

Problemy stosowania suplementów diety zawierających probiotyki

Problems with use of dietary supplements containing probiotics

ANNA LUTYŃSKA, EWA AUGUSTYNOWICZ, ALDONA WIATRZYK

Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny w Warszawie

Na polskim rynku, podobnie jak w innych krajach, obok produktów leczniczych dostępnych jest szereg suplementów diety zawierających probiotyki. Obie kategorie produktów niejednokrotnie posiadają podobne wskazania do stosowania, choć w przypadku suplementów diety nie zawsze uzasadnione. Obie kategorie produktów różnią się przebiegiem procesu wytwarzania, wymaganiami w zakresie rejestracji oraz kontroli jakości badań z rynku, co potęgują różnice wymagań legislacyjnych obowiązujących w różnych krajach. Analiza wskazań wielu suplementów diety zawierających probiotyki sugeruje, że powinny spełniać kryteria produktu leczniczego, co implikuje obowiązek rejestracji i dopuszczenia do obrotu na zasadach obowiązujących dla produktu leczniczego oraz obowiązek spełniania wymagań wytwarzania zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Wytwarzania. Badania stosowane w monitorowaniu jakości produktów leczniczych zawierających probiotyki z rynku mogą zostać zastosowane do potwierdzania deklarowanej jakości suplementów diety. Korelacja tych wyników z deklarowanymi wskazaniami, wobec tych, które zostały zaakceptowane dla ściśle zdefiniowanych szczepów gatunków probiotyków, może wpłynąć na ograniczenie liczby produktów niespełniających obowiązujących wymagań lub specyfikacji. W skład produktów probiotycznych powinny wchodzić ściśle scharakteryzowane szczepy drobnoustrojów o zdefiniowanej wrażliwości na antybiotyki oraz udowodnionej skuteczności klinicznej deklarowanych wskazań. Probiotyki w zależności od szczepu mogą być zalecane jedynie w udowodnionych klinicznie wskazaniach, przy czym nie jest możliwe ekstrapolowanie wyników badań na inne szczepy tego samego gatunku. Optymalizacja strategii kontroli poprawności kwalifikacji do odpowiedniego szlaku rejestracji oraz kontroli suplementów diety zawierających probiotyki może pozwolić na poprawę bezpieczeństwa ich stosowania.

Słowa kluczowe: suplementy diety, probiotyki, bezpieczeństwo

In Poland, as elsewhere, many dietary supplements, apart from medicinal products containing probiotics, are widely available on the market. Both categories, however, frequently declare similar indications, not always justified in case of dietary supplements. Both categories differ as to procedures of registration, manufacturing and quality measures and legislation. Many dietary supplements containing probiotics according to the indications should rather fulfill criteria of medicinal product, thus implying the requirement of medicinal registration and marketing authorization procedures and application of Good Manufacturing Practices for manufacturing as well. Tests routinely used for medicinal products market surveillance studies might be directly applied for confirmation of declared quality of probiotics-containing dietary supplements. Such monitoring together with the indication analyses regarding the strain(s) used might allow to reduce the number of products not meeting the accepted and declared specifications. As probiotics in regard of strain used might be used only in specific indications, the extrapolating of its accepted indications for the other strain of the same species is not a proper procedure. Optimization of the strategy of the classification of the product for registration and marketing authorization purposes might improve their safer use by the patients.

Key words: dietary supplements, probiotics, safety

© Probl Hig Epidemiol 2012, 93(3): 493-498

www.phie.pl

Nadesłano: 09.07.2012

Zakwalifikowano do druku: 11.08.2012

Adres do korespondencji / Address for correspondence

dr hab. Anna Lutyńska

Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

tel. 22 542 12 14, fax. 22 542 13 11, e-mail: alutynska@pzh.gov.pl

Wstęp

W Polsce, podobnie jak w innych krajach, w ostatnich latach obserwuje się ekspansję rynku probiotyków, która wynika z obszernie opisywanych ich prozdrowotnych właściwości włącznie ze stabilizacją jelitowej mikroflory w drodze współzawodnictwa z bakteriami patogennymi [1, 2, 3], obniżeniem nietolerancji laktozy [4], właściwościami zapobiega-

