

Probiotika – kojenecká a batolecí výživa – první část

prof. MUDr. Josef Sýkora, Ph.D., MUDr. Marek Vébr, MUDr. Jiří Bufka, MUDr. Jan Schwarz, Ph.D.

Dětská klinika, Fakultní nemocnice Plzeň, Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Plzni

Souhrnný článek diskutuje aktuální poznatky o suplementaci kojenecké a batolecí výživy probiotickými kmeny a jejím dopadu na bakteriální kolonizaci a zdravotní stav dětí. Naše sdělení opíráme především o randomizované kontrolované klinické studie. Z nich vyplývá, že probiotika jsou obecně považována za bezpečná a ovlivňují celou řadu metabolických a imunitních pochodů

Klíčová slova: probiotika, bakteriální kolonizace, kojení, kojenecká výživa.

Probiotics and infant nutrition – part one

The purpose of this paper is to provide an overview of the effectiveness of specific probiotics including those added to commercially available baby-milk formula feeding featuring well-designed and carefully conducted randomised controlled clinical trials. They show that probiotics are generally considered safe and affect a wide range of metabolic and immune processes.

Key words: probiotics, bacterial colonization, breast feeding, baby-milk formula.

Úvod

Stoupající počet vědeckých projektů zaměřených na ovlivňování střevního mikrobiomu ukazuje na obrovský posun nového způsobu prevence a léčby probiotiky v dětském věku. Nově popsané kmeny bakterií, tzv. probiotika nové generace (NGP = Next Generation Probiotics), mohou být použity i jako léky (1). Střevní mikrobiom představuje dynamický, metabolicky aktivní ekosystém v dobře definovaném prostředí, integrovaný do humánního makroekosystému, hrající zásadní roli pro zdraví člověka. Mikrobiom je tvořený organizovaným společenstvím živých mikroorganismů (mikrobiota), jejich genomickými prvky a spektrem biologicky aktivních metabolitů tvořených mikroorganismy, umožňující vzájemnou komunikaci mezi mikroorganismy a lidskými buňkami. Ačkoli se klinický výzkum v počátku zabýval účinky probiotik jen u nemocí gastrointestinálního traktu (GIT) (2, 3), aktuální vědecké studie se zaměřují na per-

sonalizované kmeny probiotik modulující střevní mikrobiom v souvislosti s kojeneckou výživou a různými aspekty dalších pediatrických chorob. Optimální výživou novorozenců a kojenců je dlouhodobé kojení – tedy mateřské mléko (MM), které je vzorem pro náhradní kojeneckou výživu. Suplementací probiotiky a dalšími složkami po vzoru MM se snažíme příznivě ovlivnit vývoj dětského organismu u dětí, které nemohou být kojeny. Historicky patří mezi nejčastěji používané a studované probiotické mikroorganismy rody *Lactobacillus* produkující kyselinu mléčnou, další jsou *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pedococcus*, *Bacillus* a *Escherichia coli* a nebakteriální kvasinky *Sacharomyces*, které jsou nehumánního původu (4) **Tabulka 1.** Výběr specifického probiotického kmene musí akcentovat zdravotní prospěšnost, bezpečnost a účinnost prokázanou kontrolovanými studiemi. Souhlasné stanovisko regulačních orgánů vytváří formální základ pro jejich zavedení

DECLARATIONS:

Declaration of originality:

The manuscript is original and has not been published or submitted elsewhere.

Ethical principles compliance:

The authors attest that their study was approved by the local Ethical Committee and is in compliance with human studies and animal welfare regulations of the authors' institutions as well as with the World Medical Association Declaration of Helsinki on Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects adopted by the 18th WMA General Assembly in Helsinki, Finland, in June 1964, with subsequent amendments, as well as with the ICMJE Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals, updated in December 2018, including patient consent where appropriate.

Conflict of interest and financial disclosures:

None.

Funding/Support:

None.

