

Computeranalyse levert schat aan nieuwe informatie op

Onderbouwing gezondheidsclaims

NIZO food research ontwikkelde samen met het WCFS een computermodel dat het gedrag van pathogenen en ‘gezonde’ bacteriën (probiotica) in het maagdarmkanaal kan berekenen op basis van in vivo-meetresultaten. Zo kan meer relevante informatie uit experimenten worden gehaald, waardoor het onderbouwen van gezondheidsclaims minder tijd kost.

Aan de meeste gezondheidsbevorderende producten die op dit moment op de markt zijn, zijn ‘gezonde’ bacteriën toegevoegd, en dan vooral bacteriën die zijn gericht op het optimaliseren van de darmflora. Wie kent niet de flesjes van Yakult, Actimel en Vifit? Al deze producten claimen de consument te helpen bij het tegengaan van allerlei infecties. De overheid oefent steeds meer druk uit op de producenten van deze producten om hun claims te onderbouwen. Het onderbouwen van claims is geen eenvoudige klus. Daarvoor zijn veel experimenten nodig met proefdieren en de consument zelf. Dergelijke experimenten



Wat de aan het voedingsmiddel toegevoegde bacteriën in het maagdarmkanaal doen – inactiveren, groeien of hechten aan de darmwand – valt slechts indirect te beredeneren.

Samenvatting

Het hardmaken van claims over gezondheidbevorderende effecten van functionele voedingsmiddelen vereist vele dure en tijdrovende experimenten met proefdieren en mensen. In een poging het aantal experimenten te verminderen ontwikkelde NIZO food research samen met het WCFS een computermodel dat het gedrag van pathogenen en ‘gezonde’ bacteriën (probiotica) in het maagdarmkanaal kan berekenen op basis van in vivo-meetresultaten. Zo kan meer relevante informatie uit experimenten worden gehaald, waardoor het onderbouwen van gezondheidsclaims minder tijd kost.

Abstract

Substantiating health claims of food products or ingredients requires a great number of costly and time-consuming experiments on animals and humans. In order to limit the number of experiments necessary NIZO food research and Wageningen Centre for Food Science co-developed a computer model that calculates the behavior of pro-biotics in the gastrointestinal tract based on data from in vivo experiments. Analysis of in vivo data generates new and valuable insights into the growth, adherence and release of bacteria. This may facilitate and speed up the validation of health claims.

Claims kan sneller

zijn niet alleen kostbaar en tijdrovend, maar experimenten op de consument zelf zijn bovendien buitengewoon lastig uit te voeren. In de meeste gevallen is de experimentele opzet beperkt tot het meten van wat een proefpersoon inneemt en wat er naar verloop van tijd weer 'uit komt'. Wat de aan het voedingsmiddel toegevoegde bacteriën in het maag-darmkanaal doen – inactiveren, groeien of hechten aan de darmwand – valt slechts indirect te beredeneren. Laat staan dat kwantitatieve informatie wordt verkregen over het effect van de dosis en het type voedingsmiddel op de darmflora.

Computermodellen

Om snellere methoden te ontwikkelen zijn diverse onderzoeksgroepen aan de slag gegaan met het bouwen van model-

Verrassend was dat E. coli in de dikke darm van de mens nauwelijks blijkt te groeien maar in die van de rat wel

len. Het idee is dat deze modellen de experimenten met proefpersonen kunnen vervangen. Sommige onderzoekers hebben met geroerde glazen vaatjes, slangetjes en kleppen geprobeerd het maag-darmkanaal na te bootsen. Anderen hebben ingewikkelde computermodellen gebouwd die zo veel mogelijk de processen in het maag-darmkanaal proberen te vatten in wiskundige vergelijkingen. Het grote aantal parameters van deze modellen is echter niet in vivo te meten. Bijkomend nadeel is dat de voorspellende waarde beperkt is en niet met zekerheid is vast te stellen wat er daad-

Snelheden voor groei, hechting en afgifte van bacteriën

Experiment	Dunne darm			Dikke darm		
	groei (h ⁻¹)	hechting (mm·h ⁻¹)	afgifte (h ⁻¹)	groei (h ⁻¹)	hechting (mm·h ⁻¹)	afgifte (h ⁻¹)
Salmonella (rat)	1,12	0,002	1,15	0,006	0,001	1,15
Salmonella met calciumdieet (rat)	0,29	< 0,001	0,30	< 0,001	< 0,001	0,30
Salmonella na antibiotica (rat)	0,35	0,22	0,56	0,002	0,16	0,56
E. coli (rat)	0,54	0,006	0,60	0,04	0,002	0,60
E. coli (mens)	0,23	3,1	0,30	<0,001	35,3	0,30

werkelijk in de consument gebeurt. Een nieuwe aanpak is gebruik maken van een sterk vereenvoudigd computermodel dat het gedrag van bacteriën in het maag-darmkanaal beschrijft aan de hand van een set basisvergelijkingen. De parameters zijn alle verifieerbaar. Simpel gezegd komt het er in het model op neer dat het aantal bacteriën gemeten in de feces bepaald wordt door: groei, hechting en verblijftijd van de bacteriën in de maag, de dunne en dikke darm (figuur 1). Wanneer de ingenomen hoeveelheid bacteriën en het verloop van de hoeveelheid bacteriën in de feces bekend zijn, berekent het model de snelheden van groei, hechting en afgifte van de bacterie van de darmwand. In werkelijkheid is het

model complexer, maar de essentie is dat het doorzichtig is en er geen zogenaamde matsfactoren worden gebruikt. Deze aanpak heeft als voordeel dat de modelparameters echt iets zeggen over het gedrag van de bacteriën en zo de hoeveelheid informatie uit een experiment met proefdieren of -personen sterk wordt vergroot.

'Hergebruik' datasets

Met behulp van het ontwikkelde computermodel zijn diverse bestaande datasets van proeven met ratten en mensen 'hergebruikt' en opnieuw geanalyseerd. Deze datasets waren gegenereerd tijdens onderzoek naar het effect van onder andere calcium en antibiotica op infectie van het

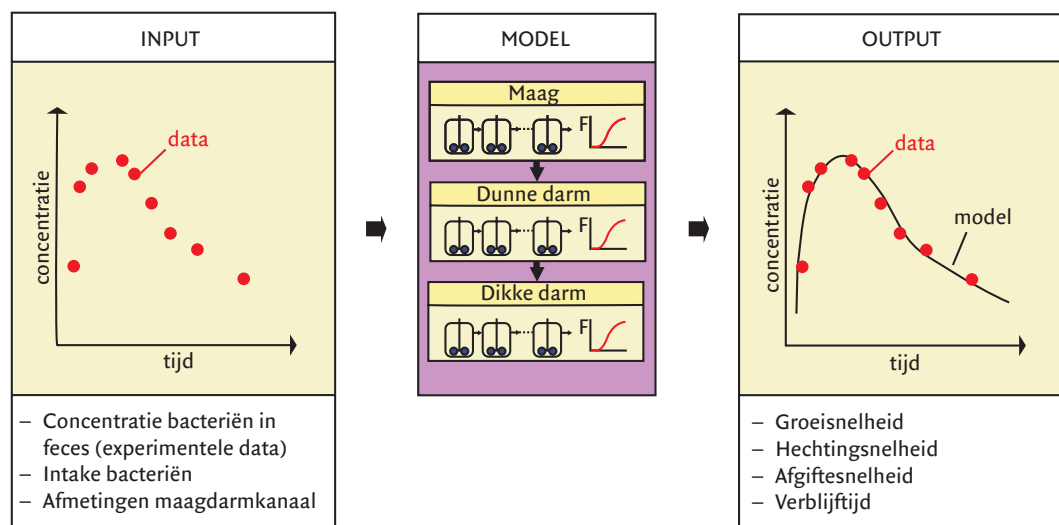


Fig. 1 Schematische weergave van de werking van het computermodel.

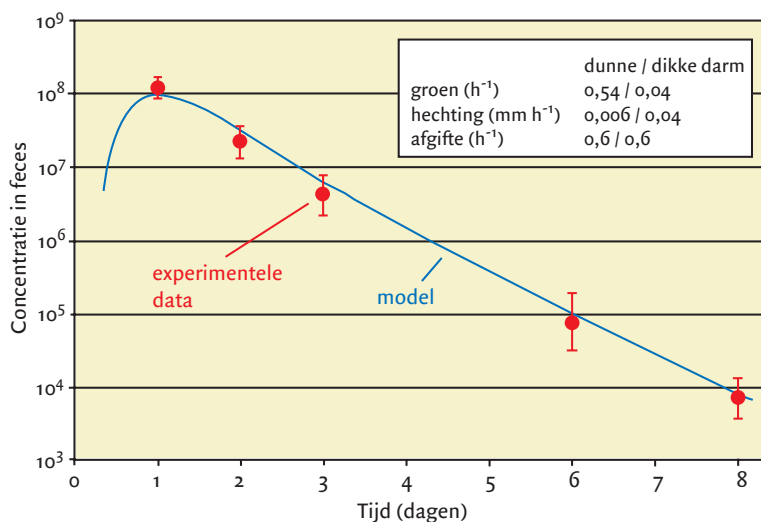


Fig. 2 Gemeten concentratie aan *E. coli* in de feces van een rat als functie van de tijd na orale inname, met berekende snelheden van groei, hechting en afgifte in het maagdarmkanaal.

maagdarmkanaal met *Salmonella* en *E. coli* bij de mens. Daar waar nodig zijn aanvullende experimenten uitgevoerd om de nieuwe conclusies uit de computeranalyse te staven. Figuur 2 laat een voorbeeld zien van de kwantitatieve gegevens die door het computermodel worden geleverd op basis van in vivo verkregen data. In de tabel zijn de resultaten van alle analyses samengevat en zijn van de betreffende bacteriën de berekende groei-, hechtings- en afgifteconstanten in de dunne en dikke darm weergegeven. De resultaten van de computeranalyse zoals weergegeven in de tabel worden hieronder in meer detail beschreven.

Calciumrijk dieet

Uit de computeranalyse blijkt dat het voedsel met toegevoegd calcium bij de rat resulteert in minder hechting en groei van *Salmonella* in de darm. Een gevolg is ook dat er minder *Salmonella*-bacteriën in de feces terechtkomen. Deze vondst is in lijn met eerdere onderzoeksresultaten [1]. Kwantificering geeft aan wat het daadwerkelijk effect is, namelijk 80% minder groei van *Salmonella* in de darm.

Antibiotica

Een behandeling met een antibioticum zoals clindamycine zorgt er voor dat de normale darmflora op de darmwand wordt afgedood. Dit heeft weer tot gevolg dat er in de darm meer 'ruimte' is voor infectieuze bacteriën als *Salmonella* en *E. coli*. De computeranalyse maakt dit fenomeen heel duidelijk zichtbaar. De hechting van *Salmonella* in de darm van een rat is na behandeling met clindamycine

een factor 100 hoger dan zonder behandeling.

Verschil *Salmonella* en *E. coli*

Uit de computeranalyse blijkt ook dat er in kwantitatieve zin weinig verschillen bestaan tussen het gedrag van *Salmonella* en *E. coli*. Een uitzondering is de groeisnelheid in de dikke darm, die is bij *E. coli* een factor zeven hoger. Daarbij moet worden opgemerkt dat tijdens de experimenten bleek dat het niveau van *Salmonella* in de feces uiteindelijk een factor tien hoger lag dan van *E. coli*. Dit kan worden verklaard door de hogere groeisnelheid van *Salmonella* in de dunne darm. Deze hogere groeisnelheid beïnvloedt kennelijk substantieel de uiteindelijke hoeveelheid bacteriën in de feces.

Verrassing

De hierboven genoemde resultaten bevestigen het beeld uit de literatuur, met dit verschil dat de effecten konden worden gekwantificeerd en dat er slechts een paar experimenten nodig waren. Dat de computeranalyse ook tot verrassende resultaten kan leiden, blijkt als de resultaten tussen mens en rat worden vergeleken. *E. coli* blijkt in de dikke darm van de mens nauwelijks te groeien terwijl in het proefdier wel degelijk groei optreedt (zie tabel). Dit resultaat van de computeranalyse was tegen de verwachting in en kon niet worden afgeleid uit een kwalitatieve beschouwing van de in vivo verkregen experimentele data. Het nieuwe inzicht is daarna getoetst door middel van extra experimenten. De resultaten van deze experimenten bevestigden de conclusie

van het computermodel. Dit is van groot belang voor de ontwikkeling van voedingsingrediënten die de gevolgen van infecties moeten tegengaan. Met de computeranalyse kan de data verkregen met diermodellen beter worden geïnterpreteerd, vooral voor wat betreft de werking in de mens.

Versnelling

Resumerend kan worden gesteld dat het computermodel zich uitstekend leent voor het analyseren van in vivo experimentele data. De hoeveelheid informatie uit een enkel experiment ligt veel hoger dan uit een louter kwalitatieve beschouwing van de in vivo-resultaten. Dit heeft als consequentie dat de werking van bijvoorbeeld voedings-supplementen veel sneller zichtbaar wordt en productinnovatie ook sneller kan verlopen.

Het model is tot nu toe vooral toegepast bij onderzoek waarbij voedselinfecties een rol spelen. Gezien de elegante opzet van het model (weinig modelparameters en eenvoudige wiskundige basisvergelijkingen) zal het ook kunnen worden toegepast bij nieuwe producten waarbij controlled release van een gezondheidbevorderend ingrediënt in het maagdarmkanaal van belang is. Wanneer het model wordt ingebed in de ontwikkeling van

De hoeveelheid informatie uit een enkel experiment ligt veel hoger

nieuwe voedingsmiddelen met functionele ingrediënten, zal ook het onderbouwen van de nodige gezondheidsclaims kunnen worden versneld.

Literatuur

1. Bovee-Oudenhoven, I.M.J., M.L.G. Wissink, J.T.M. Wouters, and R. Van der Meer. 1999. Dietary calcium phosphate stimulates intestinal lactobacilli and decreases the severity of a salmonella infection in rats. *J Nutr.* 129:607-12.
2. Bovee-Oudenhoven, I.M.J., M.L.G. Letting-Wissink, W. Van Doesburg, B.J.M. Witteman, and R. Van der Meer. 2003. Diarrhea caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* infection of humans is inhibited by dietary calcium. *Gastroenterology.* 125:469-76.

Peter de Jong, Marc Vissers, Roelof van der Meer en Ingeborg Bovee-Oudenhoven

Dr. P. de Jong, ir. M. Vissers, dr. R. van der Meer, dr. ir. I. Bovee-Oudenhoven, NIZO food research Ede, Wageningen Centre for Food Sciences (WCFS).