jącymi lub obniżającymi ostrość biegunek będących wynikiem intensywnej antybiotykoterapii [5], obniżaniem ryzyka rozwoju raka okrężnicy [6, 7], czy stymulacji układu immunologicznego [8]. Liczba dostępnych komercyjnie produktów probiotycznych stale się zwiększa. Większość z nich posiada status suplementów diety, a niewielki odsetek – produktów leczniczych. Oszacowanie skali rynku suplementów

diety zawierających szczepy probiotyczne w Polsce, podobnie jak w Europie, jest trudne. Szacuje się, że w Europie Zachodniej rynek tych produktów stanowi 10% dochodu płynącego ze sprzedaży żywności i suplementów diety, szacowanego na 1,4 mln € [9]. Wielkość dochodów ze sprzedaży produktów probiotycznych w Stanach Zjednoczonych szacowano na 764 mln dolarów w 2005 r. i na 1,1 mld dolarów w 2010 r. [10]. Szczególnie trudne wydaje się oszacowanie skali dostępności oraz sprzedaży suplementów diety zawierających probiotyki z udokumentowanym efektem prozdrowotnym w relacji do probiotyków, których wskazania stanowią nadużycie lub ewidentne zaniedbanie. Analizy jakościowe produktów probiotycznych wykonane w innych krajach wykazywały, że tożsamość oraz liczba drobnoustrojów w pojedynczej dawce nie zawsze odpowiadała informacjom deklarowanym na opakowaniu produktu [11, 12, 13]. Pomimo, że w Europie w sprzedaży dostępne są setki suplementów diety oznakowane jako produkty probiotyczne, wiele szczepów zastosowanych w nich jako substancje czynne nie posiada wskazań, które byłyby udokumentowane odpowiednimi badaniami skuteczności i bezpieczeństwa. Dodatkowo istnieją przesłanki, aby wątpić w trafność gatunkowej identyfikacji drobnoustrojów, liczbę drobnoustrojów deklarowaną w pojedynczej dawce lub samą zasadność jej wyboru [13, 14, 15]. Wątpliwości budzą także uwarunkowania uzasadniające skuteczność dawki dziennej lub wybór częstotliwości dawkowania. Inne problemy wiążą się z zasadnością stosowania wyższej niż zwykle stosowanej w produktach probiotycznych liczby drobnoustrojów czy też wielu szczepów probiotycznych stosowanych w pojedynczej dawce w kontekście skuteczności w deklarowanych wskazaniach. Uzasadnienie stosowania wielu szczepów probiotycznych w jednym produkcie powinno zostać potwierdzone badaniami wykluczającymi antagonizujące reakcje między nimi. Szczególnie niepokojące są dane odnośnie nieprawidłowej liczby drobnoustrojów w pojedynczej dawce – poniżej wymaganego minimum niezbędnego do wywołania jakiegokolwiek korzystnego efektu w przewodzie pokarmowym [13, 14]. Badania Tammerman'a i wsp. [16] wykazały, że wśród różnych 55 produktów probiotycznych dostępnych na rynku w Europie, aż 47% suplementów diety oraz 40% środków dietetycznych specjalnego przeznaczenia było nieprawidłowo oznakowanych w zakresie tożsamości szczepów probiotycznych. Niektóre z nich zawierały także bakterie gatunku *Enterococcus faecium*, których nie zadeklarowano w składzie produktu. Podobne nieprawidłowości wykazano dla produktów probiotycznych stosowanych u zwierząt [17], gdzie aż 32% deklarowanych szczepów było nieprawidłowo oznakowanych pod względem poprawności gatunkowej,

a tylko 27 produktów spełniało wymagania odnośnie deklarowanej liczby drobnoustrojów. Kolejnym problemem są wątpliwości odnośnie wyników badań potwierdzających brak ruchomych elementów genetycznych warunkujących oporność na antybiotyki stosowanych szczepów probiotycznych [18]. Oporność na antybiotyki pozwala bakteriom probiotycznym przeżyć podczas stosowania w czasie antybiotykoterapii ale jest ona pożądana, po wykluczeniu np. plazmidowego położenia determinantów oporności, szczególnie w przypadku tetracykliny, chloramfenikolu i erytromycyny [18, 19, 20, 21].

