného kmene. Pokud do metabolického testu bylo zapojeno více členů z jedné rodiny, byla tato rodina rozdělena mezi pokusnou a placebovou část kohorty tak, abychom vyloučili genetickou rodinnou predispozici a eliminovali vliv dietetických zvyklostí.

Do metabolického testu se zapojilo 52 dobrovolníků, kteří byli rozděleni do dvou skupin pokusné a placebové. Skupina pokusná 26 lidí, skupina placebová 26 lidí. Respondenti nebyli nijak zpraveni o tom, že skupina je rozdělena do dvou částí a jeden z výrobků je placebo. Před testem byly změřeny následující parametry: krevní tlak, celkový cholesterol, HDL cholesterol, váha, výška, obvod pasu a boků a dobrovolníci vyplnili na místě a odevzdali dotazník s dotazy na zdraví a trávení.

Denní konzumovaná dávka činila 100 ml nápoje. Test jsme na základě konzultací s lékaři prodloužili až na 3 měsíce. Hladina cholesterolu není hodnota, která se změní skokově a proto je třeba delší časový úsek pro prokazování změny.

## Sledované parametry

### Měření cholesterolu

Statistiky dokazují, že vysoká hladina cholesterolu v krvi je jedna z nejčastějších příčin kardiovaskulárních onemocnění. Nicméně rozhodující není jen celková hladina cholesterolu, ale také poměr mezi HDL a LDL cholesterolem.

Měření cholesterolu bylo prováděno MiraTes Cholesterol Testem +.

### Měření krevního tlaku

Vysoký krevní tlak je choroba postihující zhruba 15 - 20 % populace.

Vysoký krevní tlak signalizuje opakovaně naměřená hodnota u osoby starší 18 let 140/90 mm Hg nebo více. Určité kolísání hodnot krevního tlaku je v běžném životě normální.

Měření krevního tlaku bylo provedeno tonometrem Microlife BP 2B10.

### Stanovení BMI - body mass index

BMI, index tělesné hmotnosti, vyjadřuje velikost nadváhy. Vypočítá se: hmotnost v kilogramech dělená druhou mocninou výšky v metrech. Podle BMI můžeme zároveň určit i riziko zdravotních komplikací obezity.

### Stanovení WHR

WHR index (poměr pas-boky) je ukazatelem typu rozložení tělesného tuku. Je známo, že androidní typ obezity (tuková tkáň převážně v abdominální oblasti) je rizikovým faktorem pro rozvoj některých onemocnění, zejména insulinové rezistence, diabetu mellitu II. typu či kardiovaskulárních onemocnění.

### Obvod pasu

Nejjednodušší ukazatelem, který svědčí o rizikovém ukládání tuku v těle, je obvod pasu.

## Příprava fermentovaných nápojů

Placebový nápoj - označení A

Testovací nápoj - označení B

Použité mikroorganismy:

Nápoj A: jogurtová kultura CCDM 176 očkovací dávka 0,01%

Nápoj B: Jogurtová kultura CCDM 176 očkovací dávka 0,01%

*Enterococcus faecium* CCDM 922 očkovací dávka 1%

Teplné ošetření mléka 1,5 % pasterací 95 °C / 30 minut

Kultivace dlouhodobá 30 °C / 16 hodin

Počty mikroorganismů v připraveném nápoji:

