

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Ověření deklarovaných počtů bakterií v probiotických
preparátech určených pro lidskou výživu**

Diplomová práce

Ing. Lucie Vytlačilová

Výživa a potraviny

prof. Ing. Eva Vlková, Ph.D.

Konzultant: Ing. Nikol Modráčková

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Ověření deklarovaných počtů bakterií v probiotických preparátech pro lidskou výživu" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14. 4. 2022

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Eva Vlková, Ph.D. za odborné vedení diplomové práce, za čas, který mi ochotně věnovala při konzultacích, trpělivost a cenné připomínky, které mi udělila. V neposlední řadě děkuji své rodině za podporu během studia.

Ověření deklarovaných počtů bakterií v probiotických preparátech pro lidskou výživu

Souhrn

Probiotika jsou živé mikroorganismy, které jsou při užívání v dostatečném množství přínosné pro zdraví hostitele. Mezi jejich hlavní pozitivní efekt patří ustavení rovnovážného stavu střevní mikrobioty, posílení imunitního systému, tvorba bakteriocinů potlačující patogeny, syntéza vitamínů, aminokyselin a enzymů. Jejich účinnost závisí nejen na kmeni, ale také na podané dávce probiotických bakterií. Jejich množství by měl na obalu deklarovat výrobce, ale dle legislativních požadavků to není povinnost.

Cílem této práce bylo ověření deklarovaného počtu probiotických bakterií u 10 výrobků zakoupených na e-shopech a v drogeriích. Byly stanoveny počty bakterií rodů *Lactobacillus*, *Streptococcus* a *Bifidobacterium* kultivační deskovou metodou na selektivních pěstebních prostředích. Deklarované množství splnilo pouze 50 % výrobků. Nevyhovující výrobky se v deklarovaném a zjištěném množství lišily o 1 až 2 řády. Dále byl zjišťován pokles probiotických mikroorganismů v 17 výrobcích zakoupených v lékárně, které byly po skončení minimální trvanlivosti. Nejčastější byl pokles o 2 řády, a u některých výrobků došlo k úplnému vymizení rodu *Lactobacillus* nebo *Bifidobacterium*. Poslední část práce se zabývá zhodnocením ceny výrobku ve vztahu k jeho složení. Ze všech 27 testovaných výrobků splnilo deklarované množství mikroorganismů 13 vzorků, které se nacházely v průměrné cenové relaci 8 Kč/dávku.

Probiotika by se měla konzumovat jen v případě potřeby a jejich nadužívání by se nemělo podporovat ze stran lékařů ani výrobců. Mnohem efektivnější je podporovat rozvoj bakterií ve střevech konzumací potravin s prebiotickými látkami. Z výsledků práce, které jsou shodné s výsledky mnoha studií, plyne naléhavá potřeba kontroly kvalitativního i kvantitativního složení probiotických doplňků stravy dozorovými orgány, aby nedocházelo ke klamání spotřebitele. A i když není zaručeno, že výrobky budou obsahovat to, co výrobce deklaruje, je vhodné se při jejich výběru zaměřit se na počet deklarovaných kmenů a celkové množství mikroorganismů.

Klíčová slova: Probiotika, doplňky stravy, kvantifikace, kultivace, selektivní média

Quantification of probiotic bacteria in human probiotic supplements

Summary

Probiotics are living microorganisms, when used in sufficient quantities, are beneficial to the health of the host. Their main positive effect includes supporting the intestinal microbiota balance, the strengthening of the immune system, the production of bacteriocins that suppress pathogens, and the synthesis of vitamins, amino acids and enzymes. Their effectiveness depends not only on the strain, but also on the dose of probiotic bacteria administered. Their quantity should be declared by the manufacturer on the packaging, but according to legislative requirements it is not obligatory.

The aim of this work was to verify the declared number of probiotic bacteria in 10 products purchased in e-shops and drugstores. The numbers of bacteria of the genus *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Bifidobacterium* were determined by a culture plate method on selective growing media. Only 50 % of the products met the declared quantity. Non-compliant products differed by 1 to 2 orders of magnitude in the declared and ascertained quantities. Furthermore, a decrease in probiotic microorganisms was found in 17 products purchased at the pharmacy, which were after the end of the minimum shelf life. The most common was a decrease of 2 orders of magnitude, and in some products the genus *Lactobacillus* or *Bifidobacterium* completely disappeared. The last part of the work deals with the evaluation of the price of the product in relation to its composition. Of all 27 tested products, 13 samples met the declared amount of microorganisms, which were in the average price range of 8 CZK/dose.

Probiotics should be consumed only when needed and their overuse should not be encouraged by medical doctors or manufacturers. It is much more effective to support the development of bacteria in the gut by consuming foods with prebiotics. The results of this work, which are consistent with the results of many studies, show the urgent need to monitor the qualitative and quantitative composition of probiotic food supplements by supervisory authorities in order to avoid misleading the consumer. And while there is no guarantee that the products will contain what the manufacturer declares, it is advisable to focus on the number of declared strains and the total amount of microorganisms when selecting them.

Keywords: Probiotics, dietary supplements, quantification, cultivation, selective media

Obsah

1	Úvod.....	7
2	Vědecká hypotéza a cíle práce.....	8
3	Literární rešerše	9
3.1	Probiotika	9
3.2	Charakteristika významných rodů probiotických bakterií	10
3.2.1	Rod <i>Lactobacillus</i>	10
3.2.2	Rod <i>Streptococcus</i>	12
3.2.3	Rod <i>Bifidobacterium</i>	13
3.3	Složení a funkce střevní mikrobioty	14
3.4	Mechanismus působení probiotik a jejich zdravotní přínosy	15
3.5	Probiotika při léčbě nemocí	18
3.5.1	Onemocnění imunitního systému	18
3.5.2	Gastrointestinální onemocnění	20
3.5.3	Civilizační choroby.....	21
3.5.4	Respirační onemocnění.....	25
3.5.5	Covid-19	26
3.6	Probiotika a jejich negativní vlastnosti.....	27
3.7	Legislativa	28
4	Materiál a metody.....	30
4.1	Testované probiotické preparáty.....	30
4.2	Metodika	33
4.3	Složení ředícího média a použitých živných půd	33
4.4	Pracovní postup.....	35
4.5	Postup při vyhodnocení	38
5	Výsledky	39
5.1	Ověření deklarovaných počtů probiotických bakterií po skončení doby minimální trvanlivosti.....	39
5.2	Ověření deklarovaných počtů v probiotických preparátech dostupných na e-shopech a v drogeriích	43
5.3	Zhodnocení ceny výrobku ve vztahu k jeho složení.....	44
6	Diskuze	48
7	Závěr	54
8	Literatura	55
9	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	62

1 Úvod

Střevní mikrobiota je tvořena tisíci druhy různých mikroorganismů a hraje důležitou roli v udržování imunitní, střevní a energetické homeostázy organismu. Je ovlivněna mnoha aspekty, mezi které patří strava, užívání léků, hostitelský fenotyp a další. Mnoho studií prokázalo přímé spojení mezi střevní mikrobiotou a zdravím jedince. Její narušení se spojuje s onemocněními jako je obezita, diabetes II. typu, syndrom dráždivého tračníku, zánětlivé onemocnění střev, alergie nebo rakovina tlustého střeva. Rovnováhu střevní mikrobioty pomáhají udržovat mimo jiné i probiotika. Různé mikroorganismy se jako probiotika začaly využívat během minulého století, kdy vznikl i termín probiotika, neboli „pro-život“. První klinické testy účinnosti probiotik na zácpu byly provedeny v roce 1930. Od té doby začala být součástí různých potravinářských výrobků a doplňků stravy po celém světě.

Poptávka po probiotických produktech se v posledních letech neustále zvyšuje a je kladen tlak na výrobce produkovat kvalitní výrobky s maximálním množstvím živých probiotických mikroorganismů. Výrobci deklarují na obalech probiotických preparátů pro lidskou výživu určité množství bakteriálních buněk, které by mělo být dodrženo po stránce kvalitativní i kvantitativní, aby nedocházelo ke klamání spotřebitele a produkt splňoval svůj účel. Terapeutické minimum, kterým se zajišťuje zdravotní prospěšnost probiotických doplňků stravy, je uváděno jako 5×10^9 KTJ/den pro dítě a pro dospělého člověka jako 10×10^9 KTJ/den (Meyer et al., 2006). Pro probiotické doplňky stravy však neexistují v legislativě žádné limity, ale výrobce musí splnit deklarované údaje, proto je i tato práce zaměřena na ověření výrobcem uváděných počtů probiotických mikroorganismů ve vybraných preparátech.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotéza 1: Probiotické doplňky stravy budou obsahovat deklarované počty mikroorganismů během doby minimální trvanlivosti.

Hypotéza 2: Po uplynutí doby minimální trvanlivosti budou počty mikroorganismů v probiotických doplňcích stravy klesat.

Cílem diplomové práce je kvantifikace bifidobakterií, laktobacilů a streptokoků ve vybraných probiotických preparátech určených pro lidskou výživu a ověření jejich deklarovaného počtu výrobcem. Dále pak sledování životaschopnosti probiotik i po uplynutí doby minimální trvanlivosti probiotických doplňků stravy.

3 Literární rešerše

3.1 Probiotika

V lidském střevě žijí milióny bakterií, které dohromady tvoří střevní mikrobiotu. K masivní kolonizaci trávicího traktu dochází během porodu. Skladba a zastoupení jednotlivých mikroorganismů se pak během života vyvíjí a mění. Složení střevní mikrobioty je ovlivněno životním stylem, stravováním, konzumací léků i tím, jak kvalitní je zdroj pitné vody, nebo jaké jsou používány kosmetické a hygienické prostředky.

Probiotika jsou živé mikroorganismy, které při podání v dostatečném množství, poskytují hostiteli zdravotní přínos prostřednictvím zlepšení mikrobiální rovnováhy střev. Oficiální definice probiotik, kterou doporučuje i Mezinárodní vědecká asociace pro probiotika a prebiotika (International scientific association for probiotics and prebiotics), vydala Organizace pro výživu a zemědělství (FAO) spolu se Světovou zdravotnickou organizací (WHO) v roce 2014, zní: „Probiotika (také nazývané bakterie nebo kultury) jsou mikrobiální součást potravin, která při konzumaci dostatečného množství vykazují příznivé účinky na zdraví konzumenta a umožňují předejít nebo zlepšit průběh některých onemocnění“ (Hill et al., 2014). Prebiotikum je substrát, který hostitelské mikroorganismy využívají. Pojem symbiotikum, dříve označováno jako kombinace probiotik a prebiotik, je nyní definováno jako směs obsahující živé mikroorganismy a substrát, který je selektivně využíván hostitelskými mikroorganismy, které poskytují hostiteli zdravotní přínos (Salminen et al., 2021).

Skutečné probiotikum by mělo být přednostně lidského původu. Musí být bezpečné, netoxické a bez vektorů, kterými by bylo možné přenášet rezistenci na antibiotika. Dalšími požadavky na vlastnosti probiotik jsou: životaschopnost během zpracování, skladování, odolnost vůči žlučovým kyselinám, pankreatickým šťávám a odolnost k nízkým hodnotám pH v žaludečních šťávách. Pokud jsou tyto podmínky splněny, jsou schopny probiotické bakterie projít bez poškození do tlustého střeva, kde v ideálním případě dochází k jejich adhezi na střevní sliznici, a tím omezují přítomnost a rozvoj enteropatogenních a enterotoxigenních bakterií (Kerry et al., 2018).

Jako probiotické mikroorganismy se nejčastěji využívají fermentující, obligátně nebo fakultativně anaerobní bakterie nebo kvasinky. Produkují metabolické produkty, které mají příznivý vliv na konzumenta (Ottles and Hazal, 2014).

Běžně používanými probiotiky jsou zejména bakterie mléčného kvašení. V probiotických výrobcích jsou nejčastěji deklarováni zástupci rodů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, v menší míře i druhy *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Saccharomyces*, *Pediococcus* a *Bacillus* (Dockrell et al., 2016). Ve spolupráci s Katedrou mikrobiologie, výživy a dietetiky na ČZU, byl vytvořen přehled probiotických doplňků stravy a obsah jejich probiotických mikroorganismů dostupných na českém trhu (Příloha 1 až 5).

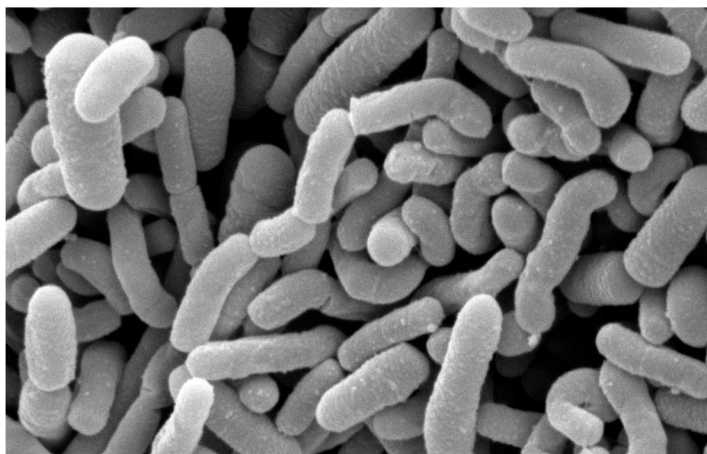
Výběr vhodného probiotika je ovlivněn několika aspekty. Záleží na biochemických vlastnostech, metabolismu i genetické stabilitě vybraných probiotických kmenů, na technologické stabilitě vybraného produktu během jeho výroby a skladování. K dalším aspektům patří fyziologické vlastnosti, jako je odolnost bakterií ke stresu, který je způsoben prostředím při průchodu trávicím traktem, a adheze k epitelu střevního traktu. Dále jejich zdraví prospěšné vlastnosti a v neposlední řadě také bezpečnostní aspekty (Didari et al., 2014).

3.2 Charakteristika významných rodů probiotických bakterií

Nejčastější rody probiotických bakterií, v komerčně dostupných výživových doplňcích na českém trhu, jsou *Lactobacillus*, *Streptococcus* a *Bifidobacterium*. V probiotických preparátech jsou deklarovány v nejvyšším množství. Níže je uvedena jejich bližší charakterizace.

3.2.1 Rod *Lactobacillus*

Rod *Lactobacillus* patří do kmene *Firmicutes*, třídy *Bacilli*, řádu *Lactobacillales* a čeledi *Lactobacillaceae*. Jedná se o nepohyblivé grampozitivní nesporetvorné bakterie mléčného kvašení. Jsou schopny fermentovat laktózu a glukózu za vzniku kyseliny mléčné, kyseliny octové, etanolu a oxidu uhličitého (Hill et al., 2018). Buňky jsou převážně rovného tvaru, případně tvaru kokobacilů (Obrázek 1) (Killer, 2019). Vzhledem k hlavnímu metabolickému produktu, kyselině mléčné, dávají přednost kyseléjšímu prostředí (pH pod 4). Teplota, při které dosahují optimálního růstu, se pohybuje v rozmezí 15 až 45 °C (Hill et al., 2018).



Obrázek 1: *Lactobacillus acidophilus*
(přezato z: <https://fineartamerica.com>)

Tato skupina bakterií je charakterizována fylogenetickou a metabolickou rozmanitostí. Nejnovější rozdělení je dle zkvašování cukrů do tří skupin: obligátně homofermentativní, fakultativně heterofermentativní a obligátně heterofermentativní mléčné bakterie. Obligátně homofermentativní druhy jsou mikroaerofilní a fermentují pouze hexosy na kyselinu mléčnou. Vyskytují se v mléku a mléčných výrobcích, najdeme je také v masných výrobcích a v trávicím traktu zvířat i lidí. Fakultativně heterofermentativní jsou mezofilní tyčinky s tendencí vytvářet řetízky. Při fermentaci hexózy na kyselinu mléčnou vzniká kyselina mléčná a některé druhy produkují při nedostatku glukózy i kyselinu octovou, etanol a kyselinu mravenčí. Jsou využívány v potravinářství jako čisté zákysové kultury, dále v sýraštví, v pekařském kvásku nebo při kvašení zelí. Poslední skupina obligátně heterofermentativních laktobacilů fermentuje hexózy na kyselinu mléčnou, kyselinu octovou, etanol a oxid uhličitý. Pentózy zkvašují na kyselinu mléčnou a octovou. Tyto bakterie se často vyskytují jako kontaminace droždí a vína (Mayo et al., 2010).

Rod *Lactobacillus* zahrnuje 261 druhů a v současné době dochází k publikaci nových poznatků a reklasifikaci tohoto rodu. Na základě sekvenování celého genomu bakterií je nově vytvořeno 23 rodů. Příklady změny názvů používaných druhů v potravinářství a probiotických doplňcích stravy jsou uvedeny v Tabulce 1. Cílem bylo druhy bakterií lépe zařadit, aby se v taxonomii odrážela i heterogenita genomu a jednotlivé zástupce bylo možné odlišit i podle jejich funkčních vlastností a adaptace na hostitele (Zheng et al., 2020).

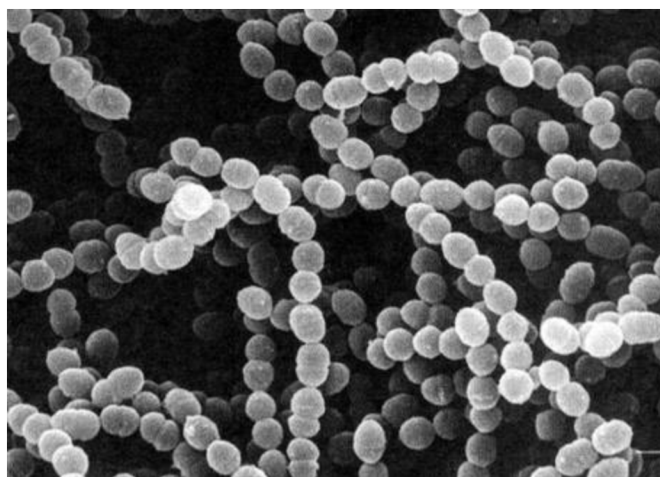
Díky dlouhé historii používání *Lactobacillus* v kvašených produktech, vedlo k tomu, že jej americký úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA), uznal jako „Generally Recognized as Safe“ (GRAS; obecně uznávaný jako bezpečný) (Duar et al., 2017).

Tabulka 1: Reklasifikace rodu *Lactobacillus* (Zheng 2020)

Původní název	Nové zařazení
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Limosilactobacillus reuteri</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i>
<i>Lactobacillus kefir</i>	<i>Lentibacillus kefir</i>
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	<i>Fructilactobacillus sanfranciscensis</i>

3.2.2 Rod *Streptococcus*

Bakterie rodu *Streptococcus*, z kmene *Firmicutes*, třídy *Bacili*, řádu *Lactobacillales* a čeledi *Streptococcaceae*, jsou gram-pozitivní, fakultativně anaerobní mikroorganismy. Je pro ně charakteristický kokovitý tvar a řetězkovité uspořádání (Obrázek 2) (Richards et al., 2014).



Obrázek 2: *Streptococcus thermophilus*
(převzato z: <https://www.indiamart.com>)

Je známo více než 70 druhů streptokoků. Mnoho z nich je omezeno na člověka nebo jediného zvířecího hostitele. Mají vážný dopad na lidské zdraví a podíl i na ekonomických ztrátách v zemědělství. Způsobují nemoci jako je nekrotizující fasciitida,

syndrom toxického šoku, meningitida, pneumonie, zánět středního ucha i život ohrožující seps. Jeden druh je nepatogenní a je široce používán v mlékárenském průmyslu. Jedná se o *Streptococcus thermophilus* (Martinovic et al., 2020).