Cechy szczepów probiotycznych

Probiotyki – to żywe drobnoustroje, które podane ludziom w określonej liczbie zdolne są do wywołania korzystnego wpływu na zdrowie, co potwierdzone badaniami klinicznymi z randomizacją [22]. W skład produktów probiotycznych powinny wchodzić scharakteryzowane szczepy drobnoustrojów o udowodnionej skuteczności klinicznej i wrażliwości na antybiotyki, przy czym nie jest możliwe ekstrapolowanie wyników badań jednych szczepów na inne szczepy tego samego gatunku. W celu potwierdzenia właściwości probiotycznych danego drobnoustroju na etapie badań rozwojowych wymagane jest jego funkcjonalne scharakteryzowanie przez przeprowadzenie badań *in vitro* oraz *in vivo* u zwierząt. W celu potwierdzenia bezpieczeństwa stosowania wymagane jest przeprowadzenie osobnych badań *in vitro* lub *in vivo* u zwierząt oraz badań u ludzi I fazy klinicznej. Ocena bezpieczeństwa jest związana także z koniecznością przeprowadzenia na etapie badań rozwojowych dokładnych badań potwierdzających brak ich patogenności, zakaźności oraz zjadliwości, np. analiz właściwości toksycznych, potencjału namnażania i adherencji *in vivo*, właściwości hemolitycznych, itp., jak również charakterystyki ich aktywności metabolicznych (np. rozkład soli żółciowych). Wiele szczepów probiotycznych określanych jest jako GRAS (*Generally Recognised as Safe*) tj. „uznanych powszechnie za bezpieczne” ze względu na rzadkie odnotowywanie niepożądanych reakcji po ich podaniu. Dotychczas bardzo rzadko w piśmiennictwie opisywano działania niepożądane związane ze stosowaniem preparatów zawierających szczepy probiotyczne. Nie mniej jednak np. do 1999 r. opisano 89 przypadków bakteriemii wywołanych stosowaniem probiotyku zawierającym szczepy *Lactobacillus rhamnosus*, w tym 11 wywołanych przez uznany za GRAS szczep *L. rhamnosus* GG [23]. Wobec opisywania przypadków działań niepożądanych wywołanych przez szczepy probiotyczne również u osób z immunosupresją, wskazane byłoby aby badania bezpieczeństwa *in vivo* u zwierząt obejmowały także badania z użyciem zwierząt z upośledzoną odpornością

cią. Ocena profilu bezpieczeństwa na etapie badań klinicznych oraz po wprowadzeniu produktu na rynek powinna w sposób rzetelny zawierać analizę częstości i charakteru miejscowych i ogólnych działań niepożądanych. Bakterie w zależności od szczepu mogą być zalecane w konkretnych udowodnionych w badaniach klinicznych wskazaniach. Zalecenia te często obejmują stosowanie profilaktyczne, zapobiegawcze oraz immunostymulujące. Nie mniej jednak wyniki badań klinicznych, opublikowanych w piśmiennictwie, dotychczas potwierdziły zaledwie kilka z nich, jak: łagodzenie przebiegu i skrócenie czasu trwania niektórych biegunek bakteryjnych i wirusowych, łagodzenie lub zapobieganie biegunkom poantybiotykowych, normalizacja motoryki jelit u osób w podeszłym wieku [3, 24]. Natomiast analizy deklarowanych wskazań w zakresie korzystnego wpływu na zdrowie szczepów probiotycznych wykonane w 2011 r. w kontekście nowych regulacji prawnych obowiązujących w Europie nie przyniosły zatwierdzenia żadnego deklarowanego wskazania prozdrowotnego [25].

Probiotyki a prawo europejskie

W Europie stosunkowo długo nie istniały jednolite przepisy regulujące zakres wskazań oraz sposób oznakowania produktów probiotycznych [26]. Pomimo wprowadzenia wielu nowych aktów prawnych rejestracja probiotyków w krajach Unii Europejskiej nadal nie jest zharmonizowana. W różnych krajach dotychczas obowiązywały lub nadal obowiązują wytyczne Dyrektywy 178/2002/EC i 2000/13/WE lub wytyczne swoiste dla rejestracji w procedurach narodowych. Niektóre produkty probiotyczne zostały wprowadzone na rynek kilku krajów europejskich jako roślinne produkty lecznicze, choć obecnie obowiązująca Dyrektywa 2004/24/WE zaleca aby zostały zarejestrowane jako produkty lecznicze zgodnie z Dyrektywą 65/65/EC lub przekwalifikowane do kategorii suplementów diety. Obecnie w Unii Europejskiej żywienia i wskazania prozdrowotne podlegają wytycznym Dyrektywy 1924/2006, która pozwala na kategoryzację wskazań do 3 grup: prozdrowotnych (art. 12), obniżających ryzyko rozwoju choroby (art. 14) lub korzystnie wpływające na rozwój i zdrowie dzieci (art. 13 i 14). W przyszłości produkty probiotyczne będą mogły być rejestrowane jedynie w wskazaniach pozytywnie rozpatrzonych przez EFSA (*European Food Safety Authority*). Od 2007 r. deklarowane wskazania do stosowania powinny być swoiste dla konkretnego szczepu drobnoustroju [9]. Ustalenia legislacyjne z 2007 r. także przyniosły zapowiedź, że w 2010 r. dojdzie do klasyfikacji wskazań dla żywności tj. prozdrowotnych lub obniżających ryzyko zachorowania jako możliwe i niedopuszczalne w wyniku oceny przeprowadzanej w ramach projektu *Assesment of*

Scientific Support for Claims on Foods (PASSCLAIM). Spodziewano się, że tego rodzaju ocena mogłaby przynieść praktyczne i użyteczne rozwiązania w celu odpowiedniego przygotowywania rejestracyjnej dokumentacji potwierdzającej deklarowane wskazania prozdrowotne, a następnie przydatne do przeprowadzenia jej oceny w toku postępowania rejestracyjnego przez powołane organy upoważnione [27]. Analiza przedłożonych uzasadnień dla deklarowanych wskazań oraz dowodów naukowych nie potwierdziła deklarowanych korzyści zdrowotnych w przypadku 120 probiotyków i 19 prebiotyków w 2011 r. Z tych względów próba opracowania zakresu wymagań w celu naukowego udowodnienia zasadności wskazań nadal podlega szerokiej dyskusji, obejmując również aspekty ustalenia definicji stanu zdrowia i choroby. W tym aspekcie wyjątkowo trudnym zadaniem jest np. udowodnienie homeostazy w zakresie fizjologicznych parametrów zdrowej populacji, która jest celem dla wskazań w rejestrowanej żywności czy suplementach diety.

Harmonizacja przepisów w odniesieniu do probiotyków

Różnice w zasadach rejestracji produktów probiotycznych występują powszechnie w świecie. Obowiązujące przepisy prawne w Europie, Stanach Zjednoczonych, Kanadzie, Japonii, Chinach, Indiach nie są jednolite. Ich harmonizacja ułatwiłaby wytwórcom właściwe przygotowanie dokumentacji rejestracyjnej przez wprowadzenie jednolitych wymagań, a także wpłynęłaby na poprawę zaufania ewentualnych odbiorców tych produktów. Proces harmonizacji jest związany z przyjęciem jednolitych naukowych ram dla wymagań dotyczących badań rozwojowych, które ściśle uzasadniałyby akceptowalne wskazania zdrowotne dla produktów probiotycznych. Rozwiązania legislacyjne przyjęte i stosowane w Japonii mogą stanowić przykład optymalnych rozwiązań. W Japonii rynek probiotyków obejmuje leki oraz żywność, przy czym oznakowanie żywności jako FOSHU „*Foods for Specialised Health Use*”, czyli żywności do specjalnego prozdrowotnego przeznaczenia, warunkowane jest przedstawieniem wyników badań bezpieczeństwa i skuteczności [28]. Status FOSHU nadawany jest przez japońskiego Ministra Zdrowia, Opieki Społecznej i Pracy od 1991 r. Co wydaje się ciekawe, produkty, które zawierają szczep probiotyczny, identyczny z dotychczas zarejestrowanym w innych produktach, nie są zwolnione z procedury rejestracyjnej. Niektóre produkty z dobrze udokumentowanym profilem bezpieczeństwa stosowania mogą zostać zaklasyfikowane do kategorii produktów OTC (*Over the Counter Drugs*), czyli wywierających łagodny i korzystny wpływ na zdrowie lub żywności funkcjonalnej i sprzedawane bez

nadzoru farmaceuty [29]. Zarejestrowanie probiotyku ze wskazaniami, jak: biegunka, zaparcia, nieswoiste objawy ze strony przewodu pokarmowego podczas antybiotykoterapii – jest możliwe po przedstawieniu dodatkowego zakresu badań skuteczności, stabilności, oporności na kwasy żołądkowe, efektywności kolonizacji, stopnia adherencji do komórek układu pokarmowego i stopnia odzysku bakterii *in vivo*. Brak takich badań skutkuje niemożliwością deklarowania ww. wskazań. W Kanadzie nie sprzedawane są produkty probiotyczne, których wskazania dotyczą jedynie prozdrowotnych korzyści [30]. W Stanach Zjednoczonych produkty probiotyczne rejestrowane jako suplementy diety muszą spełniać normy FDA (*Food and Drug Administration*) dla produktów leczniczych roślinnych [10]. W Europie nie istnieją konkretne wytyczne dla zakresu badań w poszczególnych wskazaniach oraz nie wypracowano konsensusu odnośnie podstawowych definicji zdrowia i choroby, które mogłyby wpłynąć na powstanie konkretnych uwarunkowań dla badań wymaganych na poziomie rejestracji w celu wykazania korzystnego wpływu na zdrowie. Nie mniej jednak oczekuje się, że nowe regulacje prawne zostaną opracowane, a ich harmonizacja spowoduje poprawę procesu ich rejestracji, zwiększenie liczby rejestracji probiotyków, ale w postaci produktów leczniczych oraz zapewni lepsze bezpieczeństwo ich stosowania w całej populacji.

Status produktów zawierających probiotyki w Polsce

Problem bezpieczeństwa stosowania suplementów diety w świetle obowiązujących przepisów prawnych w Polsce nie jest zatem problemem odosobnionym. Suplementy diety zawierające probiotyki stanowią jedną z grup zaliczanych do produktów z tzw. „pogranicza” ponieważ nie mieszczą się w formalnej definicji produktu leczniczego [31]. Suplement diety zgodnie z ustawą z 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia [32] oraz Dyrektywą 2002/46/WE jest środkiem spożywczym, którego celem jest uzupełnienie normalnej diety, będącym skoncentrowanym źródłem witamin lub składników mineralnych, lub innych substancji, pojedynczych lub złożonych, wykazujących efekt odżywczy lub inny fizjologiczny. Znowelizowana Ustawa Prawo farmaceutyczne z 2007 r. [33] wskazuje, że przepisy Prawa farmaceutycznego stosują się do produktu spełniającego jednocześnie kryteria produktu leczniczego oraz kryteria innego produktu, w szczególności suplementu diety lub kosmetyku. Oznacza to, że dla takich produktów obowiązkowe są zasady rejestracji i dopuszczenia do obrotu oraz zasady Dobrej Praktyki Wytwarzania – przez co stają się one produktem leczniczym. Zgodnie z art. 9 znowelizowanej Ustawy [33] produkty będące w obrocie o du-

alistycznym charakterze miały pozostawać w obrocie na dotychczasowych zasadach do 2009 r., po czym powinny być zostać wycofane z obrotu. Ze względu na fakt, że produkty te zostały wprowadzone na mocy poprzednich przepisów, nie były w sensie prawnym produktami leczniczymi, przez co nie podlegały Państwowej Inspekcji Farmaceutycznej [31]. Produkty uznane za środki spożywcze specjalnego przeznaczenia pozostają nadal pod kontrolą Państwowej Inspekcji Sanitarnej na mocy Ustawy o bezpieczeństwie żywności i żywienia [32] oraz Ustawy o Państwowej Inspekcji Sanitarnej [34]. Odróżnienie suplementów diety od produktów leczniczych wg znowelizowanej ustawy może nastąpić w trakcie postępowania wyjaśniającego na wniosek GIS, czy produkt określony jako środek spożywczy nie ma właściwości produktu leczniczego w trakcie którego producent może zostać zobowiązany do przedłożenia opinii klasyfikującej Urzędu Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, że nie spełnia wymagań dla produktu leczniczego opisanych w przepisach Prawa farmaceutycznego. W opinii klasyfikującej analizowany jest skład jakościowy i ilościowy substancji aktywnych i pomocniczych, aktywność farmakologiczna, metaboliczna lub immunologiczna w odniesieniu do działania skuteczności, postać, droga podania, dawkowanie, działania niepożądane i interakcje z innymi lekami i żywnością w oparciu o dostępne źródła, tj. piśmiennictwo, dokumenty Europejskiej Agencji Leków EMA (*European Medical Agency*), Farmakopei Europejskiej, Światowej Organizacji Zdrowia. Ustalenie prawdopodobieństwa aktywności terapeutycznej wskazuje, że istnieje możliwość oznaczenia aktywności, wówczas produkt powinien zostać uznany za leczniczy. Nowelizacja Ustawy Prawo farmaceutyczne z 30 marca 2007 r. miała na celu dostosowanie do zmian wprowadzonych w przepisach UE w oparciu o Dyrektywy 2001/83/WE, 2004/24/WE, 2004/27/WE i 2004/28/WE. Brak harmonizacji przepisów powoduje, że produkt może być klasyfikowany w jednym z krajów jako suplement w innym jako produkt leczniczy. Oczekuje się, że w procesie harmonizacji przepisów oraz wymagań dotyczącym oceny produktów istotną rolę odegra Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności EFSA, organ doradczy powołany do wspierania prawodawstwa i polityki Unii Europejskiej związanych z bezpieczeństwem żywności.

Monitorowanie jakości suplementów diety zawierających probiotyki

Wobec zawirowań legislacyjnych szczególnie ważne wydaje się opracowanie i praktyczne wdrożenie algorytmu badań jakościowych suplementów diety, szczególnie w zakresie identyfikacji szczepów probiotyki stosowanych jako substancje czynne. Może być to

ułatwione przez wykorzystanie procedur badawczych stosowanych do badań produktów leczniczych zawierających bakterie kwasu mlekowego. Procedury te w swoim zakresie obejmują nie tylko fenotypowe ale i genotypowe metody badań tożsamości szczepów probiotycznych. Powstały one w oparciu o identyfikację markerów genetycznych bakterii kwasu mlekowego oraz analizy zmienności genetycznej szczepów poszczególnych gatunków pozwalając na gatunkowo-swoistą, a w pewnych przypadkach szczepowo-swoistą identyfikację. Zastosowanie tych procedur posiada także swoje uzasadnienie w postępie naukowym odnośnie genetycznej charakteryzacji bakterii kwasu mlekowego, wpływającym na nomenklaturę gatunków. Np. w obrębie bakterii rodzaju *Lactobacillus*, w 1984 r. wyróżniono 44 gatunki i 11 podgatunków [35], w 2003 r. wyróżniono 88 gatunków i 15 podgatunków, a w 2007 r. [35] aż 135 gatunków i 27 podgatunków (www.bacterio.cict.fr). Zasady identyfikacji taksonomicznej drobnoustrojów probiotycznych podlegają ciągłemu udoskonalaniu ze względu na postęp wiedzy w tej dziedzinie implikując konieczność wdrożenia metod molekularnych do gatunkowo lub szczepowo-swoistego jednoznaczego ich oznaczenia [36]. Zastosowanie metod biologii molekularnej i technik informatycznych w celu rzetelnego potwierdzenia

tożsamości na poziomie co najmniej gatunku jest postulowane jako niezbędny element poprawy kontroli bezpieczeństwa tych produktów [30]. Wdrożenie nowoczesnych i swoistych testów molekularnych do identyfikacji bakterii stosowanych jako substancje czynne produktów leczniczych wynika także z mało praktycznych i niejednokrotnie niedostatecznie czułych testów identyfikacji stosowanych dotychczas. Standardowe oznaczenia, tak jak w przypadku produktów leczniczych, obejmują zwalidowane i akredytowane analizy liczby drobnoustrojów/dawkę, wrażliwości na antybiotyki oraz jałowości. Należy oczekiwać, że w przyszłości zostaną przeprowadzone analizy charakteru oporności na tetracyklinę, chloramfenikol i erytromycynę celem określenia ryzyka przeniesienia genów oporności zlokalizowanych na ruchomych elementach genetycznych na florę komensali. Z kolei, badania potencjału transmisji plazmidowo kodowanej oporności na antybiotyki przez określenie genotypu i wrażliwości na antybiotyki po usunięciu plazmidów ze szczepów ocenionych jako wysoko-oporne pozwolą na wycofanie z rynku produktów obarczonych niskim bezpieczeństwem stosowania. Wciąż nierozwiązany problemem pozostaje standaryzacja bezpieczeństwa probiotyków w zakresie monitorowania działań niepożądanych [37].

Piśmiennictwo / References

1. Gibson GR, Saveedra JM, MacFarlane S, et al. Probiotics and intestinal infections. [in:] Probiotics 2: Applications and Practical Aspects. Fuller R (ed). Chapman & Hall, NY 1997: 10-39.
2. Marcinkiewicz J, