

Łódź, 17.03.2013

Prof. dr hab. Zdzisława Libudzisz
Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Politechnika Łódzka
90-924 Łódź, Wólczańska 171/173

Opinia dotycząca produktu o nazwie „ProBacti Dziecko”, dietetyczny środek spożywczy specjalnego przeznaczenia medycznego.

Opinia została przygotowana na prośbę Spółki Złota Farmacja Sp. z o.o. Producentem produktu jest Institut Rosell – Inc. 8480 ST-Laurent, Montreal, Kanada.

Podstawą przygotowania opinii są informacje otrzymane z Instytutu Rosell –Lallemand (Francja, Kanada) oraz publikacje w czasopismach naukowych, dokumentujące bezpieczeństwo stosowania szczepów, ich właściwości w badaniach *in vitro* oraz prozdrowotne efekty wywoływane przez znajdujące się w produkcie bakterie (przedstawione w wykazie literatury).

Według informacji producenta (Instytut Rosell) oraz dystrybutora (Złota Farmacja) produkt ProBacti Dziecko jest mieszaniną liofilizowanych probiotycznych bakterii *Lactobacillus* Rosell-52, *Lactobacillus* Rosell-215, *Lactococcus* Rosell-1058 oraz *Bifidobacterium* Rosell-71, pakowanych w saszetkach. Gęstość bakterii w saszetce wynosi 5 miliardów jtk po wyprodukowaniu i 1 miliard jtk po 24 miesiącach przechowywania w temperaturze nie przekraczającej 25°C. W saszetce znajduje się ponadto maltodekstryna w ilości 1.69 grama oraz fruktooligosacharydy (Raftilose® ORAFTI) w ilości 0.3 grama. Fruktooligosacharydy Raftilose® ORAFTI są prebiotycznym składnikiem produktu. Produkt o nazwie „ProBacti Dziecko” nosi więc status preparatu synbiotycznego. Produkt zawiera śladowe ilości białek (0.005 grama/saszetkę) i tłuszczu (0.005 grama/saszetkę). Łączna zawartość produktu w saszetce wynosi 2 gramy. Produkt należy przechowywać w temperaturze nie przekraczającej 25°C.

Produkt przeznaczony jest dla niemowląt i dzieci od 3 miesiąca życia.

Sposób użycia: 1 saszetka dziennie. Zawartość rozpuścić w zimnym lub letnim płynie (woda, mleko, preparat hipoalergiczny, ściągnięte mleko matki). Spożyć bezpośrednio po przygotowaniu.

Wskazania:

- zwiększone ryzyko reakcji alergicznych
- antybiotykoterapia
- wzmożone ryzyko powstawania i rozwoju biegunek
- wspomaganie odporności.

Produkt nie zawiera: laktozy, glutenu, białek mleka krowiego, sacharozy, drożdży oraz sztucznych barwników.

Zgodnie z informacją producenta produkt „ProBacti Dziecko” jest produktem przyjmowanym pod nadzorem lekarza, nie jest przeznaczony do stosowania pozajelitowego, nie może być stosowany jako substytut zróżnicowanej diety oraz nie należy przekraczać zalecanej do spożycia dawki.

Probiotyki, prebiotyki, synbiotyki.

Terminem **probiotyki** określamy preparaty lub produkty zawierające zdefiniowane, żywe drobnoustroje, w odpowiedniej ilości, wpływające na mikrobiotę określonego miejsca gospodarza (człowiek lub zwierzęta) i wywierające korzystny wpływ na jego zdrowie (FAO/WHO, 2001, 2002).

Prebiotyki są substancjami chemicznymi, z reguły są to specyficzne sacharydy, które stanowią substrat pokarmowy dla mikroorganizmów probiotycznych, aktywują ich rozwój, głównie w jelitach.

Synbiotyki określamy jako mieszaninę mikroorganizmów probiotycznych oraz substancji prebiotycznych, łączą więc korzystne działanie obu tych składników.

Charakterystyka bakterii preparatu ProBacti Dziecko.