S. thermophilus je anaerobní, teplomilná bakterie mléčného kvašení. Optimální teplota je okolo 45 °C, ale některé druhy jsou odolné i při 80 °C po dobu 15 minut. Neroste při teplotách nižších než 10 °C, pH 9,6 nebo v 6,5% roztoku NaCl. Používá se jako startér při výrobě mléčných výrobků (výroba jogurtů a sýrů jako je ementál, Parmigiano, Grana, mozzarella, čedar, atd.). Spolu s jinými bakteriemi mléčného kvašení je schopný zkvašovat laktózu za vzniku kyseliny mléčné a sekundárních metabolických produktů, jako je mravenčan, acetaldehyd nebo diacetyl, které přispívají k aromatům a texturní vlastnosti fermentovaných produktů. Při jeho použití je výhodou rychlé zvyšování kyselosti. Používá se také ke zjišťování přítomnosti antibiotik a jiných inhibičních látek v mléce, na které je citlivý (Uriot et al., 2017).

3.2.3 Rod *Bifidobacterium*

Bifidobacterium řadíme do kmene *Actinobacteria*, řádu *Bifidobacteriales* a čeledi *Bifidobacteriaceae*. Jedná se o nepravidelné nesporulující grampozitivní tyčinky ve tvaru V nebo Y (Obrázek 3). Kolonie jsou lesklé, smetanově bílé, lehce vypouklé, v řetízkovitém, palisádovém nebo hvězdicovitém uspořádání. Jsou striktně anaerobní. Teplotní optimum se pohybuje v rozmezí 37 až 41 °C. Vhodná hodnota pH pro růst je 6,5 až 7,0. Nad hodnotou pH 8,5 anebo pod hodnotou 4,5 je jejich růst výrazně omezen (Praet et al., 2015; Modesto et al., 2018).



Obrázek 3: *Bifidobacterium breve*
(převzato z: <http://www.probiotic-cn.com>)

Bakterie rodu *Bifidobacterium* jsou schopny štěpit fermentované sacharidy na kyselinu mléčnou a octovou v poměru 2:3. Vyšší množství kyseliny octové se podílí na antagonistickém účinku proti patogenním gramnegativním bakteriím. Od ostatních bakterií mléčného kvašení se odlišují neschopností fermentovat cukry (Saad et al., 2013).

Tato skupina bakterií patří k hlavním zástupcům střevní mikrobioty, zejména během prvních šesti až dvanácti měsíců po narození. Ve výkalech kojenců je množství nejvyšší, zejména pak druhy *B. infantis*, *B. breve* a *B. longum* (Duranti et al., 2019). U starších osob pak dochází k poklesu jejich počtů, proto byly také označeny jako důležitý mikrobiální modulátor imunitního systému a střevní fyziologie u dětí. Mimo trávicí trakt dětí se mohou nacházet i v zubním kazu, vagině, ve střevech hmyzu nebo v odpadních vodách (Tamime and Thomas, 2018).

Dosud bylo známo 77 taxonů (70 druhů a 7 poddruhů), které jsou řazeny do rodu *Bifidobacterium*. Vzhledem k stále větší dostupnosti moderních identifikačních postupů založených na metagenomických analýzách, neustále přibývá nově popisovaných druhů bakterií, včetně probiotických. Například Duranti et al. (2020) popisují *Bifidobacterium aemilianum*, *Bifidobacterium jacchi* a *Bifidobacterium xylocopae*. Tyto nové taxony byly fylogenetickými analýzami, které jsou založené na sekvencích genu pro 16S rRNA, prokázány jako příslušníci tohoto rodu a zároveň se potvrdila jejich odlišnost od všech dosud známých druhů *Bifidobacterium*. V další studii byla pomocí fylogenetických analýz odhalena blízká příbuznost mezi pěti kmeny izolovaných z trusu primátů (*Pan troglodytes*, *Saguinus oedipus*, *Callimico goeldii*, *Saguinus mystax*, *Erythrocebus patas*) chovaných v ZOO Liberec a ZOO Olomouc a rodem *Bifidobacterium*. Tyto nové kmeny byly pojmenovány *Bifidobacterium erythrocebi* sp. nov., *Bifidobacterium moraviense* sp. nov., *Bifidobacterium oedipodis* sp. nov., *Bifidobacterium olomucense* sp. nov. a *Bifidobacterium panos* sp. nov. (Neužil-Bunešová et al., 2021).

3.3 Složení a funkce střevní mikrobioty

Udává se, že každý průměrný člověk má v těle několik desítek až stovek bilionů bakterií a největší podíl mikroorganismů se vyskytuje na sliznici gastrointestinální soustavy (GIT). Po narození je GIT dítěte téměř sterilní a její další osidlování záleží hlavně na stravě. V dospělosti pak tlusté střevo člověka obsahuje odhadem až 500 různých druhů bakterií, které v součtu mohou vážit 1 až 1,5 kilogramů (Indira et al., 2019; Plaza-Diaz et al., 2019).

V horní části gastrointestinální soustavy (dutina ústní, jícen, žaludek a dvanáctník) je okolo 10^3 až 10^4 KTJ bakterií, převažují zde fakultativně anaerobní bakterie rodu *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Propionibacterium* a *Bacillus*. Ve střední části GIT (jejunum, ileum) jejich množství vzroste na 10^4 až 10^8 KTJ. Největší množství střevních mikroorganismů, 10^{10} až 10^{12} KTJ je v kolonu. Zde jsou nejvíce zastoupeny rody striktně anaerobních bakterií (*Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Fusobacterium*, *Proteus*, *Clostridium*), kvasinky a koliformní bakterie (Plaza-Diaz et al., 2019).

Mikroorganismy v trávicím traktu zabraňují nežádoucímu pomnožení patogenních druhů mikroorganismů. Jejich hlavním úkolem je fermentace látek přijatých potravou, které nebyly strávené v tenkém střevě. Jedná se o škroby a neškrobové polysacharidy, oligosacharidy, proteiny a další látky, které následně využijí jako živiny. Pro cizí bakterie je pak množství živin nedostatečné a snižuje se pravděpodobnost kolonizace střeva patogenními bakteriemi. Nestrávené složky potravy rozkládají střevní bakterie na kyselinu mléčnou, za aerobních podmínek na kyselinu octovou a oxid uhličitý. Tím se snižuje pH až pod hodnotu 4, čímž je také znemožněn růst patogenních a hnilobných bakterií (Khare et al., 2018).

Střevní bariéra je proto jedním z hlavních obranných mechanismů organismu před okolním prostředím. Obranu střevní bariéry tvoří slizniční vrstva, antimikrobiální peptidy, sekreční IgA a adhezni komplex epitelárního spojení. Pokud je tato bariérová funkce narušena, bakteriální a potravinové antigeny se mohou dostat do submukózy a následně vyvolávat zánětlivé reakce, které způsobují střevní poruchy. Negativní ovlivnění a narušení střevní bariéry může být způsobeno gastroenteritidou, kolitidou nebo rakovinou. Dále také užíváním antibiotik, cytostatik a imunosupresiv. Rovnovážný stav mezi užitečnými bakteriemi a patogenními mikroorganismy může být negativně ovlivněn i stravou a dietami (Singh et al., 2018).

3.4 Mechanismus působení probiotik a jejich zdravotní přínosy

Po narušení nebo jen k preventivní úpravě rovnováhy střevní mikrobioty slouží probiotika. Mají mnoho pozitivních účinků na lidské zdraví a na trhu jsou dostupná v různých formách. Jako alimentární probiotika můžeme označit fermentované mléčné výrobky (kefir, acidofilní mléko, jogurtové nápoje, podmáslí, jogurty), tvarohy, fermentovanou zeleninu,

tvrdé sýry a některé tvrdé salámy. Pokud jsou probiotické kultury používány ve formě doplňků stravy, jako jsou tablety nebo prášky, hovoříme o skupině farmaceutických probiotik. Poprvé se začala vyrábět v roce 1917 (Indira et al., 2019). Jejich složení a cílovou skupinu, pro kterou jsou konkrétní výrobky určeny, deklaruje výrobce. Některá z probiotik mohou být podávána pouze v nemocnicích jako speciální vakcíny, nebo preparáty na lékařský předpis. Taková lze označit pojmem medicínská probiotika. Patří mezi ně například řada Symbioflor, ColonFit Plus nebo ENTEROL, který je veden jako lék a spadá pod kontrolu Státního ústavu pro kontrolu léčiv (SÚKL) (Doron and Snyderman, 2015).

Mezi hlavní mechanismy působení probiotik patří: posílení bariérových funkcí střevního epitelu a normalizace narušené střevní mikrobioty, konkurenční vyloučení patogenů a produkce bakteriocinu, ovlivnění imunitního systému hostitele, syntéza vitamínů, aminokyselin a enzymů (Khare et al., 2018).

Bioaktivní sloučeniny, které produkují probiotické bakterie, vstupují po orálním podání do gastrointestinálního traktu, kde aktivují produkci molekul tzv. „Quorum sensing“, což je mechanismus, kterým pomocí signálních molekul bakterie regulují expresi některých genů v závislosti na hustotě populace. Tyto molekuly tvoří biofilm, ochrannou vrstvu z lipopolysacharidů, který pomáhá jako růstový substrát pro kolonizaci užitečných bakterií, a zabraňuje kolonizaci patogenních bakterií (Mukherjee and Ramesh, 2015). Dále aktivují dendritické buňky, které aktivují nativní T-buňky (bílé krvinky ze skupiny lymfocytů) a ty aktivují B-lymfocyty, které produkují IgA a jsou zodpovědné za specifickou, protilátkami zprostředkovanou, imunitní odpověď. Třetím mechanismem působení bioaktivních sloučenin je produkce bakteriocinů a antimikrobiálních peptidů, které zabíjejí patogenní bakterie a vedou k eliminaci škodlivých organismů ve střevech (Derrien and Vlieg, 2015). Dalším mechanismem působení probiotických bakterií je produkce mastných kyselin s krátkým řetězcem (butyrát, acetát a propionát) a organických kyselin (kyselina mléčná, kyselina octová). Kyseliny snižují pH ve střevním prostředí a vytváří tam nevhodné podmínky pro růst patogenních bakterií (Schepper et al., 2017). Pátým mechanismem působení můžeme označit produkci živin a růstových faktorů, jako jsou vitamíny a prekurzory enzymů, které se podílejí na regulaci metabolismu prostřednictvím biochemických reakcí. Vitamíny produkované probiotickými bakteriemi jsou vitamíny B-komplexu (zejména vitamín B12, který není syntetizován lidmi) a vitamín K, které pomáhají růstu a adhezi užitečných bakterií na střevní sliznici (Indira et al., 2019). Mastné kyseliny s krátkým řetězcem také regulují receptory spřažené s G-proteinem (GPCR; protein-coupled receptor). GPCR je označení pro celou skupinu receptorů, které jsou přítomné na cytoplazmatické membráně a zajišťují hlavní

přenos signálu z vnější strany buňky směrem dovnitř. V této linii se propionát váže na receptor GPR43 a spouští produkci interleukinu IL-10, což pomáhá při řešení zánětlivých reakcí. Stejně tak i butyrát spouští diferenciaci T-buněk vedoucí k produkci IL-10, navíc se ještě váže na peroxizomem proliferovaný aktivovaný receptor- γ . Tento celý proces vede k β -oxidaci a spotřebě kyslíku. Snížením hladiny kyslíku ve střevech je vytvářeno anaerobní prostředí, které je pro patogenní bakterie nežádoucí (Cani, 2018).

Probiotické bakterie tedy celkově ovlivňují metabolismus, imunitní systém, složení i fungování střevních mikrobů. V následující Tabulce 2 je uveden souhrnný přehled bioaktivních sloučenin produkovaných probiotickými bakteriemi a jejich přínos pro zdraví (Indira et al., 2019).

Tabulka 2: Zdravotní přínosy bioaktivních sloučenin vyprodukovaných bakteriemi (Indira 2019)

Bioaktivní sloučenina	Zdravotní přínosy uvnitř střev
Bakteriociny	Pomáhají přežít bakteriím v GIT, zabíjejí střevní patogeny, působí jako signální molekuly
Enterociny	Antimikrobiální aktivita proti <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Exopolysacharidy	Antioxidační aktivita
Kyselina mléčná	Metabolismus lipidů, snižuje pH ve vaginálním prostředí
Kyselina máselná	Zdroj energie pro kolonocyty, protizánětlivé a protinádorové vlastnosti
Kyselina propionová	Glukoneogeneze
Kyselina octová	Acetát je metabolizován ve svalech a používá se k produkci ATP
Fruktooligosacharidy (inulin, levan)	Snižují absorpci tuků a cholesterolu
Lysin	Esenciální aminokyselina pro hostitele
Arginin	Vliv na rozmnožovací systém
Folát	Energetický metabolismus, biosyntéza nukleových kyselin
Vitamín B1 (thiamin)	Role při syntéze nukleových kyselin, steroidů a mastných kyselin nezbytných pro fungování mozku
Vitamín B2 (riboflavin)	Energetický metabolismus
Vitamín B6 (pyridoxin)	Metabolismus aminokyselin

Vitamín B9	Energetický metabolismus
Vitamín B12	Účastní se tvorby červených krvinek a DNA
Amyláza	Hydrolýza škrobu
β-galaktosidáza	Hydrolýza β-galaktosidů

3.5 Probiotika při léčbě nemocí

Se zvyšujícím se zájmem o probiotické potraviny i farmaceutické přípravky, jsou studovány účinky probiotických bakterií na průběh nebo zmírnění různých forem nemocí. Pozitivní výsledek byl potvrzen v prevenci a léčbě onemocnění imunitního systému, alergických reakcích a gastrointestinálních onemocnění. Snižují riziko vzniku atopického ekzému, hladinu sérového cholesterolu i krevní tlak. Vzhledem ke schopnosti několika probiotických kmenů zlepšit slizniční imunitu, byly navrženy možné účinky také při prevenci a léčbě infekcí respiračního ústrojí. S tím souvisí i fakt, že bylo provedeno několik studií, zda má užívání probiotik pozitivní vliv na zmírnění příznaků COVID-19 (Zhou et al., 2020; Bottari et al., 2021).

Účinnost a bezpečnost probiotik závisí na kmeni, dávce, nemoci a celkovém stavu hostitele (Bottari et al., 2021).

3.5.1 Onemocnění imunitního systému

Narušení imunitního systému je prvním faktorem pro vznik všech onemocnění, poruch a zdravotních obtíží. Můžeme jej definovat jako soubor všech mechanismů, které zajišťují integritu organismu rozeznáváním a likvidací potenciálně škodlivých struktur, ať už vlastních nebo cizích. Je to nezastupitelná schopnost organismu bránit se škodlivému působení infekčních patogenů. Specifické imunitní mechanismy se uplatňují v okamžiku působení cizorodé látky, bez ohledu na předchozí setkání se s ní. Naopak nespecifické imunitní mechanismy se vytváří až po setkání s danou látkou, jsou zaměřené jen proti této konkrétní látce a působí až po určité době (Bubnov et al., 2015; Galdeano et al., 2019).

V mnoha studiích byl prokázán pozitivní vliv probiotik na imunitní systém člověka. Probiotické bakterie stimulují mechanismy přirozené imunity, tvorbu sekrečního IgA a místní imunitní reakce. Udržují fyziologickou rovnováhu mezi T_H1 a T_H2 lymfocyty, tlumí záněty v těle a normalizují dysfunkce střevní sliznice (Bubnov et al., 2015).

Galdeano et al. (2019) pomocí elektronové mikroskopie, prokázal jednu z nejdůležitějších vlastností probiotických kmenů, kterou je schopnost ulpívat na epiteliálních buňkách. *Lactobacillus casei* a *Lactobacillus paracasei* adherují na střevní epiteliální buňky pomocí receptorů a zprostředkovávají tak imunitní stimulaci. Po této interakci probiotických bakterií s epitelem střeva dochází ke zvýšení produkce cytokinů, jako je IL-6 a chemoatrakčního proteinu, aniž by došlo ke změně střevní bariéry. Dále se zabýval otázkou, jak dlouho musí být bakterie v kontaktu s imunitními buňkami, aby došlo k jejich stimulaci. Provedl test pomocí fluorescenčních probiotických bakterií a analyzoval přítomnost fluorescence uvnitř imunitních buněk z klků tenkého střeva, tlustého střeva a lymfatických uzlin. Zjistil, že fragmenty probiotických bakterií zůstávají uvnitř imunitních buněk až 72 hodin. Tyto výsledky potvrdily, že může docházet k pozdější stimulaci imunitní odpovědi.

Nepřiměřená reakce imunitního systému organismu na podněty z okolí je alergie. (Dargahi et al., 2019). Definujeme ji jako nepřiměřenou reakci protilátek ze skupiny imunoglobulinů IgE na specifický antigen, označovaný jako alergen. Určujícím faktorem zvýšené prevalence alergií je snížení mikrobiální expozice v důsledku nadměrné hygieny, změn ve stravování, nárůstu příjmu zpracovaných potravin a nadměrného užívání antibiotik. Alergie je závislá na rovnováze mezi T_{H1} a T_{H2} lymfocyty. Bakteriální a virové infekce v dětství směřují vyvíjející se imunitní systém k T_{H1} , což vyvažuje proalergické reakce buněk T_{H2} . U alergických onemocnění dochází k narušení této rovnováhy ve prospěch T_{H2} lymfocytů, které aktivují eozinofily, dochází k sekreci interleukinů IL-4, IL-5, IL-6 a alergenově specifické produkci IgE, která vyvolává alergický zánět (Lopez-Santamarina et al., 2021).

Mezi nejčastější alergická onemocnění patří rýma, která je výsledkem zánětu zprostředkovaného imunoglobulinem IgE nosní sliznice. Nejvýznamnějšími alergeny jsou pyly. Projevuje se kýchaním, rýmou a svěděním. Kromě toho je i potenciálním faktorem astmatu, chronického zánětlivého onemocnění dýchacích cest, které se projevuje sípáním, kašlem, dušností a tíží na hrudi. Alergická rýma bývá často podceňována, protože mnoho pacientů nevyhledá lékařskou pomoc. Povrchovou alergii na kůži označujeme jako kopřivku, jejímž hlavním mediátorem je histamin. Mezi chronické zánětlivé onemocnění kůže řadíme atopickou dermatitidu, dříve označovanou jako atopický ekzém. Projevuje se velmi svědivým erytémem a otokem. Alergie na potraviny je často spojována s astmatem a velice zasahuje do života postiženého. Nejčastější jsou alergie na kravské mléko, vejce, ořechy, ovoce, luštěniny. Může vést až k anafylaxi, přičemž těžké formy vznikají bezprostředně v řádech

minut po expozici alergenu a k úmrtí může dojít v první hodině po reakci (Lopez-Santamarina et al., 2021).

Probiotika stimulují sloučeniny imunitního systému vylučované nebo přítomné v buněčných bariérách, proto jejich užívání podporuje rovnováhu mezi T_H1 a T_H2 . Navíc existují důkazy, že podporují produkci některých cytokinů, včetně IL-10, IL-12 a transformačního růstového faktoru, které regulují imunitní odpověď a snižují alergický zánět. Účinky probiotik jsou závislé na dávce a kmeni bakterií, také na věku a zralosti střevní bariéry hostitele. Bylo zjištěno, že podávání probiotik v raném věku, kdy se mikrobiota trávicího traktu vyvíjí, vede ke správné mikrobiální kolonizaci a k vyšší účinnosti při prevenci a léčbě nemocí (Prakoeswa et al., 2017).

Jedním z nejvíce studovaných probiotik, v souvislosti s atopickou dermatitidou, je *Lactobacillus* spp. Dále pak Taniuchi et al. (2005) popsali účinnost druhu *Bifidobacterium* spp. při léčbě přecitlivělosti na kravské mléko u kojenců s atopickou dermatitidou, a kromě toho Enomoto et al. (2014) prokázali, že prenatální a postnatální suplementace dvěma druhy z rodu *Bifidobacterium* (*B. breve* a *B. longum*), snížila riziko vzniku ekzému a dermatitidy. Tyto problémy u dětí vymizely ve věku deseti měsíců, čímž chtěli i potvrdit, jak je důležitá raná fáze mikrobioty pro regulaci alergií u dětí (Choi et al., 2017; Lopez-Santamarina et al., 2021). Stejnou hypotézu potvrdili i další odborníci, kdy kontrolovanou spotřebou probiotických bakterií *B. animalis*, *L. rhamnosus* a *L. acidophilus* u těhotných žen se silnou alergickou rýmou, ekzémem a astmatem, prokázali snížený výskyt atopické dermatitidy u jejich dětí (Rø et al., 2017).

3.5.2 Gastrointestinální onemocnění

Aplikace probiotik byla primárně zkoumána pro prevenci a léčbu gastrointestinálních infekcí a chorob jako jsou infekční průjemy, zánětlivé onemocnění střev nebo syndrom dráždivého tračníku. Probiotické bakterie produkují IgA, stabilizují střevní mikrobiotu a snižují střevní permeabilitu, čímž potlačují působení patogenních mikroorganismů (Parker et al., 2018).

Střevní bakterie *Lactobacillus acidophilus* jsou účinné zejména proti salmonelám, shigelám, rotavirovým infekcím a průjmům, ale i proti infekcím způsobených *Helicobacter pylori*. Záněty žaludku a dvanácterníku je možné zmírnit užíváním *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium bifidum* (Lee et al., 2018).

Nejvíce studií o prospěšném působení probiotik bylo provedeno v souvislosti s průjemovým onemocněním. Goldenberg et al. (2019) popisuje studii, které se účastnilo přes

tři tisíce pacientů ve věku do 18 let. Sledoval zejména výskyt a typ průjmového onemocnění, počet nežádoucích účinků a průměrnou dobu trvání onemocnění. Dospěl k závěru, že *Lactobacillus rhamnosus* a *Sacharomyces boulardii* mají pozitivní vliv na střevní průjmy, a navíc poskytují i ochranu před průjmy způsobenými užíváním antibiotik. Rod *Lactobacillus* bývá nejčastěji spojován i s rotavirovými průjmy. Mechanismem působení *L. rhamnosus* je zesílení odpovědi střevní sliznice na rotavirus. Podle provedených studií se u dětí, které užívaly probiotika, zkrátila doba průjmového onemocnění až o jednu třetinu (Parker et al., 2018). V souvislosti s cestováním do exotických zemí se začal vyskytovat i průjem označovaný jako „cestovatelský“. Většina těchto průjmů je vyvolána bakteriemi, jako reakce na nová jídla, koření, změnu podnebí, cestovní stres a časový posun. Patogenní rody bakterií jsou *Escherichia coli*, *Shigella*, *Plesiomonas* a *Salmonella*. McFarland & Goh (2019) uvádí pozitivní vliv *Lactobacillus acidophilus* a *Lactobacillus fermentum* v prevenci vzniku tohoto typu průjmu. Doporučují však s konzumací probiotik začít již před cestováním.

Ve čtrnácti srovnávaných studiích zaměřených na vliv probiotik při gastrointestinálních nemocech je uveden závěr, že probiotika mají příznivý účinek na onemocnění GIT, ale je obtížné jej prokázat, protože není možné dokázat přímou souvislost mezi působením probiotik a střevní mikrobiotou. Může za to i fakt, že jsou probiotika užívána ve formě různých produktů (potraviny, funkční potraviny, doplňky stravy) a typy použitých probiotik včetně kmenů, dávkování a délky intervence jsou velmi variabilní. Navíc většina studií neřeší problém skladování probiotických doplňků stravy, životaschopnost bakterií a jejich kvalitu (Parker et al., 2018).

3.5.3 Civilizační choroby

Mezi civilizační choroby patří celá skupina onemocnění, které jsou způsobeny moderním životním stylem. Podporuje je vysoký příjem kaloricky bohatých jídel, absence pohybu, kouření, alkohol, stres. Jedná se o nemoci z „nadbytku“. Obecně je lze definovat jako chronické neinfekční onemocnění, které si každý člověk ve svém životě vytváří sám. Lze jim předcházet prevencí, zdravým životním stylem, včasnou diagnostikou a terapií (Kopp, 2019).

S civilizačními nemocemi je spojena tzv. hyperhomocystémie – zvýšená hodnota homocysteinu, zapříčiněná poruchou látkové výměny aminokyselin. Homocystein je aminokyselina, která při hromadění v lidském těle působí toxicky. Příčinou může být nedostatek vitamínu B nebo nesprávná funkce enzymů, s nimiž vitamíny spolupracují (Kopp, 2019).

Mezi hlavní civilizační nemoci, při jejichž léčbě se uplatňují probiotika jsou: dyslipidémie, hypertenze, diabetes mellitus a obezita.

Cholesterol je látka steroidní povahy důležitá pro zpracování tuků v těle, pro tvorbu buněčných membrán, hormonů a vitamínu D. Je součástí lipoproteinů, které transportují lipidy krví. Podle hustoty rozdělujeme lipoproteiny do tří hlavních skupin: vysokodenzitní (HDL), nízkodenzitní (LDL) a velmi nízkodenzitní lipoprotein (VLDL). Čím je hustota lipoproteinů nižší, tím menší množství cholesterolu je vylučováno z organismu. Zvýšené hodnoty LDL nad 3 mmol/l způsobují ukládání nadbytečného cholesterolu v cévních stěnách. Vytváří se sklerotické pláty, cévy se zužují a ztrácejí pružnost. To jsou všechno velice rizikové faktory pro vznik kardiovaskulárních onemocnění (Liang et al., 2020).

Existuje několik vědeckých studií, které popisují mechanismy, kterými je cholesterol z těla odstraňován při zařazení probiotik do stravy. Jedním z účinků je prokázaná schopnost bakterií rodu *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* asimilovat cholesterol z média. Druhým předpokladem je navázání cholesterolu na jejich povrch a třetím způsobem ovlivnění hladiny cholesterolu v krvi je vznik kyseliny octové a propionové při fermentaci ve střevech. Kyselina octová je prekurzorem syntézy cholesterolu a propionát snižuje koncentraci cholesterolu v krvi (Sivamaruthi et al., 2019).

Cavallini et al. (2016) studoval účinek probiotických bakterií *Enterococcus faecium* a *Lactobacillus helveticus* obsažených ve fermentovaném výrobku na lipidový profil hypercholesterolemických mužů. Po 42 dnech se výrazně zlepšila hladina celkového cholesterolu a snížily se kardiovaskulární rizikové faktory. Stravu u dyslipidemických dětí doplnili o směs kmenů *Bifidobacterium* a během tří měsíců sledovali pravidelně jejich lipidový profil. Koncentrace lipidů v séru klesaly, a navíc byly hladiny LDL výrazně sníženy i ve srovnání s placebem. V dalších studiích bylo prokázáno, že probiotické výrobky obsahující *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium bifidum* (10^9 KTJ/dávka; 3 dávky denně) po pravidelném užívání v šesti týdnech, výrazně snížily hladinu celkového cholesterolu a LDL. Autoři všech známých studií se shodují na tom, že probiotické bakterie mají značný vliv na snižování hladiny cholesterolu u hypercholesterolemických pacientů a mohly by být používány jako adjuvans pro prevenci a k léčbě onemocnění koronárních tepen (Sivamaruthi et al., 2019).

Arteriální hypertenzi neboli vysokým krevním tlakem, trpí asi 40 % obyvatel České republiky ve věku 25-64 let. Je to onemocnění, které neboli, dlouhou dobu o něm nemusí

pacienti vědět, ale způsobuje infarkty, srdeční selhání, demence, poškození ledvin a zrychluje proces aterosklerózy. Příčiny vysokého krevního tlaku jsou obezita, sedavý způsob života, chronický stres, diabetes mellitus, kouření a nezdravá strava.

Otázkou snížení vysokého krevního tlaku pomocí úpravy jídelníčku se zabývá mnoho odborníků již řadu let. V poslední době se objevily i studie, které dokládají pozitivní vliv fermentovaných výrobků. Bylo ověřeno, že pravidelnou konzumací probiotik, zejména obsahujících rody *Lactobacillus* a *Saccharomyces*, lze snížit krevní tlak až o 8 mm Hg. Lewis-Mikhael et al. (2020) provedli metaanalýzu studií, ve kterých byl zkoumán druh *Lactobacillus plantarum* jako antihypertenzní činidlo. Zahrnuto bylo 7 studií s 653 účastníky. Při spojení všech výsledků zjistili mírný, ale významný pokles celkového tlaku (snížení systolického tlaku o 1,58 mm Hg, diastolického tlaku o 0,92 mm Hg). Zajímavý je fakt, že jednorázová suplementace *Lactobacillus plantarum* měla výraznější vliv na snížení celkového tlaku ve srovnání s multikmenovými probiotiky. Účinek suplementace probiotik na krevní tlak zkoumali i další autoři, kteří uvádí, že biologicky aktivní peptidy z fermentovaného mléka mají pozitivní vliv na snížení krevního tlaku hypertoniků. Zkoumali tripeptidy isoleucin-prolin-prolin (IPP) a valin-prolin-prolin (VPP), které se uvolňují při fermentaci mléka bakteriemi mléčného kvašení. *In vitro* prokázali účinek inhibitoru angiotenzin konvertujícího enzymu, který hraje důležitou roli v regulaci krevního tlaku (Qi et al., 2020).

Diabetes mellitus je chronické onemocnění vznikající v důsledku nedostatku inzulínu, který řídí metabolismus sacharidů. Ve zdravém těle je inzulín produkován β -buňkami Langerhansových ostrůvků pankreatu a snižuje hladinu krevního cukru.

Diabetes I. typu se začíná projevovat už v dětském věku. Jde o autoimunitní onemocnění, kdy jsou vlastním imunitním systémem ničeny buňky pankreatu, dochází k nedostatečné produkci inzulínu, glukóza není vstřebávána do tkání a dochází k hyperglykémii (vysoká hladina cukru v krvi). Oproti tomu diabetes II. typu se projevuje postupně, pomalu a většinou u obézních lidí. Dochází k inzulínové rezistenci, při které nejsou buňky schopné na inzulín správně reagovat, stávají se rezistentní. Slinivka se snaží tento stav vyrovnat a vytváří inzulínu mnohem víc, aby došlo ke snížení cukru v krvi. Hlavní příčinou je zvýšená hladina tuků v krvi, vysoký obsah mastných kyselin, nedostatek pohybu a narušení střevní mikrobioty (Caricilli and Saad, 2013).

Tao et al. (2020) provedl systematické zhodnocení účinku probiotik při léčbě diabetes mellitus II. typu. V 15 studiích s celkovým počtem 902 pacientů došlo k výrazně většímu

snížení hladiny glykovaného hemoglobinu v krvi i s ohledem na heterogenitu způsobenou změnami dávkování a délkou probiotické léčby. Dále bylo prokázáno, že spotřeba probiotického jogurtu (300 g za den), který obsahuje *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium animalis* významně snížila hladinu cholesterolů u diabetických pacientů celkem za šest týdnů. Stejně tak i Karamali et al. (2016) zkoumal vliv na diabetické pacienty a došel k závěru, že probiotická suplementace kapslemi obsahujícími *L. acidophilus*, *L. casei* a *B. bifidum* po dobu šesti týdnů zlepšuje hladinu glukózy v plazmě i hodnotu sérového inzulínu. Navíc byla snížena i hladina zánětlivých cytokinů.

Obezita je v dnešní době jedním z nejčastějších problémů lidského zdraví. Její příčinou je nerovnováha mezi energetickým příjmem a výdejem, nezdravý životní styl i genetická variabilita (Bluher, 2020). Podle WHO je definována jako „abnormální nebo nadměrné hromadění tuku, které představuje riziko pro zdraví“ (Bray et al., 2017). Statistiky ukazují, že téměř 2,8 milionu úmrtí ročně je důsledkem nemocí spojených s nadváhou a obezitou. Je totiž prvním signálem pro vznik krevní hypertenze, dyslipidémie a inzulínové rezistence (Abenavoli et al., 2019).

První mechanismus vysvětlující roli střevní mikrobioty při rozvoji obezity souvisí s energetickou regulací a schopností mikroorganismů fermentovat polysacharidy z potravy, které člověk nestráví. Fermentací vlákniny vznikají kyseliny s krátkým řetězcem. Ty jsou absorbovány a mohou indukovat lipogenezi a zvýšit zásoby triglyceridů. Poskytuje tedy hostiteli více energie z nestravitelných sacharidů a proteinů. Kromě toho ovlivňují akumulaci tuku a chuť k jídlu. Vznikající butyrát podporuje proliferaci a zrání kolonocytů a tím udržuje tlusté střevo zdravé. Dalším mechanismem je schopnost probiotických bakterií snižovat oxidaci jaterních mastných kyselin potlačením adenosinmonofosfátkinázy (AMPK), která se nachází v játrech a ve svalových vláknech a působí jako indikátor buněčné energie. Střevní mikrobiota také mění složení a relativní množství druhů žlučových kyselin. *Clostridium* a *Eubacterium* přeměňují žlučovou kyselinu ve střevě na její sekundární formy, jako je kyselina deoxycholová a lithocholová, které stimulují sekreci hormonu GLP-1 a inzulínu, čímž podporují energetický výdej. Snížená koncentrace žlučových kyselin ve střevě je spojena s přemnožením nežádoucích bakterií a zánětem (Cerdó et al., 2019). Tyto předpoklady, že střevní mikrobiota hraje velkou roli v patogenezi obezity, vedla ke zkoumání střevní mikrobioty u jedinců s nadváhou (Abenavoli et al., 2019).

Ley et al. (2006) je autorem jedné z prvních studií spojujících střevní mikrobiotu s obezitou u lidí. Srovnával mikrobiotu střev štíhlých a obézních jedinců a odhalil, že obézní

jedinci mají snížený podíl bakterií rodu *Bacteroidetes* a vyšší množství bakterií rodu *Firmicutes*. Po nastavené dietetické léčbě se početnost *Bacteroidetes* zvýšila a početnost *Firmicutes* klesala (Abenavoli et al., 2019). I když zprávy o složení střevní mikrobioty nejsou jednotné, vždy se u obézních jedinců setkáváme s vyšším poměrem *Firmicutes:Bacteroidetes* a sníženou mikrobiální diverzitou (Cerdó et al., 2019).

S velice dobrými výsledky byly testovány rody *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*. Ve 25 klinických studiích s 1931 obézními pacienty, kterým byla podávána probiotická suplementace těchto dvou probiotických kmenů po dobu 3 až 12 týdnů, bylo potvrzeno významné snížení tělesné hmotnosti a tuku. Studie se také shodly na tom, že lepší výsledky vykazují více kmenové probiotické suplementy ve srovnání s jedním kmenem (Sivamaruthi et al., 2019). V provedených studiích se také prokázaly příznivé účinky na BMI, ztučnění jater a inzulinovou rezistenci (Abenavoli et al., 2019). Studie Sanchez et al. (2017) prokázala dokonce genderově specifické účinky probiotik na obézní jedince. Užíváním *Lactobacillus rhamnosus* ve spojení s kalorickou dietou došlo k významnému snížení hmotnosti u obézních žen oproti obézním mužům. Tyto výsledky byly vysvětleny větším dopadem na pocit sytosti, stravovací návyky a náladu u žen oproti mužům.

3.5.4 Respirační onemocnění

Respirační onemocnění postihuje všechny věkové kategorie a kromě toho, že je zodpovědné za miliony úmrtí v rozvojových i vyspělých zemích, má také značný ekonomický a sociální dopad. Váže se s ním vysoká míra hospitalizace, vysoké lékařské náklady a ztráty produktivity spojené s časem zameškaným v práci nebo ve škole. Nejčastěji jej vyvolávají viry a bakterie. Projevuje se jako angína, rýma, akutní zánět nosohltanu, akutní zánět hrtanu a průdušnice, zánět průdušek nebo plic (Bottari et al., 2020).

Bylo prokázáno, že léčba probiotickými bakteriemi snižuje infekce horních i dolních cest dýchacích a produkci zánětlivých cytokinů v plicích. Byly popsány svojí schopností inhibovat virus přímou interakcí s ním, mechanismem podobným fagocytóze. Například *Lactobacillus plantarum*, izolovaný z fermentovaných potravin, potlačil produkci antigen specifického imunoglobulinu E aktivací T_{H1} lymfocytů a zvýšil produkci IgA proti infekci virové chřipky. Podávání probiotických fermentovaných nápojů a probiotik s *Lactobacillus casei* prokázalo zvýšení imunitní odpovědi na očkování proti viru chřipky u starších osob a urychlení přirozené imunitní reakce dýchacích cest u novorozenců, kojenců a dětí (Bottari et al., 2020). Dvanáct náhodně provedených studií zahrnujících 3 720 dospělých a dětí uvádělo

dvakrát nižší riziko rozvoje infekce horních cest dýchacích u lidí užívajících probiotika a významné snížení závažnosti onemocnění u infikovaných jedinců. Náhodná, dvojité zaslepená, placebem kontrolovaná studie 479 dospělých poukázala na fakt, že *Lactobacillus gasseri*, *Bifidobacterium bifidum* a *Bifidobacterium longum* s vitamíny a minerály zkracují nejen dobu trvání běžného nachlazení, ale také dny s horečkou (Baud et al., 2020).

Existují i studie, které přímo dokumentují vliv probiotik na prevenci respiračních onemocnění způsobených specifickými viry. Podáváním galaktooligosacharidové a polydextrózové probiotické směsi nebo probiotika *Lactobacillus rhamnosus*, 94 předčasně narozeným dětem mezi 3. až 60. dnem života, se snížil výskyt klinicky definovaného viru dýchacích cest dvakrát až třikrát, ve srovnání s placebem. Také výskyt chřipkového viru u 1 783 dětí ve škole byl snížen po konzumaci *Lactobacillus brevis* (Baud et al., 2020). Su et al. (2020) také zmiňuje studie, do kterých bylo zahrnuto téměř 2 000 kriticky nemocných dospělých, u kterých bylo dokázáno, že probiotické preparáty snížily incidenci pneumonie.

Je třeba ale poznamenat, že ne všechna probiotika nutně přispívají k snížení rizika infekce dýchacích cest. Například *Lactobacillus rhamnosus* a *Bifidobacterium animalis* může přispět ke střevním přínosům, ale nesnižuje počet virů v nosohltanu (Bottari et al., 2020).

3.5.5 Covid-19

Těžký akutní respirační syndrom způsobuje nový koronavirus 2, odborně označený jako SARS-CoV-2. Poprvé byl identifikován v čínské provincii Chu-Pej, městě Wu-Chan v prosinci 2019. V České republice byl první zaznamenaný případ hlášen v březnu 2020. Kvůli rychlému celosvětovému rozšíření jej WHO dne 11. 3. 2020 označila jako celosvětovou pandemii COVID-19. Z dat uvedených Ústavem zdravotnických informací a statistiky ČR postihla k 1. 11. 2021 245 milionů lidí na celém světě (z toho 1 747 701 obyvatel ČR) a v souvislosti s Covidem-19 zemřelo téměř 5 milionů lidí (v ČR 30 689) (ÚZIS ČR).

Běžné příznaky tohoto onemocnění jsou horečka, suchý kašel, dušnost, bolest hlavy, ztráta čichu a chuti a zápal plic. Mezi další méně časté projevy patří gastrointestinální příznaky, jako je průjem, nevolnost a zvracení. V nejtěžších případech vyvolává akutní respirační tísně, poškození plic, ledvin, srdce a multiorgánové selhání. Extrémní případy onemocnění COVID-19 končí smrtí (Baud et al., 2020).

Stále ještě chybí jednoznačný názor na účinnou léčbu proti novému viru SARS-CoV-2, ale používání probiotik se jeví jako vhodná strategie. Pacienti s COVID-19 ve většině případů vykazují střevní mikrobiální dysbiózu charakterizovanou malým množstvím probiotických rodů *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*. Proto vyžadují nutriční podporu

a suplementaci k normalizaci střevního mikrobiomu a snížení rizika infekce (Olaimat et al., 2020).

Během fermentace potravin probiotika produkují bioaktivní peptidy se schopností inhibovat ACE receptory, které fungují jako vstupní brána pro SARS-CoV-2 do buněk. Mechanismus akutního poškození plic během infekce je zprostředkován aktivací enzymu renin angiotensin, ve kterém ACE vyvolává několik ochranných účinků. I z těchto důvodů je zde názor, že inhibitory ACE mohou být přínosem pro pacienty s Covid-19 a mohou snižovat plicní zánět. Tato teorie byla potvrzena i studií od Imaie et al. (2005), kteří uvedli pozitivní vliv probiotik, jako blokátorů ACE, na snížení syndromu respirační tísně (Bottari et al., 2020).

I když probiotika posilují střevní mikrobiom a byla dokázána jejich pomoc v léčbě akutních respiračních onemocnění, nemáme stále ještě dostatečné množství ověřených studií, které by dokládaly přímou souvislost mezi užíváním probiotických preparátů a zlepšením stavu pacientů s onemocněním Covid-19.

3.6 Probiotika a jejich negativní vlastnosti

Probiotické organismy používané v potravinářství musí být bezpečné a je požadována spolehlivá identifikace na úroveň kmene fenotypovými i genotypovými metodami. Zdravotní tvrzení by měla být podložena klinickými, dvojitě zaslepenými a placebem kontrolovanými studiemi, kterým navíc předcházejí *in vitro* studie, případně studie prováděné na zvířatech. Tím je zajištěno, že jsou probiotické kmeny mikroorganismů nepatogenní a netoxické vůči lidskému organismu (Doron and Snyderman, 2015).

Rizika spojená s jejich podáváním jsou velice nízká a nežádoucí účinky na lidské zdraví ojedinělé. Není možné se probiotickými mikroorganismy předávkovat a nežádoucí reakce lze pozorovat pouze u osob trpících závažnými chorobami s výrazným imunodeficitem a u pacientů trpících akutní formou střevního onemocnění, jako je ulcerózní kolitida nebo Crohnova choroba. Dále se nedoporučuje podávat je nedonošeným dětem.

U některých osob se mohou vzácně objevit nepříjemné trávicí potíže, jako je nadýmání a plynatost. Tomu lze předcházet užíváním probiotik nejdříve v nízkých dávkách a postupně jejich množství zvyšovat. Citlivým jedincům mohou probiotické potraviny způsobovat bolest hlavy. Důvodem je vznik biogenních aminů při zrání (kvašení) potravin působením bakterií. Mezi nejvíce zastoupené aminy patří histamin, tyramin,

tryptamin a fenylethylamin. Mají excitační účinky na nervový systém a ovlivňují průtok krve orgány. Navíc jedincům, kteří mají nedostatek enzymu diaminooxidázy a mají problém s odbouráváním histaminu, mohou vyvolávat podobné účinky jako při alergické reakci (svědění, slzení očí, dušnost) (Vilímovský, 2019).

Pro většinu lidí je užívání probiotik naprosto bezpečné a odhaduje se, že nepřiměřená reakce organismu nebo zdravotní problémy se po jejich konzumaci mohou vyskytnout pouze u jednoho člověka z miliónu (Doron and Snyderman, 2015).

3.7 Legislativa

Definice pojmu probiotika podle právních předpisů v současné době neexistuje. Zatím jsou probiotické potraviny a doplňky stravy zařazovány mezi nutraceutika a řídí se Evropským předpisem pro doplňky stravy. Doplňky stravy jsou podle zákona č. 110/97 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně některých souvisejících zákonů, definovány jako potraviny, jejímž účelem je doplňovat běžnou stravu, a které jsou koncentrovaným zdrojem vitamínů a minerálních látek nebo dalších látek s nutričním nebo fyziologickým účinkem, obsažených v potravinách samostatně nebo v kombinaci, určené k přímé spotřebě v malých odměřených množstvích (ČR, Zákon č. 110/1997). Ve vyhlášce 58/2018 Sb., je Ministerstvem zdravotnictví stanoven požadavek na složení, označování a způsob užití doplňků stravy. Požadavky na označování potravin jsou shrnuty v § 18 zákona 110/97 Sb. a na označování doplňků stravy v § 3 Vyhlášce 58/2018. Na obalu musí být uvedeno:

- označení „doplňěk stravy“
- kategorie živin/látek charakterizující výrobek
- údaj o množství vitamínů, minerálních látek nebo jiných látek s výživovým nebo fyziologickým účinkem
- doporučená denní dávka (DDD)
- nežádoucí účinky při překročení DDD
- skladování mimo dosah dětí
- nejedná se o náhradu pestré stravy
- upozornění na nevhodnost pro děti, mládež, těhotné a kojící ženy, pro osoby užívající hypolipidemika a osoby s onemocněním ledvin, jater

Od roku 2002 jsou stanoveny i pokyny pro označování probiotických doplňků stravy:

- označení rodu, druhu a kmene nesmí spotřebitele uvádět v omyl
- minimální počet životaschopných probiotických mikroorganismů na konci doby spotřeby
- množství denní dávky, která zaručí účinnost probiotického výrobku
- pravdivost a vědecká podloženost zdravotních tvrzení

V České republice náleží pravomoc kontrolovat doplňky stravy Státní zemědělské a potravinářské inspekci. Plná odpovědnost za kvalitu a zdravotní nezávadnost připadá osobě, která doplněk stravy uvádí na trh. Nejčastěji se vyskytují legislativní problémy při uvádění množství živých mikroorganismů, hlavně ke konci doby trvanlivosti. Ve skutečnosti jsou tyto počty mnohem nižší, než výrobce uvádí. Další chybou bývá nesprávné označování mikroorganismů s platnou vědeckou nomenklaturou a tvrzení o zdravotních benefitech produktů nejsou adekvátně odůvodněna. Setkáme se i s případy, kdy je termín „probiotický“ používán v případě, kdy neexistují žádné studie ani podložené vědecké důkazy o jejich zdravotních benefitech pro lidské zdraví (ČR, Vyhláška č. 58/2018).

Provádí se stále více studií, které dokazují nesprávnost údajů a odchylky výsledků kontrol od tvrzení, která jsou deklarována výrobcem na obalech probiotických doplňků stravy. Proto je třeba zaměřit se na pravidelné kontroly těchto výrobků za účelem sledování různých vlivů na kvalitu prodáváných produktů a také za účelem ochrany spotřebitele. Ovšem problémem zůstává fakt, že neexistuje závazný metodický postup, podle kterého by dozorové orgány mohly provádět ověřování správnosti údajů uváděných na výrobcích.

4 Materiál a metody

4.1 Testované probiotické preparáty

V první fázi testování bylo použito 17 vzorků farmaceutických probiotických preparátů (Tabulka 3), které byly po datu minimální trvanlivosti. Všechny byly zakoupeny a testovány na začátku roku 2020 (Podušková, 2021). Poté byly skladovány v původních obalech podle doporučení na obalu od výrobce. Cílem bylo zjistit, zda má datum expirace vliv na složení probiotických bakterií a hlavně zda a o kolik klesá jejich deklarovaný počet uvedený výrobcem na obalu.

Tabulka 3: Souhrnný přehled použitých preparátů po skončení jejich doby minimální trvanlivosti a deklarované druhy mikroorganismů v nich

Označení vzorku	Název produktu	Deklarované druhy mikroorganismů
1	Biopron Premium	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>
2	Swiss Nature Via Laktobacilky	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i>
3	APO-Lactobacillus	<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i>
4	Edenpharma Probiotika plus kolostrum	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>
5	ProbioFlora	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>
6	GYNIMUN dual protect	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
7	Medpharma Lactobacillus acidophilus +2	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Enterococcus faecium</i>

8	Lactoseven	<i>Bifidobacterium longum, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus casei, Lactobacillus reuteri, Streptococcus thermophilus</i>
9	Generica Probiicus Premium	<i>Lactobacillus rhamnosus, Bifidobacterium lactis, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus helveticus</i>
10	NeoZen Probian	<i>Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus rhamnosus, Bacillus coagulans, Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium breve</i>
11	GS Laktobacily Antibio 40	<i>Pediococcus acidolactici, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus plantarum, Bifidobacterium longum, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus casei ssp paracasei, Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium bifidum</i>
12	Walmark Biopron LAKTOBACÍLKY	<i>Bifidobacterium longum, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus rhamnosus</i>
13	Linex Forte	<i>Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>
14	Laktobacily SWISS Imunit	<i>Lactobacillus rhamnosus, Bifidobacterium bifidum, Lactobacillus casei, Bifidobacterium longum, Lactobacillus acidophilus</i>
15	ProbioLact	<i>Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus sporogenes, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium breve, Lactobacillus acidophilus biofilm</i>
16	Cemio Laktobacily 7+	<i>Pediococcus acidolactici, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus plantarum, Bifidobacterium longum, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus casei ssp. paracasei, Bifidobacterium bifidum</i>
17	Walmark Laktobacily Complex	<i>Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus rhamnosus, Bifidobacterium infantis, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei, Bifidobacterium longum, Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium breve</i>

Dále bylo pro účely diplomové práce zakoupeno dalších deset probiotických preparátů (Tabulka 4). Jejich výběr byl zaměřen hlavně na takové, které se nedají zakoupit v lékárně, ale jsou nabízeny na různých internetových stránkách nebo v běžných drogeriích a supermarketech. Dalším cílem bylo porovnat, zda má i cena produktu vliv na množství deklarovaných MO, zda jsou probiotické preparáty zakoupené v lékárně dražší a jaké procento z nich obsahuje deklarované množství MO, oproti preparátům zakoupeným na e-shopu.

Tabulka 4: Souhrnný přehled použitých preparátů zakoupených na e-shopech, drogeriích, supermarketech a deklarované druhy mikroorganismů v nich

Označení vzorku	Název produktu	Deklarované druhy mikroorganismů
A	Swanson Dr. Stephen	<i>Bifidobacterium longum, Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium lactis, Lactobacillus brevis, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus casei, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus salivarius, Lactococcus lactis, Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium infantis</i>
B	Orangefit Probiotica	<i>Bifidobacterium breve, Lactobacillus casei, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus lactis, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus salivarius, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium anim. ssp lactis, Bifidobacterium longum, Enterococcus faecium</i>
C	Czech Virus Probio15	<i>Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus brevis, Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus salivarius, Lactobacillus lactis, Bifidobacterium an lactis, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium breve, Streptococcus thermophilus, Saccharomyces boulardii, Bacillus coagulans</i>
D	VITAR Probiotika EKO	<i>Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus rhamnosus, Bacillus coagulans</i>
E	Forky's Probiotika pro ženy	<i>Lactobacillus plantarum, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus rhamnosus, Bifidobacterium bifidum</i>
F	Viridian Synerbio Daily	<i>Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium longum</i>
G	Bio-Kult Booster	<i>Bacillus subtilis, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium longum, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus, Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus salivarius, Lactococcus lactis ssp. lactis, Streptococcus thermophilus</i>
H	Probio 24 ADVANCE	<i>Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium bifidum, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei, Lactobacillus lactis, Lactobacillus paracasei, Streptococcus thermophilus</i>
I	Ecce Vita Probiomix	<i>Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium longum, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei, Bacillus coagulans, Bacillus subtilis, Streptococcus thermophilus, Saccharomyces boulardii</i>
J	Vilgain Probiotics	<i>Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium infantis, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus salivarius, Lactobacillus lactis ssp. lactis</i>

4.2 Metodika

Ke stanovení laktobacilů, bifidobakterií, streptokoků a celkového počtu probiotických bakterií v preparátech byla použita kultivační desková metoda. Probiotické bakterie byly kultivovány na selektivních polotuhých médiích. Selektivní média obsahují všechny potřebné živiny pro množení vybraného druhu mikroorganismů a zároveň obsahují i látky, které potlačují růst ostatních mikroorganismů. Složení selektivního média a kultivační podmínky ovlivní, která skupina mikroorganismů se bude množit.

Odebraný vzorek byl zvážen, homogenizován a naředěn podle deklarovaného počtu probiotických bakterií až do devátého ředění (10^{-9}). Z ředící řady pak bylo použito čtvrté až deváté ředění k naočkování na Petriho misky. Petriho misky pak byly zality příslušným agarovým médiem a kultivovány za předepsaných podmínek.

Po kultivaci byly kolonie spočteny. Výsledek vždy ukazuje pouze přítomnost živých mikroorganismů ve vzorku. Pro získání přesnějších výsledků bylo stanovení mikroorganismů provedeno ve třech opakováních.

4.3 Složení ředícího média a použitých živných půd

Ředící médium

První ředění vzorků bylo prováděno ve zkumavkách s připraveným ředícím médiem, do kterých se převedl obsah lékové tobolky. Ředící médium se skládá z:

- K_2HPO_4 (3,6 g/l)
- $Na_2HPO_4 \times 2 H_2O$ (7,2 g/l)
- NaCl (4,3 g/l)
- tryptonu (1,0 g/l)

Ředící médium bylo rozvařeno, převedeno do zkumavek a následně probubláno oxidem uhličitým. Připravené zkumavky byly hermeticky uzavřeny, aby byly zajištěny anaerobní podmínky a sterilovány.

Wilkins Chalgren agar (Oxoid; WPS) pro stanovení celkového počtu probiotických bakterií:

- trypton (10 g/l)
- pepton želatiny (10 g/l)
- kvasničný extrakt (5 g/l)
- glukóza (1 g/l)
- chlorid sodný (5 g/l)
- L-Arginin (1 g/l)
- pyruvát sodný (1 g/l)
- Menadion (vitamín K) (0,5 mg/l)
- hemin (0,5 mg/l)
- agar (10 g/l)
- sójový pepton (5 g/l; Oxoid)
- cystein (0,5 g/l)
- tween 80 (1 ml/l)

Wilkins Chalgren agar (Oxoid; WPSMup) pro stanovení bifidobakterií:

- trypton (10 g/l)
- pepton želatiny (10 g/l)
- kvasničný extrakt (5 g/l)
- glukóza (1 g/l)
- chlorid sodný (5 g/l)
- L-Arginin (1 g/l)
- pyruvát sodný (1 g/l)
- Menadion (vitamin K) (0,5 mg/l)
- hemin (0,5 mg/l)
- agar (10 g/l)
- sójový pepton (5 g/l; Oxoid)
- cystein (0,5 g/l)
- tween 80 (1 ml/l)
- mupirocin (50 mg/l)

Rogosa agar (Oxoid) pro stanovení laktobacilů:

- trypton (10 g/l)
- kvasničný extrakt (5 g/l)
- glukóza (20 g/l)
- Tween 80 (1 ml/l)
- KH_2PO_4 (6 g/l)
- citrát amonný (2 g/l)
- acetát sodný (17 g/l)
- síran hořečnatý (0,575 g/l)
- síran manganatý (0,12 g/l)
- síran železnatý (0,12 g/l)
- agar (20 g/l)

Agar M17 pro stanovení streptokoků:

- trypton (5 g/l)
- sójový pepton (5 g/l)
- kvasničný extrakt (2,5 g/l)
- masový výtažek (5 g/l)
- kyselina askorbová (0,5 g/l)
- síran hořečnatý (0,25 g/l)
- glycerolfosfát sodný (19 g)
- laktóza (5 g/l)
- agar (11 g/l)

4.4 Pracovní postup

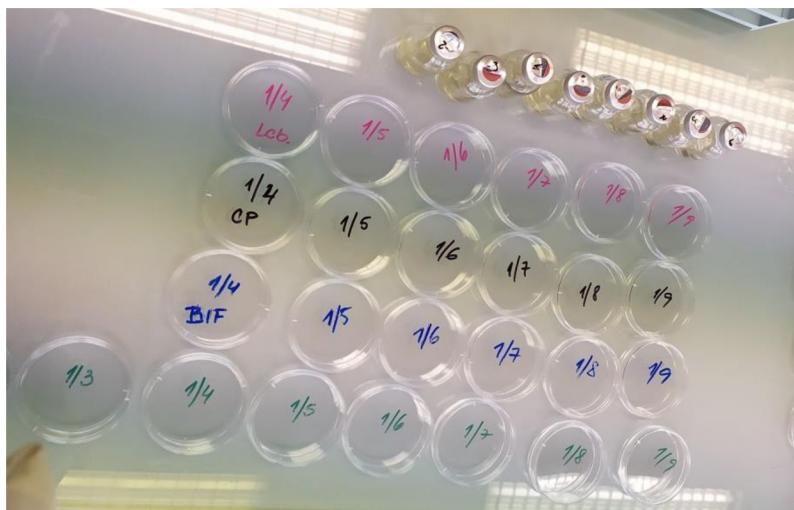
Pro stanovení probiotických bakterií byla z každého vzorku odebrána doporučená denní dávka. Obvykle odpovídala jedné tabletě. Po odstranění tobolky (dutá léková forma většinou ze želatiny), byla dávka zvážena a převedena do zkumavky s ředícím médiem (ředění 10^{-1}). Pomocí přístroje CHS Vortex, byl vzorek ve zkumavce důkladně homogenizován a promíchán spolu s ředícím médiem. Následovalo sériové ředění ve vialkách se stejným ředícím médiem a anaerobní atmosférou. Z prvního ředění (10^{-1}) byl asepticky stříkačkou s jehlou odebrán 1 ml vzorku, který se bezprostředně převedl do další vialky

(ředění 10^{-2}). Stejným způsobem se postupovalo až do devátého ředění. Na každé se použila nová stříkačka i jehla.

Vybrané naředěné vzorky se pomocí stříkačky a jehly převedly na Petriho misku (Obrázek 4). Vždy se použilo 0,5 ml naředěného vzorku. Misky byly zality příslušným agarem.

Ke stanovení celkového počtu probiotických bakterií byl použit Wilkins Chalgren agar (Oxoid; WPS). Do Erlenmayerovy baňky bylo pomocí skleněného válce převedeno 100 ml destilované vody a do ní bylo naváženo 4,3 g agaru. Dále byl přidán sójový pepton, cystein a tween. Obsah Erlenmayerovy baňky byl dobře promíchán. Hrdlo baňky bylo překryto alobalem a byla umístěna do autoklávu, kde byl agar sterilizován 20 minut při $120\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Petriho misky určené k zalití tímto agarem byly přelity jednou vrstvou a ihned umístěny do anaerostatu s paladiovým katalyzátorem, ze kterého se odčerpál kyslík pomocí vývěvy a objem nádoby se doplnil směsí vodíku a oxidu uhličitého. Kultivace probíhala 72 hodin při teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Obrázek 4: Petriho misky připravené ke kultivaci

Pro stanovení bifidobakterií byl použit modifikovaný Wilkins Chalgren agar přidáním mupirocinu. Do Erlenmayerovy baňky se 100 ml destilované vody bylo naváženo 4,3 g agaru, ke kterému byl přidán sójový pepton, cystein a tween. Obsah byl dobře promíchán, hrdlo bylo překryto alobalem a Erlenmayerova baňka byla vložena do autoklávu na 20 minut při $120\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po rozvaření byl přidán 1 ml kyseliny octové a po vytemperování na $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ bylo přidáno 100 mg mupirocinu na 1 litr média, který potlačuje rozvoj bakterií mléčného kvašení.

Misky pro kultivaci bifidobakterií byly přelity jednou vrstvou agaru a ihned umístěny do anaerostatu (Obrázek 5), spolu s miskami pro kultivaci celkového počtu bakterií.

Pro kultivaci a růst laktobacilů byl použit Rogosa agar. Do Erlenmayerovy baňky se 100 ml destilované vody bylo naváženo 6,9 g agaru. Obsah byl dobře promíchán, hrdlo překryto alobalem a obsah byl ve vodní lázni rozvařen. Poté bylo přidáno 132 μ l kyseliny octové na 1 L agaru a znovu byla baňka s médiem vložena do horké vodní lázně, aby se její obsah zahřál. Pomocí kyseliny octové byla v tomto médiu hodnota pH snížena na $5,4 \pm 0,2$, čímž se podpořil růst laktobacilů a byl potlačen růst bakterií mléčného kvašení. Před zalitím misek určených pro kultivaci laktobacilů, byl agar vytemperován na teplotu $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Suspenze bakterií naočkovaných na Petriho misce byla nejprve přelita jednou vrstvou agaru a po jejím zatuhnutí ještě druhou vrstvou. Touto dvojí vrstvou bylo zajištěno mikroaerofilní prostředí. Misky byly umístěny dnem vzhůru do termostatu nastaveného na $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 48-72 hodin.



Obrázek 5: Anaerostat

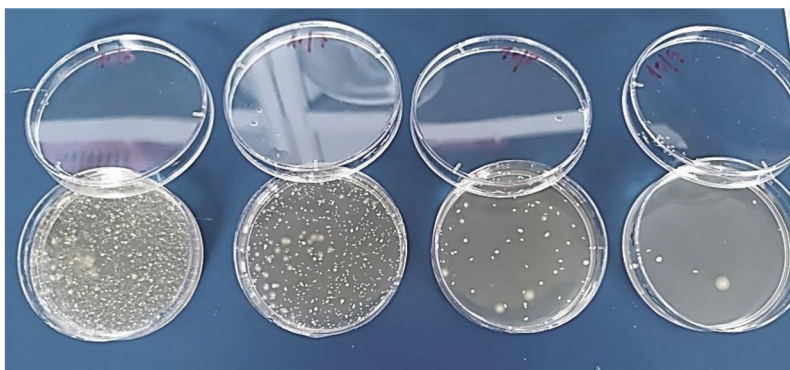
Stanovení streptokoků bylo prováděno na agaru M17. Obsahuje glycerolfosfát sodný, který má pufovací schopnost a udržuje pH nad 5,7 a zároveň inhibuje růst laktobacilů. Růst bifidobakterií je potlačen tím, že kultivace probíhá za aerobních podmínek. Živná půda pro růst streptokoků byla připravena obdobně jako předchozí půdy. Do Erlenmayerovy baňky se 100 ml destilované vody byl naváženo M17 agar. Obsah byl dobře promíchán a hrdlo bylo překryto alobalem. Baňka se umístila do autoklávu na 20 minut. Po vytemperování baňky na $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ bylo přidáno stříkačkou s jehlou 5 ml laktózy. Po zalití agarem, byly misky umístěny dnem vzhůru do termostatu na $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, kultivace probíhala aerobně 48-72 hodin.

4.5 Postup při vyhodnocení

Po kultivaci v termostatu byly kolonie narostlé na živných půdách spočítány. Každá miska byla počítána zvlášť, pomocí lihového propisovače a počítací desky (Obrázek 6 a 7). Počty kolonií se vynásobily dvakrát, protože bylo na každou misku aplikováno pouze 0,5 ml naředěného vzorku. Výsledné množství bakterií je vypočítáno podle vzorce: $P = [(P1+P2)/11] \times F$ (KTJ/ml), kde $P1$, $P2$ je počet kolonií na dvou po sobě jdoucích počitatelných plotnách a F je převrácená hodnota vyššího ředění. Výsledky jsou vyjádřeny v jednotkách KTJ/ml (kolonie tvořící jednotku v 1 ml vzorku).



Obrázek 6: Počítací deska



Obrázek 7: Kolonie bifidobakterií, šesté až deváté ředění

5 Výsledky

5.1 Ověření deklarovaných počtů probiotických bakterií po skončení doby minimální trvanlivosti

Byly testovány probiotické preparáty, kterým skončila doba jejich minimální trvanlivosti. Cílem bylo zjistit, zda tyto preparáty obsahují životaschopné probiotické bakterie i po uplynutí této doby. Konkrétně byly sledovány rody *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* a *Streptococcus*. Jejich počty byly určeny pomocí deskové metody na selektivních půdách. Narostlé kolonie byly spočítány a hodnoty byly převedeny na váhovou jednotku jeden gram pro lepší porovnání mezi přípravky, protože se váhy jednotlivých dávek lišily. Pro vyhodnocení byly převedeny i deklarované počty probiotických bakterií v jedné dávce na množství 1 gram (Příloha 6). Konečné výsledky jsou vyjádřeny jako počty bakterií pro každý rod zvlášť a následně i celkový počet životaschopných bakterií převedený na log KTJ.

V Tabulce 5 jsou uvedeny výsledky zjištěného množství MO v jednotkách log KTJ/g. Pro srovnání je zde uveden i počet deklarovaných počtů MO v probiotických preparátech. Na obalech preparátů nebo v příbalovém letáku byly od výrobců deklarovány jen názvy obsažených rodů a jejich celkové množství. Na žádném z výrobků nebylo udáno množství pro konkrétní rod.

Tabulka 5: Počty probiotických bakterií v preparátech po skončení doby minimální trvanlivosti

Označení vzorku	Počet bakterií (log KTJ/g±SD)				
	Deklarovaný CP	Laktobacily	Bifidobakterie	Streptokoky	CP
1	10,44	6,58±0,14	4,70±0,21	7,46±0,20	7,61±0,09
2	9,55	7,67±0,13	ND	NT	7,86±0,04
3	10,55	7,69±0,20	6,31±0,05	7,63±0,21	8,30±0,08
4	10,36	6,26±0,15	6,74±0,10	NT	4,86±0,13
5	9,34	6,67±0,05	7,71±0,25	8,31±0,08	8,82±0,15
6	9,89	5,89±0,10	7,58±0,28	NT	7,88±0,06
7	9,36	ND	4,30±0,03	NT	4,30±0,06
8	9,44	6,75±0,16	5,56±0,14	6,36±0,11	6,52±0,17
9	9,92	7,70±0,32	7,67±0,05	NT	8,42±0,12
10	9,39	ND	ND	4,30±0,36	5,30±0,07
11	10,59	9,30±0,03	9,08±0,06	9,02±0,28	10,01±0,03
12	9,35	7,12±0,04	7,50±0,04	NT	8,05±0,11
13	9,90	ND	9,37±0,05	NT	9,65±0,08
14	10,09	7,82±0,10	ND	NT	7,80±0,06
15	10,36	7,76±0,09	7,41±0,18	NT	7,43±0,13
16	10,13	7,89±0,06	6,01±0,06	NT	7,58±0,24
17	10,09	8,66±0,06	7,64±0,12	8,66±0,04	8,90±0,10

CP = celkový počet

NT (netestováno) = ve vzorku nebyl deklarován rod *Streptococcus*

ND (nedetekováno) = počty byly pod detekčním limitem 4 log KTJ/g

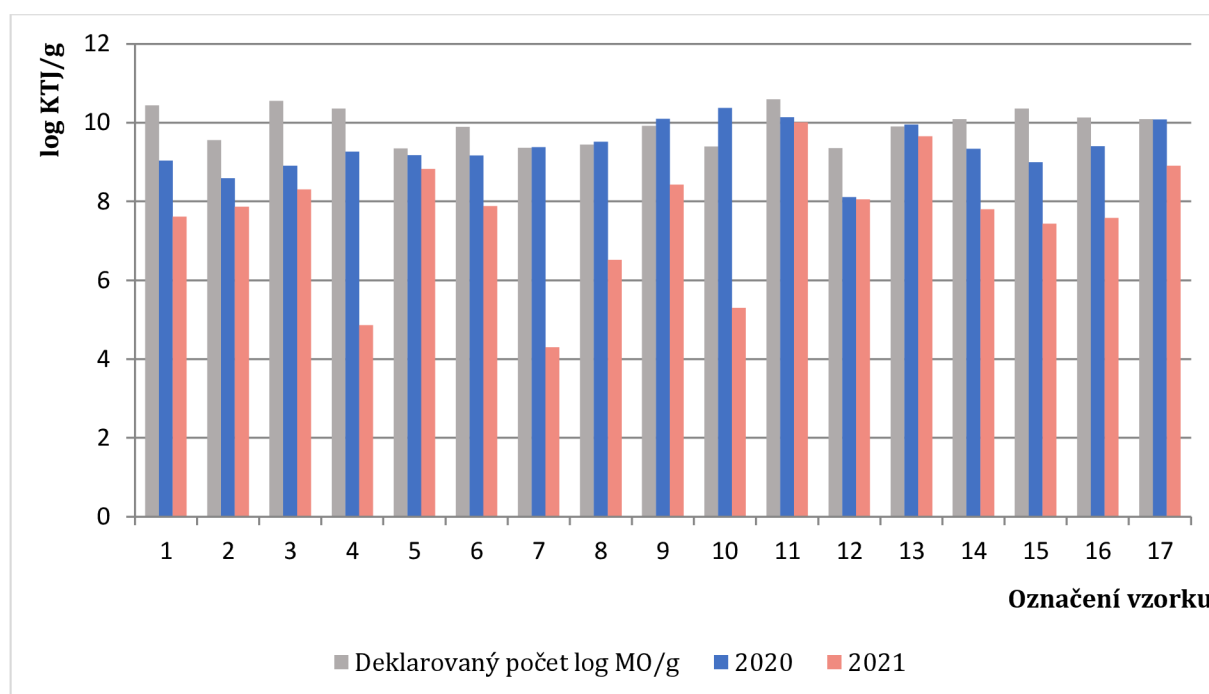
Výsledky potvrdily hypotézu 2. U všech vzorků byl zjištěný celkový počet MO po skončení doby minimální trvanlivosti nižší. Mezi sériemi měření byly zaznamenány minimální odchylky. Přehledněji je porovnání výsledků mezi získaným a deklarovaným počtem uvedeno na následujícím Grafu 1, do kterého jsou zahrnuty i výsledky měření stejných vzorků před skončením doby minimální trvanlivosti (Podušková, 2021).

Z výsledků je patrné, že i před koncem doby minimální trvanlivosti nesplňovaly deklarované množství probiotické preparáty: **1** - Biopron Premium, **2** - Swiss Nature Via Laktobacilly, **3** - APO-Lactobacillus, **4** - Edenpharma Probiotika plus kolostrum, **6** - GYNIMUN dual protect, **12** - Walmark Biopron LAKTOBACÍLKY, **14** - Laktobacily SWISS Imunit, **15** - ProbioLact, **16** - Cemio Laktobacily 7+.

Minimální pokles počtu MO, po skončení doby minimální trvanlivosti, byl u vzorků: **11** - GS Laktobacily Antibio40, **12** - Walmark Biopron LAKTOBACÍLKY a **13** - LINEX

Forte. U vzorku **1** - Biopron Premium, **2** - Swiss NatureVia Laktobacilky, **3** - APO-Lactobacillus, **5** - ProbioFlora, **6** - GYNIMUN dual protect, **9** - Generica Probius Premium, **11** - GS Laktobacily Antibio40, **14** - Laktobacily SWISS Imunit, **15** - ProbioLact, **16** - Cemio Laktobacily 7+ a **17** - Walmark Laktobacily Complex byl zaznamenán pokles probiotických bakterií, který odpovídá relativně krátké době po skončení doby minimální trvanlivosti. Naopak skokově se snížil počet probiotických bakterií u vzorků **4** - Edenpharma Probiotika plus kolostrum, **7** - Medpharma Lactobacillus acidophilus +2, **8** - Lactoseven a **10** - NeoZen Probian.

Graf 1: Porovnání deklarovaného množství výrobcem, zjištěného množství před (2020) a po (2021) skončení minimální trvanlivosti

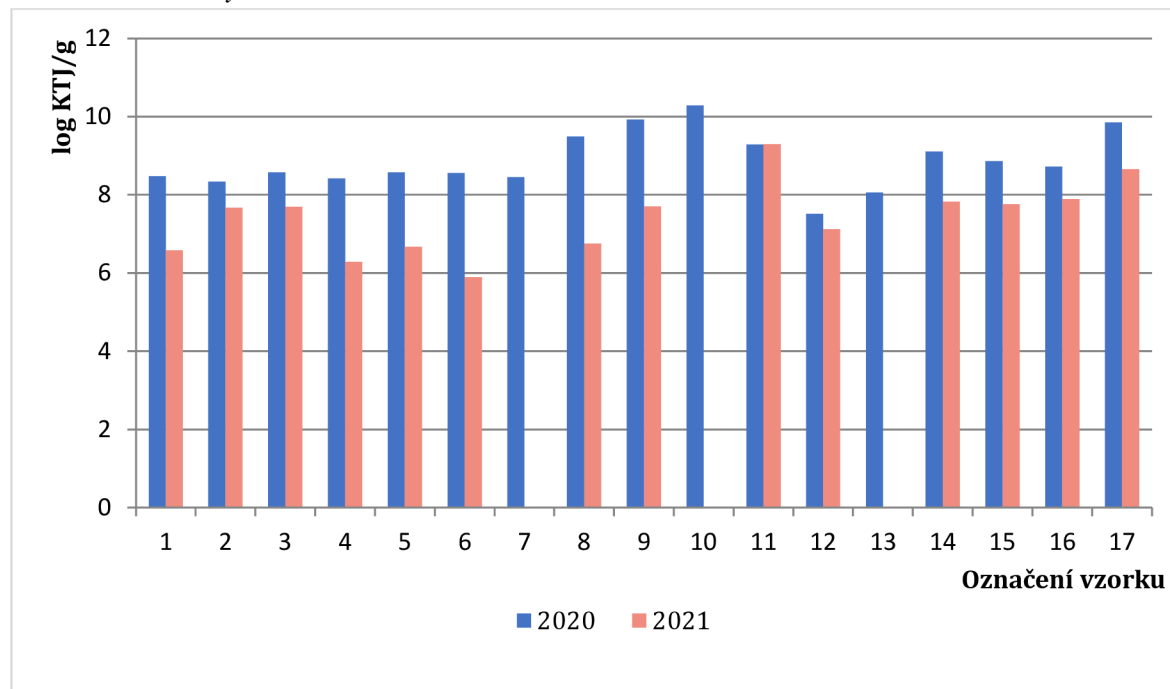


Na Grafu 2 a 3 jsou pro srovnání uvedeny zjištěné počty bakterií rodu *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* spolu s výsledky měření u stejných vzorků v roce 2020 (Podušková, 2021). Rod *Streptococcus* byl v tomto porovnání vynechán, protože nebyl v roce 2020 zjišťován.

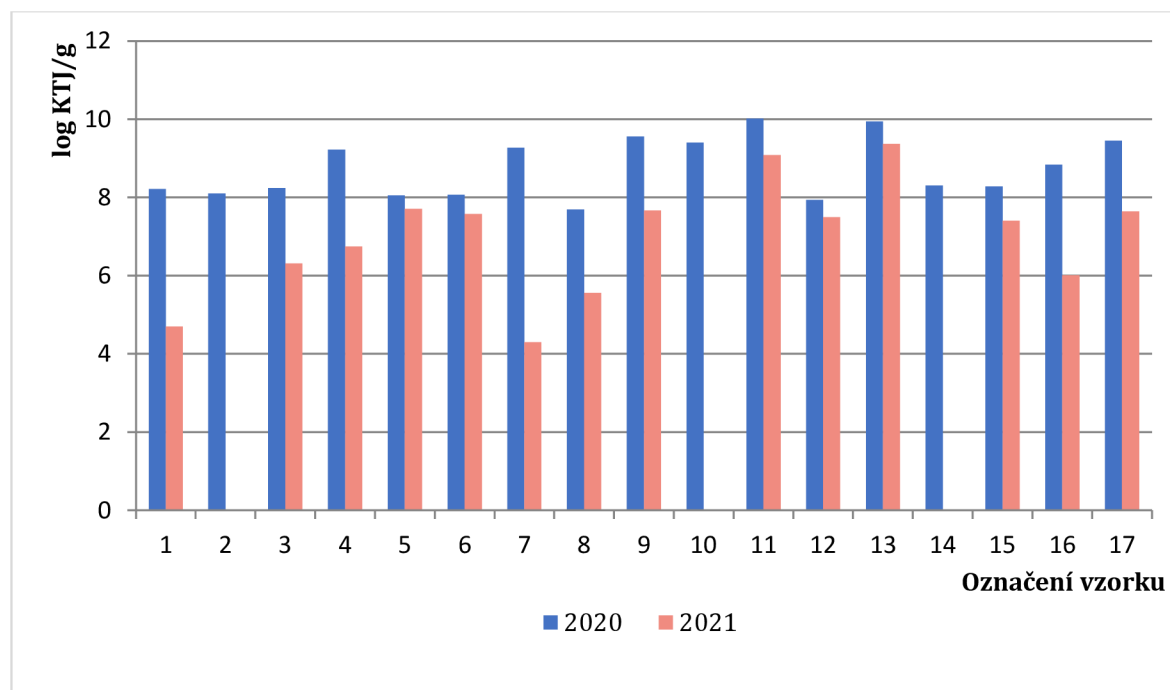
Celkově došlo během jednoho roku skladování ke snížení o 1 až 5 řádů, nejčastější byl pokles probiotických bakterií o 2 řády. Z výsledků vyplývá, že větší pokles počtu MO byl u rodu *Lactobacillus*. Ve třech případech, u vzorků **7** - Medpharma Lactobacillus acidophilus +2, **10** - NeoZen Probian a **13** - LINEX Forte, dokonce nebyly přítomny žádné životaschopné

MO z tohoto rodu. U rodu *Bifidobacterium* došlo k úplné ztrátě MO u vzorku **2** - Swiss NatureVia Laktobacílky, **10** - NeoZen Probian a **14** - Laktobacily SWISS Imunit.

Graf 2: Porovnání množství bakterií rodu *Lactobacillus* v probiotických doplňcích stravy v roce 2020 a 2021



Graf 3: Porovnání množství bakterií z rodu *Bifidobacterium* v probiotických doplňcích stravy v roce 2020 a 2021



5.2 Ověření deklarovaných počtů v probiotických preparátech dostupných na e-shopech a v drogeriích

Pro tuto část experimentální práce bylo zakoupeno 10 probiotických preparátů z e-shopů a v drogerii. Cílem bylo zjistit, zda i tyto preparáty splňují množství MO deklarované výrobcem (Tabulka 6). Deklarované množství v jedné dávce bylo přepočítáno na 1 gram (Příloha 7) a i získané výsledky byly vyjádřené v jednotkách log KTJ/g, z důvodu lepšího porovnávání. Počty byly sledovány u rodů *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* a *Streptococcus*, a byly opět stanovovány kultivační deskovou metodou na selektivních pěstebních prostředích.

Tabulka 6: Deklarované množství MO v probiotických doplňcích stravy dostupných na e-shopech a v drogeriích

Označení vzorku	Deklarovaný počet log MO/g	Zjištěný počet log lakt ± SD	Zjištěný počet log bif ± SD	Zjištěný počet log stc ± SD	Celkový počet log MO/g
A	9,88	8,62±0,25	8,69±0,21	7,76±0,22	8,35±0,16
B	9,91	7,85±0,11	8,47±0,30	7,67±0,12	8,36±0,15
C	8,82	8,50±0,25	7,37±0,17	7,88±0,18	8,91±0,02
D	9,40	8,21±0,10	NT	NT	9,24±0,31
E	8,85	9,51±0,03	6,17±0,01	NT	9,49±0,23
F	9,60	9,60±0,02	9,70±0,24	NT	7,83±0,23
G	10,3	7,95±0,25	7,64±0,16	9,41±0,13	8,88±0,18
H	10,26	7,30±0,03	8,76±0,13	7,54±0,17	9,86±0,13
I	11,0	9,50±0,14	9,39±0,13	9,68±0,26	9,81±0,09
J	10,3	9,65±0,01	8,96±0,18	9,29±0,15	9,91±0,23

šedá barva = vzorek nesplňuje množství MO deklarované výrobcem

NT (netestováno) = ve vzorku nebyl deklarován označený rod

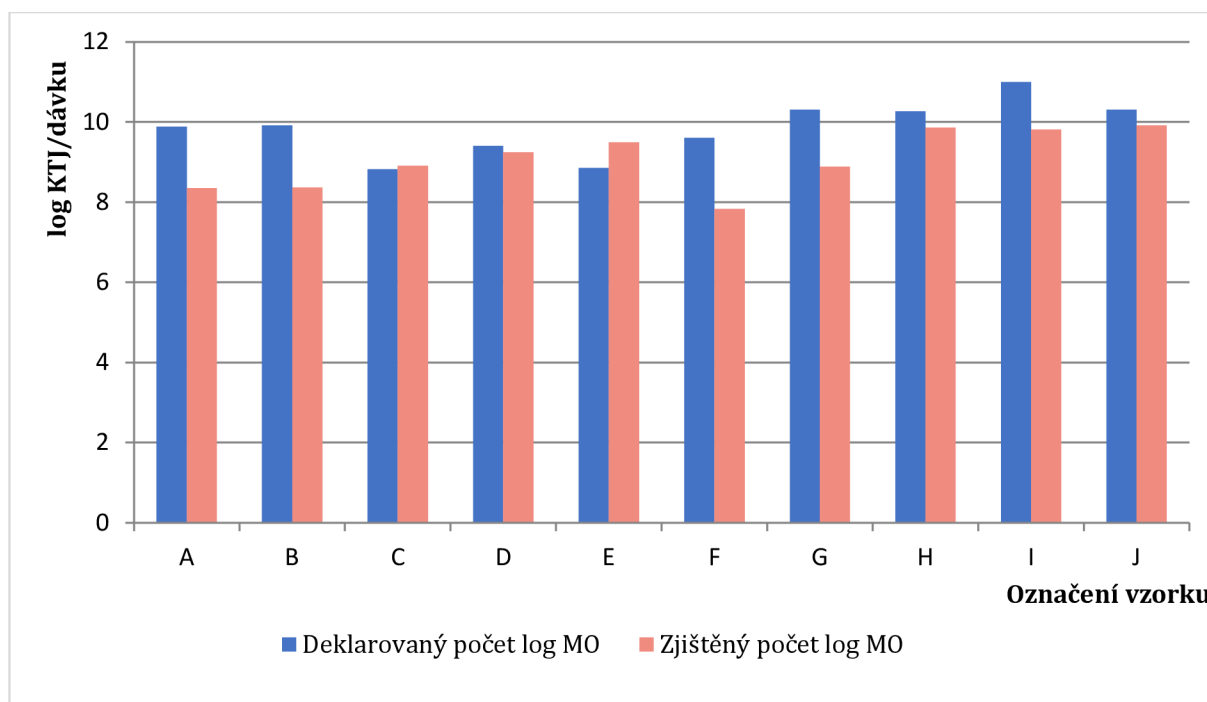
Z těchto výsledků vyplývá, že je nutné vyvrátit hypotézu 1, protože pět z deseti vybraných vzorků nesplňovaly deklarované množství MO. Konkrétně se jednalo o vzorky: **A** - Swanson Dr. Stephen, **B** - Orangefit Probiotica, **F** - Viridian Synerbio Daily, **G** - Bio-Kult Booster a **I** - Ecce Vita Probiomix.

U vzorků **D** - VITAR Probiotika EKO, **H** - Probio 24 ADVANCE a **J** - Vilgain Probiotics byl zaznamenán pouze nepatrný pokles množství životaschopných MO a tyto vzorky byly vyhodnoceny jako vyhovující.

Naopak u vzorků C - Czech Virus Probio15 a E - Forky's Probiotika pro ženy bylo zjištěno vyšší množství probiotických mikroorganismů, než deklaroval výrobce.

Přehledně jsou výsledky zobrazeny na Grafu 4.

Graf 4: Porovnání deklarovaného a zjištěného množství MO v probiotických doplňcích stravy dostupných na e-shopech a v drogeriích



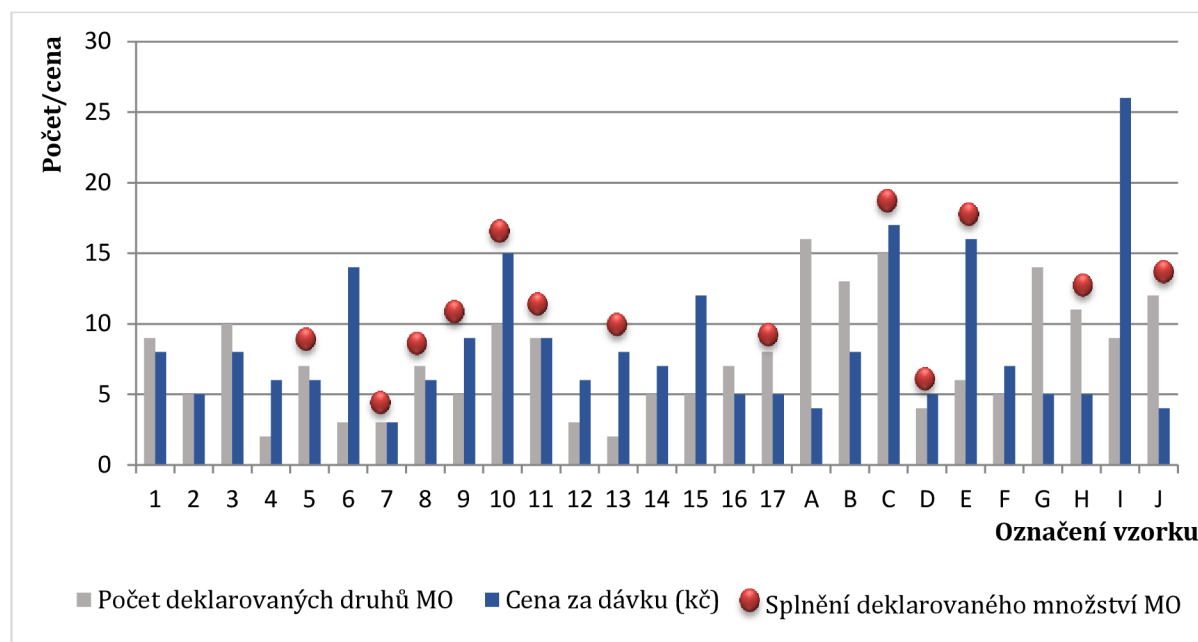
5.3 Zhodnocení ceny výrobku ve vztahu k jeho složení

V Tabulce 7 je souhrnný přehled testovaných probiotických preparátů před skončením doporučené doby minimální trvanlivosti. Dále kolik obsahovaly deklarovaných druhů MO a zda splňovaly deklarované množství MO dané výrobcem. Cena se v rámci různých řetězců lékáren a na jiných prodejních místech liší, proto je zde uvedena jako průměrná a přepočítaná na jednu dávku, protože jsou k dostání různě velká balení probiotických preparátů (15, 30, 60 tablet). Přehledněji jsou tyto výsledky zpracovány v Grafu 5.

Tabulka 7: Testované probiotické preparáty, splnění deklarovaného množství, počet druhů MO a cena za dávku

Označení vzorku	Název produktu	Splňuje deklarované množství MO	Počet deklarovaných druhů MO	Cena za dávku (kč)
1	Biopron Premium	ne	9	8
2	Swiss Nature Via Laktobacilky	ne	5	5
3	APO-Lactobacillus	ne	10	8
4	Edenpharma Probiotika plus kolostrum	ne	2	6
5	ProbioFlora	ano	7	6
6	GYNIMUN dual protect	ne	3	14
7	Medpharma Lactobacillus acidophilus +2	ano	3	3
8	Lactoseven	ano	7	6
9	Generica Probiicus Premium	ano	5	9
10	NeoZen Probian	ano	10	15
11	GS Laktobacily Antibio 40	ano	9	9
12	Walmark Biopron LAKTOBACÍLKY	ne	3	6
13	Linex Forte	ano	2	8
14	Laktobacily SWISS Imunit	ne	5	7
15	ProbioLact	ne	5	12
16	Cemio Laktobacily 7+	ne	7	5
17	Walmark Laktobacily Complex	ano	8	5
A	Swanson Dr. Stephen	ne	16	4
B	Orangefit Probiotica	ne	13	8
C	Czech Virus Probio15	ano	15	17
D	VITAR Probiotika EKO	ano	4	5
E	Forky's Probiotika pro ženy	ano	6	16
F	Viridian Synerbio Daily	ne	5	7
G	Bio-Kult Booster	ne	14	5
H	Probio 24 ADVANCE	ano	11	5
I	Ecce Vita Probiomix	ne	9	26
J	Vilgain Probiotics	ano	12	4

Graf 5: Porovnání splnění deklarovaného množství MO, počtu druhů MO a ceny probiotických preparátů



Ze všech 27 testovaných vzorků splnilo deklarované množství MO 13 vzorků. Na jejich obalech byl výrobcí deklarován počet použitých živých mikroorganismů v rozmezí od 3×10^8 KTJ do 33×10^9 KTJ na denní dávku. Rozhodně nelze jednoznačně říci, že by tyto vzorky byly dražší než ty, které deklarované množství nesplňovaly. Nejdražší vzorek byl **I** - Ecce Vita Probiomix, který obsahoval průměrné množství druhů MO a jejich deklarované množství nesplňoval. Naopak nejlevnějším vzorkem byl vzorek **7** - Medpharma Lactobacillus acidophilus +2, který sice neobsahoval tolik druhů MO jako jiné preparáty, ale splňoval jejich deklarované množství.

Z Grafu 5 je patrné, že vzorky zakoupené v lékárně (značené čísly) byly levnější (průměrná cena za dávku 8 Kč) a obsahovaly menší množství jednotlivých druhů MO (průměrně 6 druhů v každém produktu). Průměrná cena probiotických preparátů zakoupených na e-shopech a v drogeriích (označené písmeny) byla 10 Kč za dávku a průměrně každá dávka obsahovala 11 různých druhů MO. Co se týče splnění deklarovaného množství probiotických bakterií, není mezi vzorky zakoupenými v lékárně a v jiných obchodech téměř rozdíl. Ze vzorků zakoupených v lékárně splňovalo deklarované množství MO 47 % a ze vzorků nakoupených na e-shopech a v drogerii 50 %.

Při srovnání všech tří parametrů – ceny, počtu druhů deklarovaných MO a splnění počtu MO uvedeného výrobcem, byly jako nejlepší vyhodnoceny vzorky (sestupně):

J - Vilgain Probiotics

H - Probio 24 ADVANCE

17 - Walmark Laktobacily Complex

5 - ProbioFlora

11- GS Laktobacily Antibio 40.

6 Diskuze

Probiotika jsou živé organismy, které mají příznivý vliv nejen na střevní mikrobiotu hostitele, ale vykazují celkový pozitivní vliv na lidské zdraví. Jsou zkoumány vlivy probiotik při léčbě střevních onemocnění, mezi které patří nejen idiopatické střevní záněty, syndrom dráždivého tračníku, celiakie, průjmová onemocnění, ale i další (Kerry et al., 2018). Hlavním zájmem výzkumu jsou civilizační choroby. Tyto chronické neinfekční nemoci jsou způsobeny moderním životním stylem a každý člověk je za jejich vznik z velké míry zodpovědný sám. Mezi ty nejčastější, při jejichž léčbě se uplatňují probiotika, patří dyslipidémie, hypertenze, diabetes mellitus a obezita (Kopp, 2019). Nejen tato onemocnění, ale i chirurgické zákroky nebo léčba antibiotiky negativně ovlivňují přirozenou lidskou mikrobiotu. Její navrácení do správné rovnováhy mezi přirozenými a patogenními mikroorganismy pak může trvat několik týdnů. Proto se v těchto případech nabízí probiotika, která k udržování správné rovnováhy napomáhají (Pais et al., 2020).

Přesné mechanismy působení probiotických bakterií nejsou zcela objasněny. Jde o složité procesy interakcí bakterií mezi sebou navzájem a mezi bakteriemi a hostitelským organismem. Mezi nejčastější mechanismy působení probiotik patří: posílení bariérových funkcí střevního epitelu a normalizace narušené střevní mikrobioty, konkurenční vyloučení patogenů a produkce bakteriocinů, ovlivnění imunitního systému hostitele, syntéza vitamínů, aminokyselin a enzymů (Khare et al., 2018). Je však zcela nepravděpodobné, že bude každý probiotický kmen působit všemi těmito mechanismy zároveň. Hlavní vliv na mechanismus působení budou mít specifické vlastnosti pro daný kmen a druh, jako je buněčná struktura, velikost, povrch buněk a zejména pak metabolická aktivita. Mimo to nelze zanedbat ani životaschopnost probiotických mikroorganismů a jejich podanou dávku, aby byl zajištěn dostatečný příznivý účinek na lidské zdraví (Guan and Liu, 2020). Proto musí být probiotické bakterie, používané v potravinářství nebo při výrobě doplňků stravy, odolné proti působení žaludečních kyselin, proti enzymům, toxickým metabolitům, které vznikají při trávení, a zároveň musí být schopné růst a množit se v anaerobních podmínkách, aby se jich dostalo do cílového místa působení dostatečné množství (Dima et al., 2013). Všechny tyto podmínky udržení životaschopnosti ovlivňuje i složení potravinového výrobku nebo doplňku stravy a jeho samotná výroba. Pozornost je třeba věnovat i způsobu sušení probiotických kultur, rehydratačnímu postupu, teplotě, vlhkosti prostředí a v neposlední řadě také způsobu skladování výrobku (FAO/WHO, 2006).

Probiotické bakterie jsou na našem trhu obsaženy v mnoha potravinách, ale jejich nejvyšší množství nalézáme v zakysaných mléčných výrobcích nebo v probiotických doplňcích stravy určených pro lidskou výživu. Termín probiotikum není v české legislativě definován a všechny probiotické preparáty se řadí mezi doplňky stravy. Jejich problematiku upravuje vyhláška 58/2018 Sb., o doplňcích stravy a složení potravin. Pro výrobce není tedy povinnost, ale pouze doporučení, uvádět na obalu počty životaschopných bakterií. Zatímco u zakysaných mléčných výrobků není s dodržением životaschopných bakterií problém ani po skončení doby minimální trvanlivosti, u probiotických doplňků stravy už tomu tak není a mnohdy nesplňují deklarované množství ani před ukončením doby minimální trvanlivosti (Fenster et al., 2019).

Tato diplomová práce je zaměřena na ověření deklarovaných počtů probiotických bakterií v potravinových doplňcích a na zjištění poklesu jejich množství po skončení doby minimální trvanlivosti. Bylo testováno 17 probiotických preparátů zakoupených v lékárně, které byly již po skončení minimální trvanlivosti. Od zakoupení byly skladovány dle doporučení výrobce na obalu. Další 10 probiotických preparátů bylo nově zakoupeno na e-shopech a v drogerii. Testované výrobky obsahovaly kombinaci bakteriálních rodů *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* a *Streptococcus*. Z rodu *Lactobacillus* byly nejvíce zastoupeny druhy *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus rhamnosus* a *Lactobacillus reuteri*. Z rodu *Bifidobacterium* druhy *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum* a *Bifidobacterium animalis ssp. lactis*. Z rodu *Streptococcus* byl v probiotických preparátech zastoupen druh *Streptococcus thermophilus*, který je jako jediný nepatogenní.

Legislativně není doporučený denní příjem probiotik stanoven, ale obecně se doporučuje pro dospělého člověka denní dávka 10×10^9 KTJ a pro dítě 5×10^9 KTJ (Meyer et al., 2006). Toto doporučené množství nesplňovalo 42 % vzorků zakoupených v lékárně a 50 % vzorků zakoupených mimo lékárny. Na jejich obalech byl deklarovaný počet v rozmezí od 3×10^8 KTJ do 33×10^9 KTJ na denní dávku. Při ověření, zda výrobky splňují to, co výrobce deklaruje, nevyhovělo celkem 51 % výrobků. Měření bylo prováděno ve třech sériích a drobné odchylky se pohybují v rozmezí běžné chybovosti při kultivačním stanovení.

Ke stejným závěrům, tedy nesplnění deklarovaného množství probiotických bakterií na obalech, dospěli i autoři mnoha jiných studií. Z celkového přehledu 106 testovaných probiotických léčiv dostupných v Evropě, Indii a Pákistánu, nebyla mikrobiální životaschopnost definovatelná u 22 produktů z důvodu chybějícího údaje o deklarovaném množství buněk na obalech. Pro 5 produktů byly získány rozdílné závěry v různých studiích

a ze zbývajících 79 probiotických doplňků nevyhovovalo deklarovanému množství 44 %. Navíc bylo zjištěno, že 16 % doplňků stravy obsahuje potencionální patogeny, které mohou představovat riziko pro zdraví člověka (Mazzantini et al., 2021). Toscano et al. (2013) se zabýval testováním probiotických produktů na italském trhu a dospěl k závěru, že 42 % produktů neobsahuje počty probiotických bakterií, jaké deklarují výrobci na obalech. Navíc u 17% nebyla nalezena žádná životaschopná kolonie ani z jednoho druhu. Vecchione et al. (2018) testoval mikrobiální životaschopnost v simulované žaludeční šťávě. V pokusu byly použity dvě umělé žaludeční šťávy. První byl roztok kyseliny chlorovodíkové s pH 1,5 při 37 °C, druhý z chloridu sodného, kyseliny chlorovodíkové a pepsinu s pH 1,4 při 37 °C. U 70% testovaných produktů došlo k výraznému snížení počtu životaschopných buněk již po 30 minutách. U 2 produktů, Enterolactis Plus a Lactoflorene Plus, nebyly po 120 minutách nalezeny žádné reziduální živé organismy. Otázku, do jaké míry jsou probiotické doplňky stravy přínosné pro lidské zdraví, pokládá ve své studii i Wang et al. (2020). Testované bakteriální kmeny jsou považovány za tolerantní žlučovým solím při krátké expozici (1-2 hodiny), jak ale uvádí, v GIT mohou být probiotika vystavena kyselým podmínkám po dobu přibližně 5-8 hodin. Kromě toho jsou probiotické kmeny často studovány v čistých homogenních kulturách, kde nepřítomnost jiných probiotik a/nebo rezistentních bakterií, které jsou obsaženy ve střevech, může zkreslovat výsledky ve prospěch výrobců. Závěr studie Korona-Glowniak et al. (2019) je takový, že z 10 testovaných probiotických produktů dostupných v Polsku, nesplňuje 60 % z nich deklarované množství. Nejmenší počet bakterií byl zjištěn u produktu 4lacti, Biotik a Biopron.

Nesplnění deklarovaného počtu probiotických bakterií je možné vysvětlit tím, že při výrobě probiotických doplňků stravy jsou bakteriální kultury převáděny do lyofilizovaného stavu. Je to nejvhodnější postup pro aplikaci mikroorganismů do doplňků stravy, ale tento proces mrazové sublimace je ovlivňuje negativně. Proto je třeba zabývat se novými technologickými postupy při výrobě probiotických doplňků, aby byla podpořena životaschopnost. Jednou z možností je proces mikroenkapsulace, při kterém jsou buňky zabaleny do mikroenkapsulační membrány, která je tvořena různými polysacharidy a slouží jako ochrana před nepříznivými vlivy okolního prostředí. Zároveň je propustná pro metabolity a živiny. Je velice efektivní ochranou probiotických bakterií při lyofilizaci i proti prostředí trávicího traktu (Călinoiu et al., 2016). Velice dobré výsledky byly prokázány v ochraně bifidobakterií proti kyselému prostředí mikroenkapsulací pomocí alginátu vápenatého. Je levný, netoxický a lze jej zpětně solubilizovat, pokud je třeba zapouzdřené buňky uvolnit (Prisco et al., 2017). V další studii bylo zkoumáno přežití volných probiotických bakterií

a bakterií zapouzdřených v alginátové matici. Bylo simulováno prostředí žaludku a duodena o pH 2. Studie jasně prokázala, že životaschopnost zapouzdřených bakterií byla mnohem vyšší než volných bakterií. Po jedné hodině působení kyselého prostředí byl stanoven počet 10^7 KTJ/ml a po dvou hodinách více jak 10^6 KTJ/ml. Obalem z alginátu sodného byla zvýšena životaschopnost o 80 až 95 % (Sathyabama et al., 2014). Mezi nevýhody tohoto procesu patří vystavení buňkám novým fyzikálně-chemickým podmínkám uvnitř pouzder. Buňky jsou imobilizované v těsném kontaktu, difúze živin a plynů se po zapouzdření zpomaluje a může se zvyšovat produkce metabolitů (Prisco et al., 2017).

Dalšími možnostmi, jak zvýšit životaschopnost probiotických bakterií v doplňcích stravy je výběr kmene, který vykazuje vysokou odolnost ke stresovým podmínkám nebo zvýšit jejich stresovou odolnost genovou modifikací. V neposlední řadě mají vliv na jejich životaschopnost potraviny konzumované bezprostředně před a po užití probiotického doplňku stravy a způsob jejich skladování (Gueimonde et al., 2012).

Kromě kvantifikace deklarovaného množství probiotických bakterií se v této práci zabýváme závislostí mezi kvalitativním zastoupením probiotických druhů a cenou produktů. Cena všech testovaných probiotických doplňků se pohybovala v rozmezí od 3 do 26 Kč/dávku. Z výsledků je patrné, že nejdražší vzorky nesplňovaly deklarované množství mikroorganismů a ty, které jej splnily, se pohybují v průměrné cenové relaci (Graf 5). Nelze jednoznačně říci, že jsou výrobky s větším množstvím různých druhů probiotických bakterií lepší, ale existují studie, které potvrzují příznivější účinky na zdraví, pokud je kombinováno v preparátu více různých druhů probiotických bakterií (Wang et al., 2020). Největší zastoupení různých druhů probiotických bakterií bylo u vzorku zakoupených na e-shopech: **A** - Swanson Dr. Stephen, **C** - Czech Virus Probio15, **G** - Bio-Kult Booster a **J** - Vilgain Probiotics. U vzorku **A** - Swanson Dr. Stephen bylo deklarováno jednoznačně nejvyšší množství použitých probiotických druhů (16), i když byla jeho cena 4 Kč/dávku. Tento případ upozorňuje na to, zda má cena produktu vypovídající hodnotu o jeho kvalitě a zda výrobce opravdu použil všechny testované druhy, protože jejich deklarované množství nebylo u tohoto výrobku splněno. Pouze 2 druhy probiotických bakterií obsahoval vzorek **13** - Linex Forte, s průměrnou cenou 8 Kč/dávku, který i splnil jejich deklarované množství. Nejlevnějším vzorkem byl vzorek **7** - Medpharma Lactobacillus acidophilus +2, s cenou 3 Kč/dávku, obsahoval 3 druhy probiotických bakterií a splnil jejich deklarované množství.

V této práci jsme se na ověření jednotlivých druhů probiotických bakterií nezaměřovali, ale jak mnohé studie naznačují, i zde dochází ke klamání spotřebitele. Ne vždy dochází ke správnému označení nebo úplnému taxonomickému popisu probiotických kmenů

na obalech produktů. Ve studii od Lugli et al. (2019) bylo taxonomické složení 10 probiotických produktů zkoumáno pomocí sekvenování 16 rRNA. Na úrovni rodu analýza ukázala, že 80 % produktů splňuje bakteriální složení deklarované výrobcem. Naopak v rozsáhlém přehledu o mikrobiologické kvalitě probiotických přípravků komerčně dostupných na celém světě, obsahovalo ze 104 produktů pouze 54 % deklarované druhy. U ostatních 46% výrobků chyběl jeden nebo více deklarovaných druhů probiotických mikroorganismů nebo obsahovaly jiné druhy, než byly deklarované na obale (Mazzantini et al., 2021).

Pro velkou část spotřebitelů je rozhodujícím ukazatelem kromě ceny i místo nákupu. U doplňků stravy, které mají podporovat naše zdraví, mnohem více nakupujících dává přednost lékárnám, které jsou spojované s ručením příznivého vlivu produktů na zdraví. Výsledky práce ukazují, že vzorky zakoupené v lékárně (označené čísly) byly levnější (8 Kč/dávka), ale také obsahovaly menší množství jednotlivých probiotických druhů (průměrně 6). Oproti tomu výrobky zakoupené mimo lékárny (označené písmeny) byly dražší (10 Kč/dávka), ale obsahovaly i vyšší množství různých probiotických druhů bakterií (průměrně 11). U kvantitativního splnění deklarovaného množství životaschopných bakterií v produktech se neprokázal významný rozdíl při koupi v lékárně nebo na e-shopu a v drogerii. V obou případech toto množství splňuje průměrně 50 % produktů.

Z výsledků testování probiotických doplňků stravy, které byly po skončení minimální trvanlivosti, je patrné, že počty životaschopných bakterií klesaly (Graf 1), čímž jsme potvrdili hypotézu 2. Celkově došlo k poklesu probiotických bakterií o 1 až 5 řádů. K nejnižšímu poklesu MO došlo u vzorků **11 - GS Laktobacily Antibio40**, **12 - Walmark Biopron LAKTOBACÍLKY** a **13 - LINEX Forte**. Skokově se snížil počet MO u vzorků **4 - Edenpharma Probiotika plus kolostrum**, **7 - Medpharma Lactobacillus acidophilus +2**, **8 - Lactoseven** a **10 - NeoZen Probian**. U vzorků **7 - Medpharma Lactobacillus acidophilus +2**, **10 - NeoZen Probian** a **13 - LINEX Forte** došlo k úplné ztrátě rodu *Lactobacillus* a u vzorku **2 - Swiss NatureVia Laktobacílky**, **10 - NeoZen Probian** a **14 - Laktobacily SWISS Imunit** ke ztrátě rodu *Bifidobacterium*. Samozřejmě je důležitý fakt, aby probiotické doplňky stravy splňovaly deklarované množství MO před koncem minimální trvanlivosti, ale je třeba spotřebitele upozornit i na to, jak rychle může množství životaschopných bakterií v produktech klesat, a proto je vhodné konzumovat výrobky před ukončením minimální trvanlivosti.

Užívání probiotik je spojeno se zdravotními přínosy, od zlepšení vstřebávání živin a imunitního systému, až po prevenci vzniku rakoviny. Kromě jejich zdravotních přínosů

se setkáváme ojediněle i s nepříznivými účinky na lidské zdraví, hlavně pro pacienty s oslabenou imunitou a po transplantaci orgánů, kdy mohou probiotika způsobit lokalizované nebo systémové infekce, které mohou vést k selhání orgánů při průniku střevní sliznicí a do krevního řečiště. Je třeba nezapomínat, že i když mají probiotika celou řadu příznivých účinků, nevyřeší všechny problémy a určitě by se neměla nadužívat ve velkém množství. Jejich konzumaci při onemocnění je třeba konzultovat s lékařem, který by měl posoudit, zda je vůbec probiotické doplňky stravy nutné užívat. S tím se pojí i diskutovaná otázka vzniku rezistentních bakterií. Rezistentní geny nesené na mobilních elementech probiotik mohou být totiž přeneseny horizontálním genovým přenosem na střevní bakterie, které mohou být následně přeneseny na oportunní patogeny v gastrointestinálním traktu. V případě infekce se poté patogeny, které získají rezistentní geny, stávají rezistentními vůči antibiotikům. Vzhledem k rostoucímu množství probiotik konzumovaných ve formě doplňků stravy se tyto dlouhodobé důsledky na lidské zdraví stávají významnějšími (Wang et al., 2020).

Průzkum trhu z roku 2020 označuje probiotické doplňky stravy za hybnou sílu průmyslu funkčních potravin. Představují největší množství probiotických bakterií konzumovaných lidmi napříč všemi kategoriemi potravin. Základní podmínkou však zůstává, aby daný výrobek obsahoval dostatečné množství životaschopných probiotických bakterií. Výrobci deklarují na obalech množství přítomných bakterií ve výrobku, ale mnoho studií, i výsledky této práce dokazují, že počty nejsou vždy pravdivé a ve většině případů dochází ke klamání spotřebitele. A i když v současné době existuje na trhu celá řada potravin s probiotiky, je třeba si uvědomit, že všichni máme ve střevech pozitivně působící probiotické bakterie a je lepší jejich rozvoj podpořit potravinami s prebiotickými látkami. Fermentované mléčné výrobky, které mezi probiotickými potravinami stále dominují, jsou snadno dostupné, a i cenově pro spotřebitele více příznivé. Výsledky této práce poukazují na potřebu zavedení závazných postupů umožňujících spolehlivou kontrolu probiotických doplňků stravy dozorovými orgány.

7 Závěr

- Mezi vzorky zakoupenými v lékárně a na e-shopech nebo v drogeriích není téměř žádný rozdíl, co se týče splnění deklarovaného množství MO. V obou případech průměrně vyhovělo pouze 50 % testovaných vzorků.
- Při dlouhodobém skladování rychle klesá počet životaschopných bakterií.
- Při výběru probiotických výrobků stravy je vhodné zaměřit se na počet deklarovaných kmenů a celkové množství mikroorganismů, nejdražší výrobek nemusí být ten nejkvalitnější.
- Probiotika je vhodné konzumovat pouze v případech, kdy je to nutné. Mnohem lepší volbou je podpora přirozené střevní mikrobioty potravinami s prebiotickými látkami.
- Z výsledků vyplývá doporučení zavedení přísnější kontroly dodržování deklarovaného množství probiotických bakterií v doplňcích stravy, aby nedocházelo ke klamání spotřebitelů.

8 Literatura

- Abenavoli, L., Scarpellini, E., Colica, C., Boccuto, L., Salehi, B., 2019. Gut Microbiota and Obesity: A Role for Probiotics. *Nutrients* 11, 2690.
- Baud, D., Agri, V.D., Gibson, G., Reid, G., Giannoni, E., 2020. Using Probiotics to Flatten the Curve of Coronavirus Disease COVID-2019 Pandemic. *Public Health* 8,186.
- Bluher, M., 2020. Metabolically Healthy Obesity. *Endocrine reviews* 41, 405-420.
- Bottari, B., Castellone, V., Neviani, E., 2020. Probiotics and Covid-19. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 72, 293-299.
- Bottari, B., Castellone, V., Neviani, E., 2021. Probiotics and Covid-19. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 72, 293-299.
- Bray, G.A., Kim, K.K., Wilding, J.P.H., 2017. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obesity reviews* 18, 715-723.
- Bubnov, R., Spivak, M.Y., Lazarenko, L., Bomba, A., Boyko, N., 2015. Probiotics and immunity: provisional role for personalized diets and disease prevention. *The EPMA Journal* 6.1, 1-11.
- Călinoiu, L.-F., Vodnar, D.-C., Precup, G., 2016. The probiotic bacteria viability under different conditions. *Bulletin UASVM Food Science and Technology* 73, 55-60.
- Cani, P.D., 2018. Human gut microbiome: hopes, threats and promises. *BMJ Journals* 67, 1716-1725.
- Caricilli, A., Saad, M., 2013. The Role of Gut Microbiota on Insulin Resistance. *Nutrients* 5, 829-851.
- Cavallini, D.C., Manzoni, M., Bedani, R., Roselino, M., Caliberto, L., 2016. Probiotic soy product supplemented with isoflavones improves the lipid profile of moderately hypercholesterolemic men: A randomized controlled trial. *Nutrients* 8, 52.
- Cerdó, T., García-Santos, J., Bermúdez, M., Campoy, C., 2019. The Role of Probiotics and Prebiotics in the Prevention and Treatment of Obesity. *Nutrients* 11, 635.
- Dargahi, N., Johnson, J., Donkor, O., Vasiljevic, T., Apostolopoulos, V., 2019. Immunomodulatory effects of probiotics: Can they be used to treat allergies and autoimmune diseases? *Maturitas* 119, 25-38.
- Derrien, M., Vlieg, J.E.T.v.H., 2015. Fate, activity, and impact of ingested bacteria within the human gut microbiota. *Trends in Microbiology* 23, 354-366.
- Didari, T., Solki, S., Mozaffari, S., Nikfar, S., 2014. A systematic review of the safety of probiotics. *Expert Opinion on Drug Safety* 13.2, 227-239.

Dima, S., Bahrim, G.E., Iordachescu, G., 2013. Sources, Production and Microencapsulation of Probiotics. in: Health, P.a.P.i.F.-N.a. (Ed.). CRC Press.

Dockrell, R.G.H., Zuckerman, M., Roitt, I., Chiodini, P., 2016. *Mimsova lékařská mikrobiologie*. Triton, Praha.

Doron, S., Snyderman, D., 2015. Risk and Safety of Probiotics. *Clinical Infectious Diseases* 60, 129-134.

Duar, R., Lin, X., Zheng, J., Martino, M.E., Grenier, T., Pérez-Munóz, M., 2017. Lifestyles in transition: evolution and natural history of the genus *Lactobacillus*. *FEMS Microbiology Reviews* 41, 27-48.

Duranti, S., Lugli, G.A., Napoli, S., Anzalone, R., Milani, C., 2019. Characterization of the phylogenetic diversity of five novel species belonging to the genus *Bifidobacterium*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 69, 1288-1298.

Duranti, S., Lugli, G.A., Viappiani, A., Mancabelli, L., Alessandri, G., Anzalone, R., 2020. Characterization of the phylogenetic diversity of two novel species belonging to the genus *Bifidobacterium*: *Bifidobacterium cebidarum* sp. nov. and *Bifidobacterium leontopithecii* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 70, 2288-2297.

FAO/WHO, 2006. *Probiotics in Food: Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization.

Fenster, K., Freeburg, B., Hollard, C., Wong, C., Laursen, R.R., Ouwehand, A., 2019. The Production and Delivery of Probiotics: A Review of a Practical Approach *Microorganisms* 7, 83.

Galdeano, C.M., Cazorla, S.I., Dumit, J.M.L., Vélez, E., Perdígón, G., 2019. Beneficial Effects of Probiotic Consumption on the Immune System. *Nutrition&Metabolism* 74, 115-124.

Goldenberg, Q., Guo, Q., Humphrey, C., Dib, R.E., Johnston, B., 2019. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 4.

Guan, N., Liu, L., 2020. Microbial response to acid stress: mechanisms and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* 104, 51-65.

Gueimonde, M., Reyes-Gavilán, C.d.L., Sánchez, B., 2012. Stability of lactic acid bacteria in foods and supplements. *Lactic Acid Bacteria, Microbiological and Functional Aspect*, 361-384.

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G., 2014. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*. 11, 506-514.

- Hill, D., Sugrue, I., Tobin, C., Hill, C., Stanton, C., 2018. The *Lactobacillus casei* Group: History and Health Related Applications. *Frontiers in microbiology* 9, 2107.
- Choi, C.Y., Kim, Y.H., Lee, H.J., Park, S.H., 2017. Anti-inflammatory potential of a heat-killed *Lactobacillus* strain isolated from Kimchi on house dust mite-induced atopic dermatitis in NC/Nga mice. *Journal of applied microbiology* 2, 535-543.
- Indira, M., Venkateswarulu, T., Peele, K.A., Bobby, M.N., Krupanidhi, S., 2019. Bioactive molecules of probiotic bacteria and their mechanism of action: a review. *3 Biotech* 9, 1-11.
- Karamali, M., Dadkhah, F., Sadrkhanlou, M., Jamilian, M., Ahmadi, S., 2016. Effects of probiotic supplementation on glycaemic control and lipid profiles in gestational diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Diabetes&Metabolism* 42, 234-241.
- Kerry, R.G., Patra, J.K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H.-S., Das, G., 2018. Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis* 26, 927-939.
- Khare, A., Thorat, G., Bhimte, A., Yadav, V., 2018. Mechanism of action of prebiotic and probiotic. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 6, 51-53.
- Killer, J., 2019. *Potravinářská mikrobiologie: pro posluchače FAPPZ. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.*
- Kopp, W., 2019. How Western Diet And Lifestyle Drive The Pandemic Of Obesity And Civilization Diseases. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, 12, 2221-2236.
- Korona-Glowniak, I., Siwiec, R., Luszczewska-Sierakowska, I., Maciejewski, R., Wrobel, R., 2019. Microbiological evaluation of 10 commercial probiotic products available in Poland. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences* 32, 121-124.
- Lee, E.-S., Song, E.-J., Nam, Y.-D., Lee, S.-Y., 2018. Probiotics in human health and disease: from nutraceuticals to pharmabiotics. *Journal of Microbiology* 56, 773-782.
- Lewis-Mikhael, A.-M., Davoodvandi, A., Jafarnejad, S., 2020. Effect of *Lactobacillus plantarum* containing probiotics on blood pressure: A systematic review and meta-analysis. *Pharmaceutical Research* 153, 104663.
- Liang, X., LV, Y., Zhag, Z., Yi, H., Liu, T., Li, R., Yu, Z., Zhang, L., 2020. Study on intestinal survival and cholesterol metabolism of probiotics. *LWT* 124, 109132.
- Lopez-Santamarina, A., Gonzalez, E., Lamas, A., Mondragon, A.d.C., Regal, P., Miranda, J.M., 2021. Probiotics as a Possible Strategy for the Prevention and Treatment of Allergies. A Narrative Review. *Foods* 10.4, 701.
- Lugli, G.A., Mangifesta, M., Mancabelli, L., Milani, C., Turrone, F., Viappiani, A., 2019. Compositional assessment of bacterial communities in probiotic supplements by means of metagenomic techniques. *International Journal of Food Microbiology* 294, 1-9.

Martinovic, A., Cocuzzi, R., Arioli, S., Mora, D., 2020. *Streptococcus thermophilus*: To Survive, or Not to Survive the Gastrointestinal Tract, That Is the Question! *Nutrients* 12.8, 2175.

Mayo, B., Aleksandrak-Piekarczyk, T., Fernández, M., Kowalczyk, M., Álvarez-Martín, P., 2010. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: novel applications*. Blackwell Publishing Argentina.

Mazzantini, D., Calvigioni, M., Celandroni, F., Lupetti, A., Ghelardi, E., 2021. Spotlight on the Compositional Quality of Probiotic Formulations Marketed Worldwide. *Frontiers in Microbiology* 2058.

McFarland, L., Goh, S., 2019. Are probiotics and prebiotics effective in the prevention of travellers' diarrhea: A systematic review and meta-analysis. *Travel Medicine and Infectious Disease* 27, 11-19.

Meyer, A., Micksche, M., Herbacek, I., Elmadfa, I., 2006. Daily Intake of Probiotic as well as Conventional Yogurt Has a Stimulating Effect on Cellular Immunity in Young Healthy Women. *Annals of Nutrition and Metabolism* 50, 282-289.

Modesto, M., Michelini, S., Sansosti, M.C., Filippo, C.D., Cavalieri, D., 2018. *Bifidobacterium callitrichidarum* sp. nov. from the faeces of the emperor tamarin (*Saguinus imperator*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 68.1, 141-148.

Mukherjee, S., Ramesh, A., 2015. Bacteriocin-producing strains of *Lactobacillus plantarum* inhibit adhesion of *Staphylococcus aureus* to extracellular matrix: quantitative insight and implications in antibacterial therapy. *Journal of Medical Microbiology* 64.12, 1514-1526.

Neužil-Bunešová, V., Lugli, G.A., Modráčková, N., Vlková, E., Bolechová, P., Burtscher, J., Longhi, G., Mancabelli, L., Killer, J., Domig, K., Ventura, M., 2021. Five novel bifidobacterial species isolated from faeces of primates in two Czech zoos: *Bifidobacterium erythrocebi* sp. nov., *Bifidobacterium moraviense* sp. nov., *Bifidobacterium oedipodis* sp. nov., *Bifidobacterium olomucense* sp. nov. and *Bifidobacterium panos* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 71:004573.