Nápoj A

Stanovení KTJ/1 g

M17 (6,8) aerobně 37 °C / 48 hod. 3,5.10<sup>8</sup>

MRS (5,4) anaerobně 37 °C / 72 hod. 1,5.10<sup>8</sup>

Nápoj B

Stanovení KTJ/1 g

M17 (6,8) aerobně 37 °C / 48 hod. 3,1.10<sup>8</sup>

MRS (5,4) anaerobně 37 °C / 72 hod. 1,0.10<sup>8</sup>

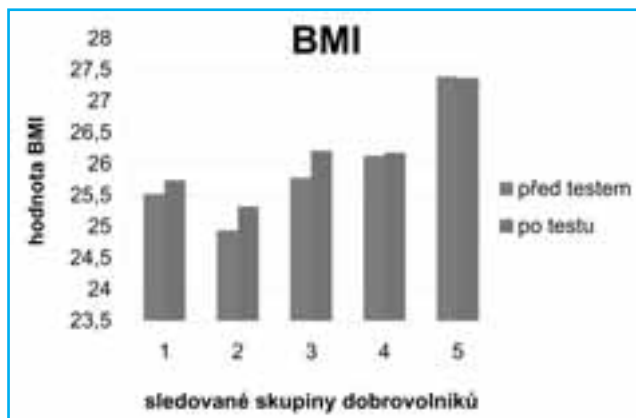
živná půda Slanetz-Bartley agar aerobně 37 °C / 48 hod. 3,7.10<sup>7</sup>

Konzistence u všech dávek - hustá konzistence, chutí jemná jogurtová, jemné jogurtové aroma.

Testovací dávky předávány dobrovolníkům v pravidelných týdenních intervalech.

Po ukončení testu tj. za 3 měsíce bylo provedeno stejné měření fyzických parametrů a hodnot krevního tlaku a cho-

Graf 1 BMI Body mass index



legenda: 1 kohorta všech účastníků

2 skupina A

3 skupina B

4 skupina A1 - skupina dobrovolníků starších 40 let ze skupiny A

5 skupina B1 - skupina dobrovolníků starších 40 let ze skupiny B

Graf 2 WHR Waist hip ratio



legenda: 1 kohorta všech účastníků

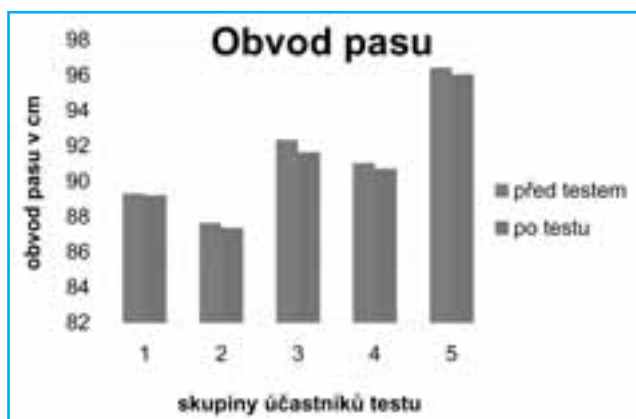
2 skupina A

3 skupina B

4 skupina A1 - skupina dobrovolníků starších 40 let ze skupiny A

5 skupina B1 - skupina dobrovolníků starších 40 let ze skupiny B

Graf 3 Obvod pasu



legenda: 1 kohorta všech účastníků

2 skupina A

3 skupina B

4 skupina A1 - skupina dobrovolníků starších 40 let ze skupiny A

5 skupina B1 - skupina dobrovolníků starších 40 let ze skupiny B

lesterolu jako před testem. Dobrovolníci vyplnili dotazník s dotazy na zdravotní stav a trávení.

Tab. 1 Srovnání fyzických parametrů celé kohorty a skupin A, B, A1 a B1

	Kohorta všech účastníků	Skupina A	Skupina B	Účastníci skupiny A1 ve věku nad 40 let	Účastníci skupiny B1 ve věku nad 40 let
průměrný věk (roky)	46,45	45,57	47,36	55,35	58,18
BMI před test.	25,52	24,94	26,13	25,78	27,39
BMI po testu	25,74	25,32	26,18	26,21	27,37
WHR před t.	0,86	0,85	0,87	0,88	0,90
WHR po testu	0,86	0,85	0,86	0,88	0,89
obvod pasu před testem (cm)	89,31	87,65	91,04	92,35	96,43
obvod pasu po testu (cm)	89,21	87,38	90,72	91,64	96,06

číselné hodnoty zaokrouhleny na dvě desetinná místa

## Výsledky a diskuze

### Vyhodnocení metabolického testu

Srovnání odpovědí a měření zjištěných z dotazníků před a po testu.

Pro zobektivnější vyhodnocení výsledků jsme přistoupili k zpracování naměřených hodnot jejich zprůměrováním a porovnáním mezi jednotlivými skupinami. Současně jsme vytvořili i další, podle našeho názoru ilustrativní skupiny.

V měření fyzických parametrů jsme vybrali skupinu dobrovolníků ve věku nad 40 let tj. lidí, kteří jsou více ohroženi metabolickým syndromem a mající tomuto trendu odpovídající i fyzické parametry. Naměřené hodnoty fyzických parametrů jsou znázorněny v tabulce č. 1 a v grafech č. 1, 2, 3.

U krevních parametrů jsme se zaměřili na skupinu lidí s minimální hodnotou celkového cholesterolu 3,3 mmol/l a více. Naměřené hodnoty krevních parametrů jsou znázorněny v tabulce č. 2 a v grafech č. 4, 5, 6, 7, 8.

Tab. 2 Srovnání krevních parametrů celé kohorty a skupin A, B, A2 a B2

	Kohorta všech účastníků	Skupina A	Skupina B	Skupina A2	Skupina B2
celkový CH před testem mmol/l	3,73	3,83	3,63	4,25	4,29
celkový CH po testu mmol/l	3,80	3,86	3,74	3,84	4,10
HDL před testem mmol/l	0,82	0,90	0,74	1,06	0,76
HDL po testu mmol/l	0,98	1,01	0,94	1,04	0,97
poměr celkového cholesterolu/HDL před testem	4,95	4,57	5,27	4,56	6,40
poměr celkového cholesterolu/HDL po testu	4,46	4,51	4,40	4,46	4,83
tlak systolický řed testem mmHg	126,78	124,23	129,44	120,87	134,55
tlak systolický po testu mmHg	121,84	119,15	124,64	117,67	127,45
tlak diastolický před testem mmHg	80,10	79,88	80,32	75,73	84,81
tlak diastolický po testu mmHg	77,47	76,53	78,44	74,93	81,27

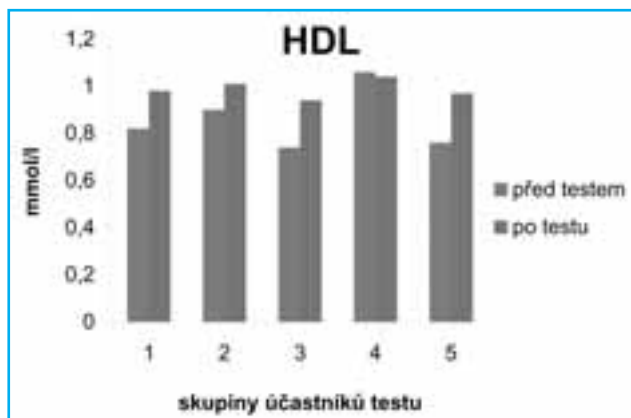


Graf 4 Celkový cholesterol



legenda: 1 kohorta všech účastníků  
 2 skupina A  
 3 skupina B  
 4 skupina A2 - dobrovolníci s min. hladinou celk. cholesterolu 3,3 mmol/l ze sk. A  
 5 skupina B2 - dobrovolníci s min. hladinou celk. cholesterolu 3,3 mmol/l ze sk. B

Graf 5 HDL cholesterol



legenda: 1 kohorta všech účastníků  
 2 skupina A  
 3 skupina B  
 skupina A2 - dobrovolníci s min. hladinou celk. cholesterolu 3,3 mmol/l ze sk. A  
 skupina B2 - dobrovolníci s min. hladinou celk. cholesterolu 3,3 mmol/l ze sk. B

Graf 6 Poměr cholesterolů



legenda: 1 kohorta všech účastníků  
 2 skupina A  
 3 skupina B  
 skupina A2 - dobrovolníci s min. hladinou celk. cholesterolu 3,3 mmol/l ze sk. A  
 skupina B2 - dobrovolníci s min. hladinou celk. cholesterolu 3,3 mmol/l ze sk. B