W skład preparatu ProBacti Dziecko wchodzi 4 szczepy bakterii, tj. *Lactobacillus* Rosell-215, *Lactobacillus* Rosell-52, *Lactococcus* Rosell-1058 i *Bifidobacterium* Rosell-71.

Charakterystyka szczepu *Lactobacillus* Rosell- 215

Lactobacillus Rosell-215 został wyizolowany z produktu mlecznego i w oparciu o właściwości biochemiczne i budowę genetyczną (sekwencjonowanie 16S rDNA) zakwalifikowano go jako należący do gatunku *Lactobacillus casei*.

Szczep ten został zdeponowany pod numerem I-3429 w Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM) Instytut Pasteura, Francja. Szczep *Lactobacillus casei* Rosell-215 jest bardzo odporny na niskie pH soku żołądkowego; przeżywalność szczepu wynosi 95% po 30 minutach i 91% po 120 minutach przy pH=4 oraz 60% po 30 minutach i 56% po 120 minutach przy pH=3. Jest zdolny do wzrostu w obecności żółci, w stężeniu typowym dla dwunastnicy. Właściwości te gwarantują dotarcie bakterii w stanie aktywnym do dolnych odcinków przewodu pokarmowego. Jest zdolny do adherencji do komórek nabłonka jelitowego (linia HT-29), co jest istotne w eliminacji mikroorganizmów patogennych, stymulacji produkcji śluzu i modulacji systemu immunologicznego.

Lactobacillus casei Rosell-215 produkuje kwas mlekowy wyłącznie w formie izomerycznej L(+).

Analiza 170 znanych genów oporności na antybiotyki wykazała, że nie zawiera transmitowalnych genów oporności na antybiotyki. Nie produkuje toksyn, nie zawiera czynników wirulencji.

Gatunek *Lactobacillus casei* znajduje się na liście QPS (Qualified Presumption of Safety) opublikowanej przez EFSA (European Food Safety Authority). Wskazuje to na bezpieczeństwo stosowania szczepu.

Szczepy gatunku *Lactobacillus casei* są charakterystyczne dla mleka, fermentowanej żywności roślinnej jak również przewodu pokarmowego ludzi. Często są stosowane w probiotycznych produktach spożywczych i preparatach farmaceutycznych.

Charakterystyka szczepu *Lactobacillus* Rosell- 52

Lactobacillus Rosell-52 został wyizolowany z produktu mlecznego. Szczep *Lactobacillus* Rosell-52 został zidentyfikowany metodami biochemicznymi i genetycznymi (sekwencjonowanie 16S rDNA i hybrydyzacja DNA-DNA) jako należący do gatunku *Lactobacillus helveticus*. Szczep *Lactobacillus helveticus* Rosell-52 został zdeponowany pod numerem I-1722 w Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM) Instytut Pasteura, Francja.

Szczep *Lactobacillus helveticus* Rosell-52 jest odporny na niskie pH soku żołądkowego; przeżywalność szczepu wynosi 53% po 120 minutach przy pH=4 oraz 47% po 120 minutach przy pH=3. Jest zdolny do wzrostu w obecności żółci, w stężeniu typowym dla dwunastnicy. Właściwości te gwarantują dotarcie bakterii w stanie aktywnym do dolnych odcinków przewodu pokarmowego. Jest zdolny do adherencji do komórek nabłonka jelitowego (linia HT-29), co jest istotne w eliminacji mikroorganizmów patogennych, stymulacji produkcji śluzu i modulacji systemu immunologicznego. Produkuje kwas mlekowy w formie racemicznej DL.

Gatunek *Lactobacillus helveticus* na liście opublikowanej przez EFSA (European Food Safety Authority) jest proponowany jako noszący status QPS (Qualified Presumption of Safety). Analiza 170 znanych genów oporności na antybiotyki wykazała, że nie zawiera transmitowalnych genów oporności na antybiotyki. Nie produkuje toksyn, nie zawiera czynników wirulencji. Wskazuje to na bezpieczeństwo stosowania szczepu.

Bakterie gatunku *Lactobacillus helveticus* są stosowane w produkcji mleczarskiej.