Olaimat, A., Aolymat, I., Al-Holy, M., Ayyash, M., Ghoush, M.A., 2020. The potential application of probiotics and prebiotics for the prevention and treatment of COVID-19. *Science of Food* 4.1, 1-7.

Otles, S., Hazal, O., 2014. Analysis of Probiotics and Prebiotics. in: Raton, B. (Ed.).

Pais, P., Almeida, V., Yilmaz, M., Teixeira, M., 2020. *Saccharomyces boulardii*: What Makes It Tick as Successful Probiotic? *Journal of Fungi* 6, 78.

Pais, P., Almeida, V., Yilmaz, M., Teixeira, M. C., 2020. *Saccharomyces boulardii*: what makes it tick as successful probiotic?. *Journal of Fungi* 6.2, 78.

Parker, E., Roy, T., D'Adamo, C., Wieland, S., 2018. Probiotics and gastrointestinal conditions: An overview of evidence from the Cochrane Collaboration. *Nutrition&Metabolism* 45, 125-134.

Plaza-Diaz, J., Ruiz-Ojeda, F.J., Gil-Campos, M., Gil, A., 2019. Mechanisms of Action of Probiotics. *Advances in Nutrition* 10, 49-66.

Podušková, B., 2021. Ověření dklarovaných počtů bakterií v probiotických preparátech určených pro lidkou výživu. [Diplomová práce]. ČZU Praha, Praha.

Praet, J., Meeus, I., Cnockaert, M., Aerts, M., Smagghe, G., Vandamme, P., 2015. *Bifidobacterium commune* sp. nov. isolated from the bumble bee gut. *Antonie van Leeuwenhoek* 107, 1307-1313.

Prakoeswa, C.R.S., Herwanto, N., Prameswari, R., Astari, L., Sawirti, S., Hidayati, A.N., 2017. *Lactobacillus plantarum* IS-10506 supplementation reduced SCORAD in children with atopic dermatitis *Beneficial microbes* 8, 833-840.

Prisco, A., Valenberg, J., Fogliano, V., Mauriello, G., 2017. Microencapsulated starter culture during yoghurt manufacturing, effect on technological features. *Food and Bioprocess Technology* 10, 1767-1777.

Qi, D., Nie, X.-L., Zhang, J.-J., 2020. The effect of probiotics supplementation on blood pressure: a systemic review and meta-analysis. *Lipids in Health and Disease* 19.1, 1-11.

Richards, V., Palmer, S., Bitar, P.P., Qin, X., Weinstock, G., Highlander, D., 2014. Phylogenomics and the Dynamic Genome Evolution of the Genus *Streptococcus*. *Genome biology and evolution* 6.4, 741-753.

Rø, A.D.B., Simpson, M.R., Storro, O., Johnsen, R., Videm, V., 2017. Reduced Th22 cell proportion and prevention of atopic dermatitis in infants following maternal probiotic supplementation. *Clinical & Experimental Allergy* 47, 1014-1021.

Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J., Bressollier, P., 2013. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT - Food Science and Technology* 50, 1-16.

Salminen, S., Collado, M.C., Endo, A., Hill, C., 2021. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 18, 649-667.

Sanchez, M., Darimont, C., Panahi, S., Drapeau, V., Murette, A., Taylor, V., 2017. Effects of a Diet-Based Weight-Reducing Program with Probiotic Supplementation on Satiety Efficiency, Eating Behaviour Traits, and Psychosocial Behaviours in Obese Individuals. *Nutrients* 9, 284.

Sathyabama, S., Kumar, M.R., Bruntha, P., Vijayabharathi, R., 2014. Co-encapsulation of probiotics with prebiotics on alginate matrix and its effect on viability in simulated gastric environment. *LWT - Food Science and Technology* 57, 419-425.

Sbírka zákonů České republiky. 2018. Vyhláška č. 58/2018 Sb., kterou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin. Sbírka zákonů České republiky. Česká Republika.

Sbírka zákonů České republiky. 1997. Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů. Česká Republika.

Schepper, J., Irwin, R., Kang, J., Dagenais, K., Lemon, T., Shinouskis, A., 2017. Probiotics in Gut-Bone Signaling. *Understanding the gut-bone signaling axis*, 225-247.

Singh, A., Vishwakarma, V., Singhal, B., 2018. Metabiotics: The Functional Metabolic Signatures of Probiotics: Current State-of-Art and Future Research Priorities. *Advances in Bioscience and Biotechnology* 9, 147-189.

Sivamaruthi, B., Kesika, P., Suganth, N., 2019. A Review on Role of Microbiome in Obesity and Antiobesity Properties of Probiotic Supplements. *BioMed Research International* 2019, 20.

Sivamaruthi, B.S., Kesika, P., Chaiyasut, C., 2019. A Mini-Review of Human Studies on Cholesterol-Lowering Properties of Probiotics. *Scientia Pharmaceutica* 87.4, 26.

Su, M., Jia, Y., Li, Y., Zhou, D., Jia, J., 2020. Probiotics for the Prevention of Ventilator-Associated Pneumonia: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Respiratory care* 65, 673-685.

Tamime, A., Thomas, L., 2018. Probiotic Dairy Products. in: *Technology*, S.o.D. (Ed.). Wiley Blackwell.

Tao, Y.W., Gu, Y.-L., Mao, X.-Q., Zhang, L., Pei, Y.-F., 2020. Effects of probiotics on type II diabetes mellitus: a meta-analysis. *Journal of Translational Medicine* 18.1, 1-11.

Toscano, M., Vecchi, E.d., Rodighiero, V., Lorenzo, Drago, 2013. Microbiological and genetic identification of some probiotics proposed for medical use in 2011. *Journal of Chemotherapy* 25, 156-161.

Uriot, O., Denis, S., Junjua, M., Roussel, Y., 2017. *Streptococcus thermophilus*: From yogurt starter to a new promising probiotic candidate? *Journal of Functional Foods* 37, 74-89.

Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, 2021. Covid-19. Praha. Available from <https://www.uzis.cz/index.php?pg=covid-19> (accessed November 2021).

Vecchione, A., Celandroni, F., Mazzantini, D., Senesi, S., Lupetti, A., Ghelardi, E., 2018. Compositional Quality and Potential Gastrointestinal Behavior of Probiotic Products Commercialized in Italy. *Frontiers in medicine* 5, 59.

Vilímovský, M.M., 2019. Nežádoucí účinky a rizika probiotik. *Medlicker*.

Wang, Y., Jiang, Y., Deng, Y., Yi, C., Wang, Y., Ding, M., Liu, J., Jin, X., 2020. Probiotic Supplements: Hope or Hype? *Frontiers in Microbiology* 11, 160.

Wang, Y., Xie, Q., Zhang, Y., Ma, W., Ning, K., Xiang, J.-Y., Cui, J., Xiang, H., 2020. Combination of probiotics with different functions alleviate DSS-induced colitis by regulating intestinal microbiota, IL-10, and barrier function. *Applied Microbiology and Biotechnology* 104.1, 335-349.

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C., Hung, H., Mattarelli, P., 2020. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus* : Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. ERA.

Zhou, Z., Chen, X., Sheng, H., Sun, X., Shen, X., Yan, Y., Wang, J., 2020. Engineering probiotics as living diagnostics and therapeutics for improving human health. *Microbial Cell Factories* 19.1, 1-12.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

ACE = angiotensin-converting enzyme; enzym angiotenzin-konvertázy

AMPK = adenosinmonofosfátkináza

ATP = adenosintrifosfát

BMI = body mass index; vztah mezi tělesnou hmotností a výšou jedince

COVID-19 = coronavirus disease 2019, koronavirové onemocnění 2019

DDD = doporučená denní dávka

DNA = deoxyribonukleová kyselina

FAO = Food and Agriculture Organization of the United Nations; Organizace pro výživu a zemědělství

FDA = Food and Drug Administration; Americký úřad pro kontrolu potravin a léčiv

GIT = gastrointestinální trakt

GRAS = Generally Recognized as Safe; Obecně uznávaný jako bezpečný

HDL = high density lipoproteins; lipoproteiny s vysokou hustotou

in vitro = „ve zkumavce“ – termín pro pokusy prováděné mimo tělo

KTJ = kolonie tvořící jednotku

LDL = low density lipoproteins; lipoproteiny s nízkou hustotou

MO = mikroorganismus

ND = nedetekováno

NT = netestováno

SÚKL = Státního ústavu pro kontrolu léčiv

ÚZIS = Ústav zdravotnických informací a statistiky

VLDL = very low density lipoproteins; lipoproteiny s velmi nízkou hustotou

WHO = World Health Organization; Světová zdravotnická organizace

10 Samostatné přílohy

Příloha 1: Přehled probiotických produktů dostupných na českém trhu (část 1)

	Komerční název produktu	Deklarované množství probiotik	Probiotické mikroorganismy		
			bifidobakterie	laktobacily	ostatní
1	Biopron Premium	10 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
2	Swiss NatureVia Laktobacilky baby	1,2 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	
3	APO-Lactobacillus	12 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>
4	Edenpharma Probiotika plus kolostrum	10 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
5	ProbioFlora	3 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
6	GYNIMUN dual protect	3 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum</i> BB-536	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
7	Medpharma Lactobacillus	1 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
8	Lactoseven	1 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
9	Generica Probiqus Premium	4 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium lactis</i> Lafti® B9	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i>	
10	NeoZen Probian	1 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Bacillus coagulans</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>
11	GS Laktobacily Antibio40	20 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> ssp. <i>paracasei</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Pediococcus acidolactici</i>
12	Walmark Biopron LAKTOBACÍLKY	1 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	
13	LINEX Forte	2 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium animalis lactis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
14	Acute Care	7 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
15	Laktobacily SWISS Imunit	6 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	
16	ProbioLact	10 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (biofilm), <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus sporogenes</i>	

Příloha 2: Přehled probiotických produktů dostupných na českém trhu (část 2)

	Komerční název produktu	Deklarované množství probiotik	Probiotické mikroorganismy		
			bifidobakterie	laktobacily	ostatní
17	Cemio Laktobacily 7+	7 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> ssp. <i>paracasei</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Pediococcus acidolactici</i>
18	Walmart Laktobacily Complex	5 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
19	California Gold Nutrition LactoBif Probiotics	30 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i>	
20	PriBioLact Baby	2 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i> (biofilm), <i>Bifidobacterium animalis</i> ssp. <i>Lactis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> (biofilm)	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bacillus coagulans</i>
21	Naturline Laktobacily forte s fruktooligosacharidy	15,6 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
22	Probio24	33 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
23	Now Probiotic- 10	25 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
24	Prolacton15	12 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
25	Apotheke Lactobacillus acidophilus	1 x 10 ⁹ CFU		<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
26	Bio- Kult 14	2 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>Lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
27	Bactoral	2 x 10 ⁹ CFU			<i>Streptococcus salivarius</i> K12
28	Acidotikum	1 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
29	Probiotikus	13 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>

Příloha 3: Přehled probiotických produktů dostupných na českém trhu (část 3)

	Komerční název produktu	Deklarované množství probiotik	Probiotické mikroorganismy		
			bifidobakterie	laktobacily	ostatní
30	Biogaia	20 x 10 ⁹ CFU		<i>Lactobacillus reuteri, Lactobacillus reuteri</i>	
31	Probio- Fix	4 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium animalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
32	Probio Aktiv	1,7 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
33	JAMIESON Acidophilus Super Strain	2 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium longum subsp. Longum, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium animalis subsp. Lactis</i>	<i>Lactobacillus paracasei, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus gasseri, Lactobacillus reuteri</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
34	Smectaflora LP299V	10 x 10 ⁹ CFU		<i>Lactobacillus plantarum</i>	
35	VITAR Probiotika EKO	1,5 x 10 ⁹ CFU		<i>Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Bacillus coagulans</i>
36	Probix combicare	12 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium breve, Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus sporogenes, Lactobacillus acidophilus encapsulated</i>	<i>Streptococcus thermophilus subsp. salivarius</i>
37	Probio Imun	10 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium breve</i>	<i>Lactobacillus paracasei, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus plantarum</i>	
38	Probiotics 20	10 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus plantarum, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus brevis, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus casei subsp. Casei, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus gasseri, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus sakei, Lactobacillus salivarius, Lactobacillus lactis subsp. lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
39	ActiLac	1 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium lactis biotyp A, Bifidobacterium lactis biotyp B</i>	<i>Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus salivarius, Lactococcus lactis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
40	Osmobiotic Flora por.gra.sus.	3 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium animalis subsp. Lactis</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	
41	LaktoBacily FORTE - Modrý kod	9,5 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium breve</i>	<i>Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus gasseri</i>	
42	Pearls YB	1 x 10 ⁹ CFU		<i>Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus acidophilus</i>	
43	Compliflora Immuno Complex	2 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Lactobacillus plantarum, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus rhamnosus</i>	
44	Compliflora ATB complex	6 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
45	Colon Dophilus	10 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium breve, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium infantis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus brevis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>

Příloha 4: Přehled probiotických produktů dostupných na českém trhu (část 4)

	Komerční název produktu	Deklarované množství probiotik	Probiotické mikroorganismy		
			bifidobakterie	laktobacily	ostatní
46	BAC-ENTOS	2 x 10 ⁹ CFU			<i>Streptococcus salivarius</i> SAL21
47	Aporosa Probio Laktobacily	9 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
48	Ekolife Natura Probio Flora	6,5 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium breve, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
49	Enterol	1x 10 ⁹ CFU			<i>Saccharomyces boulardii</i>
50	Ecce Vita Probiomix	30x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus plantarum, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei</i>	<i>Bacillus coagulans, Bacillus subtilis, Streptococcus thermophilus, Saccharomyces boulardii</i>
51	Boulardii travel	5 x 10 ⁹ CFU			<i>Saccharomyces boulardii</i>
52	Now Foods Saccharomyces Boulardi	10 x 10 ⁹ CFU			<i>Saccharomyces boulardii</i> (pivní kvasinky <i>Saccharomyces cerevisiae</i> kmene <i>boulardii</i> I-3799)
53	Viridian Saccharomyces Boulardii	6,5 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium breve, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
54	Yeastbiotic	3 x 10 ⁹ CFU			<i>Saccharomyces boulardii</i>
55	Biotikom APO-Lactobacillus	12 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium breve</i>	<i>Lactobacillus casei, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus fermentum</i>	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>
56	GS Superky	10,5 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactobacillus helveticus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus casei</i> ssp. <i>paracasei</i>	<i>Pediococcus acidilactici, Streptococcus thermophilus</i>
57	Bactoral	2 x 10 ⁹ CFU			<i>Streptococcus salivarius</i>
58	Probio 24 ADVANCE	33 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei, Lactobacillus lactis, Lactobacillus paracasei</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
59	Superhuman probiotics		<i>Bifidobacterium longum, B. bifidum, B. infantis</i>	<i>L. acidophilus, L. salivarius, L. brevis, L. casei</i> ssp. <i>casei, L. fermentum, L. gasseri, L. helveticus, L. plantarum, L. reuteri, L. casei</i> ssp. <i>rhamnosus</i>	<i>Streptococcus thermophilus, E. faecium</i>

Příloha 5: Přehled probiotických produktů dostupných na českém trhu (část 5)

	Komerční název produktu	Deklarované množství probiotik	Probiotické mikroorganismy		
			bifidobakterie	laktobacily	ostatní
60	Terraflora Daily Care Probiotics 60	1 x 10 ⁹ CFU			<i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus megaterium</i> EM144™, <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus clausii</i> , <i>Bacillus coagulans</i>
61	Stelkor	1 x 10 ⁹ CFU/g			<i>Bacillus licheniformis</i> (rekombinantní kmen), <i>Bacillus subtilis</i>
62	GYMNIUM intim protect			<i>Lactobacillus crispatus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. jensenii</i> , <i>L. iners</i>	
63	Ecce Vita Probiomix	30 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	<i>Bacillus coagulans</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Saccharomyces boulardii</i>
64	VITAR Probiotika EKO	1,5 x 10 ⁹ CFU		<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Bacillus coagulans</i>
65	Vilgain Probiotics	10 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
66	Forky's Probiotika pro ženy	5 x 10 ⁸ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	
67	Viridian Synerbio Daily	2 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
68	Bio-Kult Booster	8 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>
69	Swanson Dr. Stephen	3,2 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
70	Orangefit Probiotica	5 x 10 ⁹ CFU	<i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium anim.</i> ssp. <i>lactis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Enterococcus faecium</i>
71	Czech Virus Probio15	3 x 10 ⁸ CFU	<i>Bifidobacterium an lactis</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium l. infantis</i> , <i>Bifidobacterium l. longum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Saccharomyces boulardii</i> a <i>Bacillus coagulans</i>

Příloha 6: Převod deklarovaného množství probiotických bakterií v jedné dávce na 1 gram

Označení vzorku	Hmotnost dávky	Deklarovaný počet MO/dávka	Deklarovaný počet MO/g	Deklarovaný počet log MO/g
1	0,36	$1,0 \times 10^{10}$	$2,78 \times 10^{10}$	10,44
2	0,34	$1,2 \times 10^9$	$3,53 \times 10^9$	9,55
3	0,34	$1,2 \times 10^{10}$	$3,53 \times 10^{10}$	10,55
4	0,47	$1,0 \times 10^{10}$	$2,30 \times 10^{10}$	10,36
5	0,46	$1,0 \times 10^9$	$2,17 \times 10^9$	9,34
6	0,39	$3,0 \times 10^9$	$7,69 \times 10^9$	9,89
7	0,44	$1,0 \times 10^9$	$2,27 \times 10^9$	9,36
8	0,36	$1,0 \times 10^9$	$2,78 \times 10^9$	9,44
9	0,48	$4,0 \times 10^9$	$8,30 \times 10^9$	9,92
10	0,41	$1,0 \times 10^9$	$2,44 \times 10^9$	9,39
11	0,51	$2,0 \times 10^{10}$	$3,90 \times 10^{10}$	10,59
12	0,45	$1,0 \times 10^9$	$2,22 \times 10^9$	9,35
13	0,25	$2,0 \times 10^9$	$8,0 \times 10^9$	9,90
14	0,48	$6,0 \times 10^9$	$1,25 \times 10^{10}$	10,09
15	0,44	$1,0 \times 10^{10}$	$2,27 \times 10^{10}$	10,36
16	0,52	$7,0 \times 10^9$	$1,35 \times 10^{10}$	10,13
17	0,41	$5,0 \times 10^9$	$1,22 \times 10^{10}$	10,09

Příloha 7: Převod deklarovaného množství probiotických bakterií v jedné dávce na 1 gram

Označení vzorku	Hmotnost dávky	Deklarovaný počet MO/dávka	Deklarovaný počet MO/g	Deklarovaný počet log MO/g
A	0,42	$3,2 \times 10^9$	$7,6 \times 10^9$	9,88
B	0,61	$5,0 \times 10^9$	$8,2 \times 10^9$	9,91
C	0,45	$3,0 \times 10^8$	$6,67 \times 10^8$	8,82
D	0,60	$1,5 \times 10^9$	$2,5 \times 10^9$	9,4
E	0,71	$5,0 \times 10^8$	$7,04 \times 10^8$	8,85
F	0,50	$2,0 \times 10^9$	$4,0 \times 10^9$	9,6
G	0,40	$8,0 \times 10^9$	$20,0 \times 10^9$	10,3
H	0,61	$11,0 \times 10^9$	$1,8 \times 10^{10}$	10,26
I	0,30	$30,0 \times 10^9$	$10,0 \times 10^{10}$	11,0
J	0,45	$10,0 \times 10^9$	$2,2 \times 10^{10}$	10,3