Graf 7 Systolický tlak



legenda: 1 kohorta všech účastníků  
 2 skupina A  
 3 skupina B  
 skupina A2 - dobrovolníci s min. hladinou celk. cholesterolu 3,3 mmol/l ze sk. A  
 skupina B2 - dobrovolníci s min. hladinou celk. cholesterolu 3,3 mmol/l ze sk. B

Celá sledovaná kohorta měla před zahájením testu průměrný BMI 25,52. Tato hodnota ukazuje na mírnou nadváhu, což značí lehce zvýšené zdravotní riziko. Z toho průměr skupiny A byl 24,94 (tato hodnota je ještě v normě a není očekáváno zdravotní riziko), skupina B měla průměr 26,13.

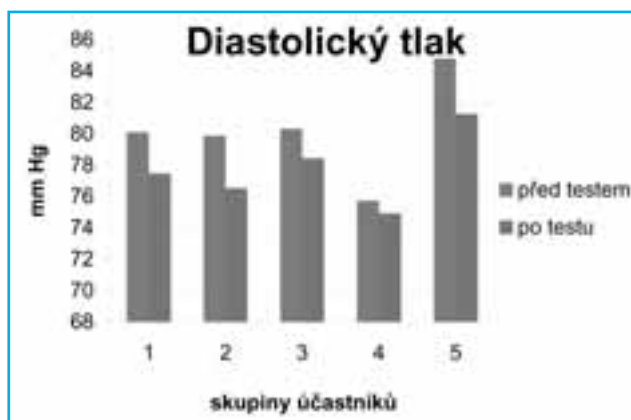
Po absolvování testu se průměrný BMI skupiny A zvýšil o 0,38 a u skupiny B zvýšil pouze minimálně o 0,05.

Průměrná hodnota WHR celé kohorty byla 0,86, z toho u skupiny A 0,85 a u skupiny B 0,88. Po testu byla skupina A beze změny, zatímco u skupiny B byl zaznamenán pokles o 0,01.

U skupin A1 a B1 se jedná o dobrovolníky ve věku nad 40 let s možností vyšších zdravotních rizik a možných vyšších hodnot sledovaných parametrů, bylo zjištěno: nárůst BMI po testu u skupiny A1 o 0,43, zatímco u skupiny B1 pokles o 0,02. WRI byl u skupiny A1 beze změny a skupiny B1 byl zaznamenán pokles o 0,01.

Z výsledků můžeme shrnout, že u skupiny A i A1 došlo k lehkému zvýšení BMI a hodnota WHR zůstala beze

Graf 8 Diastolický tlak



legenda: 1 kohorta všech účastníků  
 2 skupina A  
 3 skupina B  
 skupina A2 - dobrovolníci s min. hladinou celk. cholesterolu 3,3 mmol/l ze sk. A  
 skupina B2 - dobrovolníci s min. hladinou celk. cholesterolu 3,3 mmol/l ze sk. B

změny. U skupiny B a B1 lze říci, že průměrný BMI po testu byl beze změny a WHR nevýrazně poklesl.

Obvod pasu se zmenšil po testu v obou sledovaných skupinách, ve skupině A o 0,27 cm, ve skupině B o 0,32 cm. Ve skupinách respondentů nad 40 let došlo k výraznějšímu snížení u skupiny A1 o 0,71 cm, zatímco u skupiny B1 o 0,37 cm.

Dobrovolníci, které jsme získali pro testování mléčných nápojů, byli zdraví lidé s velmi nízkou hladinou celkového cholesterolu. Průměrná hodnota kohorty byla 3,73, tato hodnota ukazuje na dobrý zdravotní stav dobrovolníků v tomto parametru. Hladina menší než 5 mmol/l je hodnocena jako dobrá, až hodnota 5-6 mmol/l je lehce zvýšená. Pokud bychom sledovali u respondentů pouze celkový cholesterol, musíme konstatovat, že tato kohorta jako celek je pro toto sledování vlivu testovaného kmene na snížení hladiny celkového cholesterolu nevhodná.

Jiná situace byla u HDL cholesterolu, kdy jsme zjistili též velmi nízkou hodnotu, ale tato nízká hodnota 0,82 značí zvýšené riziko kardiovaskulárních onemocnění, jak u mužů, tak u žen. Po testu došlo u celé kohorty vlivem konzumace mléčných nápojů ke zvýšení hodnoty HDL o 0,16 mmol/l, z toho u skupiny A o 0,11 a u skupiny B o 0,20 mmol/l.

Poměr rizikovitosti ke kardiovaskulárním nemocem tj. poměr celkového cholesterolu a HDL cholesterolu se též u celé kohorty po testu zlepšil o 0,49 na hodnotu 4,46, která je uváděna jako hodnota, která nepředstavuje riziko kardiovaskulárních onemocnění. Hodnoty rizikovitosti klesly u skupiny A pouze mírně, u skupiny B výrazněji.

U celé kohorty došlo po testu ke snížení jak systolického, tak diastolického tlaku. Rozdíl mezi skupinami nebyly signifikantní.

Abychom získali informaci o působení vlivu různých nápojů na hladinu celkového cholesterolu, zaměřili jsme se na skupinu dobrovolníků, která měla alespoň takovou hodnotu, která byla na základě konverzní tabulky testu MiraTes dobře detekovatelná tj. min 3,3 mmol/l; tak vznikly skupiny A2 a B2.

Zjistili jsme, že nápoje snížily hladinu celkového cholesterolu u skupiny A2 o 0,41 a skupiny B2 o 0,19 a na hladinu HDL u skupiny A2 nebyl zaznamenán vliv, zatímco u B2 HDL vzrostl o 0,21 mmol/l. Z tohoto důvodu se výrazně snížil i poměr rizikovitosti u A2 o 0,1 a u skupiny B2 až o 1,57.

U skupiny B2 byly zaznamenány významně snížené hodnoty systolického i diastolického tlaku, u systolického tlaku o 7,1 zatímco u A2 o 3,2 mmHg a diastolického tlaku o 3,54 zatímco u A2 o 0,8 mmHg.

### Senzorické posouzení

Z výsledků hodnocení nápojů respondenty z hlediska senzorických vlastností vyplývá, že oba nápoje byly vnímány většinou respondenty tj. 58,82 % jako výborné a 29,41 % respondentů jako dobré. Z toho nápoj A byl hodnocen jako výborný a dobrý v 84,61 %, nápoj B v 92 %.

Z provedeného testu dále vyplynulo, že většina dobrovolníků hodnotila subjektivně svůj zdravotní stav jako dobrý nebo výborný, ale následným měřením bylo zjištěno, že s přibývajícím věkem přibývá z hlediska zdravotního nepříznivých fyziologických hodnot. Po ukončení testu hodnotila větší část dobrovolníků svůj zdravotní stav beze změny, ale část dobrovolníků zaznamenala subjektivní pocit zlepšení. V oblasti trávení řada dobrovolníků konstatovala obtíže, které se pravidelnou konzumací mléčných nápojů u skupiny A z 34% a u skupiny B z 36% eliminovaly.

### Závěr

Výsledky metabolického testu považujeme za velmi přínosné. Test byl prováděn na kohortě zdravých lidí, ale i tak výsledky metabolického testu potvrdily, že konzumace pokusného mléčného výrobku s obsahem testovaného kmene *Enterococcus faecium* CCDM 922 o koncentraci  $10^7$  a příjmu 100 ml denně po dobu 3 měsíců má pozitivní vliv na krevní parametry konzumenta:

- má vliv na zvýšení hladiny HDL cholesterolu v krvi konzumenta
- má vliv na snížení rizikovitosti onemocnění kardiovaskulárními onemocněními snížením poměru celkového a HDL cholesterolu
- má vliv na snížení krevního tlaku konzumenta

V oblasti sledování subjektivních pocitů hodnotila větší část respondentů po ukončení metabolického testu svůj zdravotní stav beze změny, ale část respondentů zaznamenala subjektivní pocit zlepšení. V oblasti trávení řada respondentů konstatovala před pokusem obtíže, které pravidelnou konzumací mléčných nápojů u placebové skupiny A z 34% a u pokusné skupiny B z 36% byly eliminovány.

Po stránce senzorické byly oba kysané nápoje hodnoceny jako dobré, více dobrovolníků kladně hodnotilo nápoj B.

Mikroorganismus *Enterococcus faecium* kmen CCDM 922, sbírka Laktoflora MILCOM a.s. Praha je vhodný pro aplikace do kysaných mléčných výrobků, popř. dalších funkčních potravin, jako mikroorganismus s probiotickými vlastnostmi.

### Literatura

1. Agerbaek M., Gerdes L.U., Richelsen B. (1995): Hypocholesterolaemic effect of a new fermented milk product in healthy middle aged men. *EUR.J.Nutr.*, 49 (5):346-52
2. Agerholm-Larsen L., Bell M.L., Grunwald G.K., Astrup A. (2000) The effect of a probiotic milk product on plasma cholesterol: a meta-analysis of short-term intervention studies. *Eur.J.Clin. Nutr.*,54 (11):856-60
3. Agerholm-Larsen L., Raben A., Haulrik N., Hansen A.S., Manders M., Astrup A. (2000): Effect of 8 week intake of probiotic milk products on risk factors for cardiovascular diseases. *Eur.J.Clin.Nutr.*,54(4):288-97
4. Ferenčík M., Ebringer L., Mikeš Z., Jahnová E., Ciznar I. (1999): Successful modification of human intestinal microflora with oral administration of lactic acid bacteria. *Bratisl.Lék.Listy*, 100(5):238-45
5. Ferenčík M., Mikeš Z., Ebringer L., Jahnová E., Ciznar I. (2000): Immunostimulatory and other beneficial health effects of lactic acid bacteria. *Bratisl.Lék.Listy*,101(1):51-3

6. Hlivak P., Ondraška J., Ferenčík M., Ebringer L., Jahnová E., Mikeš Z. (2005): One-year application of probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74 decreases serum cholesterol levels. *Brat.Lek.Listy*,106(2):67-72
7. Hlivák P., Jahnová E., Ondraška J., Ferenčík M., Ebringer L., Mikeš Z. (2005): Long-term (56-week) oral administration of probiotic *Enterococcus faecium* M-74 decreases the expression of s ICAM-1 and monocyte CD54 and increases that of lymphocyte CD49d in humans. *Brat.Lek.Listy*,106(4-5):175-
8. Lund B., Adamsson I., Edlund C. (2002): Gastrointestinal transit survival of an *Enterococcus faecium* probiotic strain administered with or without vancomycin. *Int.J.Food Microbiol.*,25,77(1-2):109-15
9. Nielsen O.H., Jorgensen S., Pedersen K., Justesen T. (1994): Microbiological evaluation of jejunal aspirates and faecal samples after oral administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* , 76(5):469-74
10. Richelsen B., Kristensen K., Pedersen S.B. (1996): Long-term (6month) effect of a new fermented milk product on the level of plasma lipoproteins -a placebo- controlled and double blind study. *Eur.J.Clin.Nutr.*, 50(12):811-5
11. Rossi E.A., Vendramini R.C., Carlos I.Z., de Oliveira M.G., de Valdez G.F. (2003): Effect of a new fermented soy milk on serum lipid levels in normocholesterolemic adult men. *Arch. Latinoam. Nutr.*, Mar,53(1):47-51

Přijato do tisku 10. 10. 2009

Lektorováno 27. 10. 2009

## VLIV SUPLEMENTACE PROBIOTICKÝCH KMENŮ KVASINEK VE VÝŽIVĚ DOJNIC NA KVALITU MLÉKA

Seydlová R., Snášelová J.

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

### Impact of feed supplementation of yeast probiotic gene on the quality of cow milk

#### Abstrakt

Moderní systémy výživy dojníc se progresivně změnilly z krmných dávek založených na objemné píce fermentovaná glycidová krmiva, která respektují nárůst mléčné produkce u vysokoprodukčních dojníc. Jsou zkrmovány siláže s vysokým obsahem kyselin, nízkým obsahem vlákniny a vysokými dávkami jadrných koncentrátů (Peyrau and Apper-Bossard, 2006). V souvislosti s tím se mohou objevit zažívací poruchy jako je subakutní bachorová acidóza jako důsledek akumulace mastných kyselin a kyseliny mléčné v bachoru. Aplikace nových krmných aditiv, probiotických kmenů kvasinek, má pozitivní vliv na stabilizaci bachorového pH, prevenci bachorové acidózy a zvýšení využitelnosti krmné dávky. Kyselost prostředí v bachoru sehrává důležitou roli v regulaci mikrobiologických zástupců, zejména pak celulolytických, které pozitivně ovlivňují utilizaci vlákniny.

#### Abstract

Modern feeding strategies have changed from primary forage-based to progressively more readily fermentable carbohydrate feedstuffs in dairy rations to meet the increasing milk production of high-producing animals. These practices favor the use of silages with a high acid content, low fiber diets with reduced particle size, and high levels of concentrates (Peyrau and Apper-Bossard, 2006). As a result, they can lead to appearance of digestive disorders such as subacute ruminal acidosis in dairy cattle if appropriate precautions are not taken.

Excessive intake of carbohydrate usually implies a temporal decrease in ruminal pH because of accumulation of VFA (volatile fatty acid) and lactic acid in rumen.

Utilization of new feed additives such as the probiotic genes of yeast has a positive effect on stabilization of ruminal pH, prevention ruminal acidosis, improving digestibility of the diet.

Ruminal pH plays an important role in regulating the microbial ecosystem especially for sensitive microorganisms such as cellulolytic bacteria. Live yeast is allowing better fiber digestion.

#### Kvasinky ve výživě dojníc a kvalita mléka

Bachor přežvýkavců je jedním z nejdůležitějších orgánů z hlediska zpracování objemných krmiv. Tento proces zde probíhá ve dvou liniích. V prvním se účastní sekrety gastrointestinálního traktu (kyselina chlorovodíková, pankreatické enzymy), ve druhém fermentativním kroku působí na rozklad mikroorganismy zažívacího traktu. Ty jsou schopny rozložit živiny na nejjednodušší komponenty, které teprve mohou být absorbovány a využívány. Mezi přežvýkavcem a bachorovou mikrobiální populací jsou klasické symbiotické vztahy.

Hodnota kyselosti (pH) v bachoru je důležitým regulačním faktorem celého mikrobiálního ekosystému, který ovlivňuje i koncentraci celulolytických bakterií. Chaucheyras-Durand and Fonty (2002) pokročili dále v měření tohoto fyzikálně chemického parametru a místo pH začali měřit redox potenciál (Eh).

Moderní principy koncepce krmných dávek pro vysoko-produkční dojnice zaznamenaly významné změny během relativně krátkého období. Komponenty krmných dávek založené zejména na objemných krmivech se změnilly ve prospěch respektování požadavku dojníc s vysokými nádoji a významně se posunuly ve prospěch fermentovaných glycidových krmiv a koncentrátů. Jsou tedy zkrmovány siláže a senáže s vysokým obsahem kyselin, nízkým obsahem vlákniny spolu s vysokými dávkami jadra (Peyraud and Apper-Bossard, 2006).

Tyto faktory mohou vést ke vzniku celé řady metabolických onemocnění, mezi něž patří i subakutní bachorová acidóza. Ta sebou nese celou řadu negativních průvodních jevů od sníženého bachorového pH, které nevytváří optimální podmínky pro rovnoměrnou skladbu mikroflóry