Charakterystyka szczepu *Lactococcus* Rosell- 1058

Szczep *Lactococcus* Rosell-1058 został wyizolowany z ziaren kefirowych. Szczep *Lactococcus* Rosell-1058 został zidentyfikowany metodami biochemicznymi i genetycznymi jako należący do gatunku *Lactococcus lactis* podgatunek *lactis*. Został zdeponowany pod numerem CNCM I-4674 w Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM) Instytut Pasteura, Francja.

Oporny na niskie pH środowiska. Jego przeżywalność przy pH=3 po 30 minutach wynosi około 80%. Odporny na obecność żółci. Jest zdolny do średniej adherencji do komórek nabłonka jelitowego (linie HT-29). Wykazuje antagonizm w stosunku do takich bakterii patogennych jak *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* i *Clostridium difficile*. Wykazuje także, ale już słabszą, aktywność hamującą w stosunku do *Candida albicans*. *Lactococcus lactis* Rosell-1058

jest szczepem o wysokiej aktywności β -galaktozydazy (laktazy), co wskazuje na jego korzystną funkcję u osób z obniżoną tolerancją laktozy. Produkuje kwas mlekowy w formie izomerycznej L(+).

Gatunek *Lactococcus lactis* znajduje się na liście QPS (Qualified Presumption of Safety) opublikowanej przez EFSA (European Food Safety Authority). Ma historycznie udokumentowane bezpieczeństwo stosowania.

Bakterie gatunku *Lactococcus lactis* są szeroko stosowane produkcji mleczarskiej.

Charakterystyka szczepu *Bifidobacterium* Rosell-71

Szczep *Bifidobacterium* Rosell-71 został wyizolowany z przewodu pokarmowego dorosłego człowieka. Szczep *Bifidobacterium* Rosell-71 został zidentyfikowany metodami biochemicznymi i genetycznymi (sekwencjonowanie 16S rDNA i hybrydyzacja DNA-DNA) jako należący do gatunku *Bifidobacterium bifidum*. Szczep został zdeponowany pod numerem CNCM I-3426) w Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM) Instytut Pasteura, Francja.

Analiza 170 znanych genów oporności na antybiotyki wykazała, że *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 nie zawiera transmitowalnych genów oporności na antybiotyki. Nie produkuje toksyn, nie zawiera czynników wirulencji. Produkuje w równoważnych ilościach kwas mlekowy w formie izomerycznej L(+) i kwas octowy.

Szczep *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 jest odporny na niskie pH soku żołądkowego; przeżywalność szczepu wynosi 91% po 120 minutach przy pH=4 oraz 13% po 120 minutach przy pH=3. Jest zdolny do wzrostu w obecności żółci, w stężeniu typowym dla dwunastnicy. Właściwości te gwarantują dotarcie bakterii w stanie aktywnym do dolnych odcinków przewodu pokarmowego. Jest zdolny do adherencji do komórek nabłonka jelitowego (linia Caco-2), co jest istotne w eliminacji mikroorganizmów patogennych, hamuje częściowo adherencję serotypów *E.coli* 0157:H7 (linie komórkowe HT-29) oraz stymuluje produkcję śluzu w jelicie cienkim, a także wykazuje aktywność modulacji systemu immunologicznego.

Podsumowanie

Produkt o nazwie „ProBacti Dziecko” składa się z 4 szczepów bakterii z grupy bakterii mlekowych (LAB), tj. *Lactobacillus casei* Rosell-215 (numer depozytowy CNCM I-3429), *Lactobacillus helveticus* Rosell-52 (numer depozytowy CNCM I-1722), *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* Rosell—1058 (numer depozytowy CNCM I-4674) oraz *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 (numer depozytowy CNCM I-3426). Szczepy zostały wyizolowane z produktów mlecznych (*Lactobacillus casei* Rosell-215, *Lactobacillus helveticus* Rosell-52, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* Rosell1058) lub przewodu pokarmowego człowieka (*Bifidobacterium bifidum* Rosell-71).

Wszystkie szczepy zostały zidentyfikowane prawidłowo, zarówno metodami biochemicznymi jak i genetycznymi.

Wykazują wysoką odporność na kwasowość soku żołądkowego i żółć, co gwarantuje dotarcie tych bakterii w stanie żywym i aktywnym do dolnych odcinków przewodu pokarmowego.

Żaden ze szczepów wchodzących w skład preparatu ProBacti Dziecko” nie produkuje toksyn, nie zawiera czynników wirulencji. Analiza 170 znanych genów oporności na antybiotyki wykazała, że nie zawierają transmitowalnych genów oporności na antybiotyki.

W badaniach na szczurach udokumentowano brak efektów toksyczności i innych niepożądanych objawów.

Wszystkie szczepy znajdują się na liście gatunków QPS (Qualified Presumption of Safety) opublikowanej przez EFSA (European Food Safety Authority) jak również na liście gatunków o historycznie udokumentowanym bezpieczeństwie stosowania w produkcji żywności fermentowanej (lista przygotowana przez International Dairy Federation (IDF) we współpracy z European Food and Feed Cultures Association (EFFCA) w roku 2001 i uaktualnionym w roku 2012 (IDF Bulletin 377).

Obecne w produkcie „ProBacti Dziecko” fruktooligosacharydy (Raftilose® ORAFIT) oraz maltodekstryna nie stanowią zagrożenia dla zdrowia dzieci. Mogą natomiast, jako substancje o działaniu prebiotycznym, aktywować rozwój korzystnych bakterii w jelitach.

Stężenie bakterii probiotycznych w produkcie „ProBacti Dziecko” oraz sposób użycia są typowe dla liofilizowanych produktów probiotycznych znajdujących się w obrocie handlowym. Wskazuje to na bezpieczeństwo stosowania tych szczepów oraz produktu.

Literatura

1. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a Joint FAO/WHO working Group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, London Ontario, Canada, 2002
2. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina, 2001
3. FEEDAP Panel (European Food Safety Authority) “Technical guidance – update of the criteria in the assessment of bacterial resistance to antibiotics of human or veterinary importance, 2008
4. Opinion of the Scientific Committee on request from EFSA on the introduction of a Qualified Presumption of Safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA. The EFSA Journal, 2007, 587, 1-16.
5. Institute Rosell. Research and development internal results.
6. Messaoudi M., Lalonde R., Violle N., Javelot H., Desor D., Nejd A., Bisson J-F., Rougeot C., Pichelin M., Cazaubiel M., Cazaubiel J-M. Assessment of psychotropic-like properties of probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. Br. J. Nutr., 2011, 105, 755-764

7. Messaoudi M., Violle N., Bisson J-F., Desor D., Javelot H., Rougeot C. Beneficial psychological effects of probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175). *Gut Microbes*, 2011, 2, 1-6
8. Tlaskal P., Schramlova J., Kokesova A., Adamus D., Bubakova D., Kocnarova N., Kopecka K., Muckova M., Pacowska J., Sladkova E. Probiotics in the treatment of diarrheal disease of children. *NAFAS*, 2005, 3, 25-28
9. HyuanHyun Joo Song, Jin-Yong Kim, Sung-Ae Jung, Seong-Eun Kim, Hye-Sook Park, Yoolwon Jeong, Sung Pil Hong, Jae Hee Cheon, Won Ho Kim, Hyo-Jong Kim, Byong Duk Ye, Suk-Kyun Yang, Sang-Woo Kim, Sung-Jae Shin, Hyun-Soo Kim, Jae-Kyu Sung, Eun Young Kim. Effect of Probiotic *Lactobacillus* (Lacidofil® Cap) for the Prevention of Antibiotic-associated Diarrhea: A Prospective, Randomized, Double-blind, Multicenter Study. *J. Korean Med. Sci.*, 2010, 25, 1784-1791
10. Cazzola M., Nhan Pham-Thi, Kerihuel J-CH., Durand H., Bohbot S. Efficacy of a symbiotic supplementation in the prevention of common winter disease in children: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Ter. Adv. Res. Dis.*, 2010, 4, 259-270
11. <http://www.institut-rosell-lallemand.com>
12. Benes Z., Krtek V. A probiotic combination for IBS, A pilot clinical study. *NutraFoods*, 2006, 5, 20-27