Cit. zkr: *Pediatr. praxi.* 2024;25(5):299-302

<https://doi.org/10.36290/ped.2024.057>

Článek přijat redakcí: 17. 9. 2024

Článek přijat k tisku: 11. 10. 2024

prof. MUDr. Josef Sýkora, Ph.D.

sykorajo@fnplzen.cz

Tab. 1. Nejčastěji používaná a studovaná probiotika v metaanalytických a klinických studiích

- *Lactobacillus* spp.
reuteri
casei
rhamnosus GG
acidophilus
salivarius
bulgaricus
crispatus
plantarum 299V
paracasei
delbrueckii gasserii
- *Streptococcus* spp.
- *Bifidobacterium* spp.
infantis
longum
breve
bifidum
animalis subs. lactis
lactis
adolescentis
thermophilum
catenulatum
angulatum
dentium
- *Sacharomyces boulardii*
- *Sacharomyces cerevisiae* (nehumánní)
- VSL*3 (multibakteriální směs probiotik)
(*Lactobacillus*, *Bifidobacteria*, *Streptococcus*)
- Ostatní druhy
Bacillus subtilis
Enterococcus faecalis, *faecium*
Lactococcus lactis
Pedococcus pentosaceus
E. coli 083:K24:H1
E. coli Nissle 1917 (sérotyp 06:K5:H1)

do klinické praxe a obohacování kojenecké výživy. Prebiotika, synbiotika a postbiotika s ohledem na náhradní kojeneckou výživou přesahují rámec článku, uvedeny jsou jen v logické návaznosti. Cílem práce je shrnout současné poznatky o zdraví prospěšných, prokázaných a očekávaných klinických účincích probiotik používaných v náhradní kojenecké/batolecí mléčné výživě s ohledem na složení střevního ekosystému včetně vývoje imunity a další klinické aspekty.

Probiotika, definice a mechanismus účinku

WHO (Světová zdravotnická organizace) definuje probiotika jako živé mikroby, které při podání v adekvátním množství mají na svého hostitele pozitivní zdraví prospěšný vliv (5). Probiotika jsou dostupná na trhu jako registrovaný lék, doplňky stravy, potraviny obsahující probiotika, lékařská výživa nebo přírodní produkty. EFSA (Evropský úřad pro bezpečnost potravin), FDA (Food and Drug Administration) v USA, QPS (Qualified

Presumption of Safety) program v Evropě a GRAS (Generally Recognized as Safe) v USA kontrolují bezpečnost a použití probiotik ve stravovacím řetězci (6). FAO (Organizace pro výživu a zemědělství Spojených národů)/WHO klade velmi přísná kritéria na funkční vlastnosti probiotik (7). Tento požadavek vytváří na výrobce probiotik a lékové agentury tlak na přesný popis vlastností jednotlivých kmenů probiotik a zdokonalování technologických postupů se zřetelem na životaschopnost specifických kmenů. V kontextu tohoto sdělení a doporučení, probiotika musí splňovat 3 nejdůležitější charakteristiky, následující podmínky a garance:

- **prospěšnost pro zdraví**, měřitelná a opakovaně klinicky dokumentovatelná *in vivo* studiemi o prospěšnosti pro zdraví,
- **mikrobiologické a bezpečnostní požadavky** (taxonomické zařazení, humánní původ, specifita, netoxické/nepatogenní účinky, antimikrobiální aktivita, genetická stabilita, metabolická aktivita, schopnost rezistence a metabolických aktivit při průchodu trávicím traktem, biologická stabilita vůči žaludeční kyselině, žlučovým kyselinám a trávicím enzymům (enterosolventní úprava, mikroenkapsulace),
- **průmyslové parametry** (stabilita a životaschopnost během výrobního/skladovacího transportního procesu, organoleptické vlastnosti, minimální množství živých bakterií na konci expirační doby, požadovaná koncentrace kolonií v CFU, definovaná léková forma). Obsah probiotik se hodnotí v tzv. mezinárodních jednotkách, které tvoří kolonie (CFU – z anglického výrazu Colony Forming Units), představující počet životaschopných bakterií na jednu dávku (gram nebo kapsli) od kterých se dávkování probiotik odvozuje. Dávka 10^6 – 10^{10} CFU se považuje za minimální denní dávku pro dosažení terapeutického účinku. Přesná denní dávka pro donošeného a nedonošeného novorozence však nebyla dosud jednoznačně stanovena.

Hojně diskutované potenciální mechanismy účinku probiotik jsou velmi rozmanité, dosud však nejsou známy do všech detailů. Souhrnně jsou uvedeny v **Tabulce 2**.

Tab. 2. Potenciální mechanismus účinku probiotik na lidský organismus

- Adheze a kolonizace střevní sliznice
- Stabilizace střevního mikrobiomu
- Produkce mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFA)
- Pokles pH střevního obsahu
- Omezení zpětné resorpce žlučových kyselin
- Antimikrobiální/baktericidní substance
- Snížení střevní permeability/stabilizace střevní slizniční bariéry
- Modifikace toxinů a toxinových receptorů
- Imunomodulace/změna poměru T lymfocytů
- Stimulace imunitního systému, slgA (zvýšená sekrece protizánětlivých cytokinů, snížená produkce prozánětlivých cytokinů/mediátorů zánětu)
- Indukce fagocytózy granulocytů
- Stimulace imunitní odpovědi na patogeny
- Ovlivnění střevní motility
- Antikancerogeneze
- Kompetitivní inhibice s patogenními mikroby
- Antioxidativní vlastnosti
- Vliv na trávení a absorpci nutričních
- Zvýšení biologické dostupnosti vitaminů/rozpustnosti minerálních látek
- Hypolipidemický/antisklerotický účinek

Bezpečnost probiotik

Probiotika jsou obecně považována za bezpečná u dětí, avšak nemáme dostatek studií, které hodnotí bezpečnostní profil probiotik jako primární cíle studie (4). Mezinárodní certifikační autority vypracovaly obecně použitelný systém hodnocení bezpečnosti mikroorganismů používaných v potravinách, který zaručuje, že daný mikroorganismus není pro člověka nebezpečný a může být využit farmaceuticky nebo potravinářsky (6, 7). Jako u všech léčebných postupů je nezbytná opatrnost při podávání oslabeným rizikovým jedincům (imunosupresivní terapie, kriticky nemocné děti, centrální žilní katétr, nedonošené děti, porušená střevní integrita, syndromem krátkého střeva, srdeční chlopenní vady, atd.), kdy probiotika mohou mít nejen pozitivní efekt, ale na druhou stranu představovat i závažná zdravotní rizika (pneumonie, endokarditida, meningitida, sepse, antimikrobiální rezistence, laktátová acidóza) (8). V odborné literatuře se objevují spekulace o bezpečnosti probiotik a potenciálním riziku translokace probiotik z GIT do oběhu a vzniku sepse. Navzdory širokému použití probiotik jsou invazivní systémové infekce a sepse v dětském věku velmi vzácné. Systematická studie z období 1995 až 2021, která zahrnovala 1 537 publikací a hodnotila bakteriémie, fungemie po podání probiotik a bezpečnost, zaznamenala 49 případů invazivních infekcí. Jejich původcem

byly nejčastěji *Lactobacillus* spp., následně *Saccharomyces* spp., *Bifidobacterium* spp., *Bacillus clausii* a *Escherichia coli*. Většina z postižených dětí byla mladší dvou let a měla současně některý z rizikových faktorů. Antibiotiky se podařilo úspěšně vyléčit 94 % dětí (9). Studie u dětí, kterým byly od narození do 4 měsíců věku podávány obohacené formule mléčné kojenecké výživy, neprokázala žádné nežádoucí účinky na růst a vývoj dětí ani nežádoucí účinky související s invazí probiotických bakterií do krevního řečiště (10), obohacení formule o probiotika je bezpečné a zajišťuje normální vývoj zdravých kojenců a batolat (11).

Probiotika – dosud nevyřešené otázky

Přes značný pokrok ve výzkumu probiotik stále zůstává řada nezodpovězených otázek. Jaké specifické druhy/kmeny s prokázaným účinkem používat v jednotlivých situacích včetně náhradní mléčné výživy kojenců a batolat, jaký je účinek kombinace probiotik, jaké je optimální dávkování a doba preventivního nebo terapeutického podávání. Chybí farmakokinetické studie a studie o vztahu mezi dávkou probiotik a jejich účinkem.

Probiotika, složení a vývoj střevního mikrobiomu

Střevní mikrobiom ovlivňuje celou řadu metabolických, endokrinních a imunitních pochodů (nastavení imunitního systému, alergie, astma, zánětlivé procesy, obezita). Sekvence změn imunitního systému po narození je ovlivněna interakcí se střevním mikrobiomem a mikrobiálními látkami, zejména během prvních 3 měsíců života. Příkladem může být nedostatek bifidobakterií a vyčerpání genů kódujících enzymy potřebných pro využití oligosacharidů MM z metagenomu (izolované genomy, DNA všech mikroorganismů), které jsou spojeny se systémovým zánětem a dysregulací imunitních funkcí (12). Metagenomická analýza prokázala, že mezi nejpočetnější bakteriální rody u zdravých i nemocných patří *Bacteroides*, *Clostridioides*, *Fusobacterium*, *Peptococcus* a *Bifidobacterium*, v menší míře *Escherichia coli* a *Lactobacillus*. Složení střevního mikrobiomu je specifické pro každého jedince, dle věku, stejně jako je specifický mikrobiom v jednotlivých částech

organismu (kůže, uropoetický trakt, dutina ústní), což potvrdil projekt zkoumající vliv na pediatrickou populaci (Human Microbiome Project) (13). Střevní mikrobiom se také zásadně liší mezi populacemi a geograficky. První 3 roky života jsou pro formování střevního ekosystému a imunitní odpovědi zcela rozhodující. Narození dítěte je považováno za tzv. přírodní transplantaci mikrobů z vaginy a trávicího traktu matky do novorozeneckého střeva (14). Přenos bakterií v průběhu vaginálního porodu se děje vertikálním přenosem mikrobů z okolního prostředí (kůže, vagina, stolice). Při vaginálním porodu odpovídá střevní mikrobiota vaginální mikroflóře již 20 minut po narození. Po porodu císařským řezem je osídlování GIT opožděno a složení mikrobiomu odpovídá převážně kožnímu ekosystému. U novorozenců a kojenců narozených císařským řezem nacházíme *Clostridioides* a potenciálně patogenní bakterie při současně snížené kolonizaci bifidogenními bakteriemi. Významné odlišnosti ve složení střevního mikrobiomu podle typu porodu mizí až mezi 6. a 14. měsícem života (15). Kolonizace pokračuje průběžně v prvních letech života, složení mikrobiomu kojence se významně přibližuje dospělým v 1. roce života a jakéhosi „status-quo“ dosáhne až po 3. roce života. Fylogenetická diverzita se však signifikantně zvyšuje lineárně s věkem (16). Složení střevního mikrobiomu je také významně ovlivněno způsobem výživy (17). Kojení zůstává jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňujících časný vývoj a složení střevního mikrobiomu s tím, že přechod od 10. měsíce na náhradní kojeneckou výživu, další příkrmy a stravu dospělých je spojen s posunem k ekosystému dospělých. Bifidobakterie tvoří taxonomicky až 90 % střevního mikrobiomu vaginálně narozených dětí, které jsou současně kojeny. *Bifidobacterium longum subsp. infantis* (*B. infantis*), *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve* a *Bifidobacterium longum subsp. longum* představují hlavní druhy mikrobů u kojenných dětí po přirozeném porodu vedle rodu *Lactobacillus* a *Staphylococcus*, které se přirozeně vyskytují v MM. Vysoký obsah více jak 200 různých prebiotických oligosacharidů (2'-fukosyllaktóza, 3'-sialylaktóza, atd.) v MM (HMOs) (oligosacharidy mateřského mléka), které jsou bifidobakterie

schopny unikátně metabolizovat a mají pro tento účel specifickou genetickou výbavu, podporuje uhnízdění bifidobakterií ve střevě u kojenných dětí. HMOs a kyselina mléčná jsou nezbytné pro osídlení a růst bifidobakterií a laktobacilů, potencují schopnost jejich adheze na střevní epitelální buňky, vzájemné komunikace a podporují tak kompetitivní inhibici patogenních mikrobů. HMOs, které tvoří třetí, kvantitativně největší složku MM, můžeme rozdělit do tří skupin včetně oligosacharidů se strukturou frukto-oligosacharidů (FOS) a galakto-oligosacharidů (GOS), kterými jsou již přípravky náhradní kojenecké výživy standardně obohacovány a zvyšují účinek suplementace probiotiky. Bakteriální metabolity spojené s fermentací HMOs mají imunomodulační schopnosti asociované s protektivní funkcí proti alergiím (18). Endogenní syntéza sekrečního IgA (sIgA) je také ovlivněna přítomností mikrobů, zvláště vlivem bifidobakterií po prvním týdnu života, kdy sIgA novorozenec získával pouze z MM. Naopak, u dětí živěných náhradní kojeneckou výživou pozorujeme rychlejší a odlišnou maturaci střevního mikrobiomu, ve srovnání s kojennými dětmi. Střevní mikrobiom u nekojených dětí se nepříznivě diverzifikuje mnohem časněji než u kojenných. To je spojeno s predominantním osídlením anaerobními mikrobiy (*Bacteroides*, *Clostridioides*) se sníženým obsahem zdravých prospěšných mikrobů. Celkově snížené množství bifidobakterií u kojenců po císařském řezu nebo nekojených představuje rizikový faktor pro poruchu metabolismu mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFAs), zvýšení pH stolice a dysfunkci střevní bariéry. Kojenci jsou vystaveni zvýšenému riziku abnormální imunitní reakce už v časných fázích života, což může být základem pro rozvoj různých imunopatologických onemocnění jako alergie, autoimunity nebo další chronické nemoci v pozdějším věku (19). Na interakce mezi bakteriálním osídlením a slizniční imunitou mají vliv faktory vnitřního a zevního prostředí. Signifikantní změny ve složení střevního mikrobiomu jsou dobře patrné v pěti časových obdobích; začátek kojení, opakované horečnaté stavy, zavedení rýžových příkrmů, zavedení náhradní formule a formované stravy, antibiotická terapie a upravená strava dospělých. Stravovací

změny jsou doprovázeny vedle změn ve složení střevního mikrobiomu také změnami v expresi genů mikrobiomu, příkladem může být přechod na upravenou stravu dospělých a geny asociované s biosyntézou vitaminů a trávením polysacharidů (20). Otázkou stále zůstává, jak stabilní je mikrobiom. Obecně platí, že existuje dynamická interakce mezi ekosystémem zevního prostředí a variabilní intrapersonální diverzitou. Významný pohled do molekulárních mechanismů, přinesly studie ukazující, že nedostatek bifidobakterií je spojen s výskytem chronických zánětů

a dysregulací imunity (20). U kojených dětí suplementovaných *Bifidobacterium infantis* EVC001, který je vybaven všemi geny nezbytnými k metabolizaci HMOs, došlo k polarizaci Th2/Th17 cytokinů a indukci tvorby interferonu β (IFN β). Suplementace náhradní kojenecké výživy v časných fázích života může mít také signifikantní preventivní účinek v dalších obdobích života. Výsledky studií prokazují také vliv střevního mikrobiomu na urychlení neuropsychických procesů, myšlení, chování nebo reakci na stresové situace u kojenců. Experimentální studie

prokazují anxiolytický účinek studovaných probiotik (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium* nebo *Bacteroides*) se současnými strukturálními a biochemickými změnami v mozku (21).

Souhrn

Probiotika jsou zdraví prospěšné mikroby, které komplexním způsobem významně ovlivňují výživu novorozenců a kojenců. Obecně působí pozitivně na bakteriální osídlení střeva, při dlouhodobém podávání jsou bezpečná a mohou ovlivnit vznik a terapii různých onemocnění dětského věku.

LITERATURA

1. Fadhlou K, Arnal ME, Martineau M, et al. Archaea, specific genetic traits, and development of improved bacterial live biotherapeutic products: another face of next-generation probiotics. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020;104(11):4705-4716.
2. Cameron D, Hock QS, Kadim M, et al. Probiotics for gastrointestinal disorders: Proposed recommendations for children of the Asia-Pacific region. *World J Gastroenterol.* 2017;23(45):7952-7964.
3. Szajewska H, Berni Canani R, Domellöf M, et al. ESPGHAN Special Interest Group on Gut Microbiota and Modifications. Probiotics for the Management of Pediatric Gastrointestinal Disorders: Position Paper of the ESPGHAN Special Interest Group on Gut Microbiota and Modifications. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2023;76(2):232-247.
4. Hojsak I, Fabiano V, Pop TL, et al. Guidance on the use of probiotics in clinical practice in children with selected clinical conditions and in specific vulnerable groups. *Acta Paediatr.* 2018;107(6):927-937.
5. Hill C, Guarner F, Reid G, et al. Expert Consensus Document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics Consensus Statement on the Scope and Appropriate Use of the Term Probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;11:506-514.
6. Koutsoumanis K, Allende A, Alvarez-Ordóñez A, et al. Scientific Opinion on the Update of the List of QPS-Recommended Biological Agents Intentionally Added to Food or Feed as

- Notified to EFSA (2017–2019). *EFSA J.* 2020;18:5966.
7. Binda S, Hill C, Johansen E, et al. Criteria to Qualify Microorganisms as „Probiotic“ in Foods and Dietary Supplements. *Front Microbiol.* 2020;24(11):1662.
8. Merenstein D, Pot B, Leyer G, et al. Emerging issues in probiotic safety: 2023 perspectives. *Gut Microbes.* 2023;15(1):2185034.
9. D'agostin M, Squillaci D, Lazzerini M, et al. Invasive infections associated with the use of probiotics in children: a systematic review. *Children (Basel).* 2021;8(10):924.
10. Brunser O. Probiotics: innocuousness, prevention and risks. *Rev Chil Pediatr.* 2017;88(4):534-540.
11. Capeding MRZ, Phee LCM, Ming C, et al. Safety, efficacy, and impact on gut microbial ecology of a *Bifidobacterium longum* subspecies *infantis* LMG11588 supplementation in healthy term infants: a randomized, double-blind, controlled trial in the Philippines. *Front Nutr.* 2023;14:10.
12. Smilowitz JT, German JB, Frese SA, et al. Bifidobacteria-mediated immune system imprinting early in life. *Cell.* 2021;184(15):3884-3898.
13. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, et al. Defining the human microbiome. *Nutr Rev.* 2012;70(Suppl 1):S38-44.
14. Jeurink P, Van Bergenhenegouwen J, Jimenez E, et al. Human milk: a source of more life than we imagine. *Beneficial microbes.* 2013;4:17-30.
15. Montoya-Williams D, Lemas DJ, et al. The Neonatal Micro-

- biome and Its Partial Role in Mediating the Association between Birth by Cesarean Section and Adverse Pediatric Outcomes. *Neonatology.* 2018;114(2):103-111.
16. Rutayisire E, Huang K, Liu Y, et al. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterol.* 2016;16(1):86.
17. Milani C, Duranti S, Bottacini F, et al. The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2017;81(4):e00036-17.
18. Sakanaka M, Gotoh A, Yoshida K, et al. Pathways of Infant Gut Associated *Bifidobacterium* to Assimilate Human Milk Oligosaccharides: Prevalence of the Gene Set and Its Correlation with *Bifidobacteria*-Rich Microbiota Formation. *Nutrients.* 2019;26;12(1):71.
19. Li M, Lu H, Xue Y, et al. An In Vitro Colonic Fermentation Study of the Effects of Human Milk Oligosaccharides on Gut Microbiota and Short-Chain Fatty Acid Production in Infants Aged 0-6 Months. *Foods.* 2024;13(6):921.
20. Henrick BM, Rodriguez L, Lakshmikanth T, et al. Bifidobacteria-mediated immune system imprinting early in life. *Cell.* 2021;184(15):3884-3898.
21. Carlson AL, Xia K, Azcarate-Peril MA, et al. Infant gut microbiome composition is associated with non-social fear behavior in a pilot study. *Nat Commun.* 2021;12(1):3294.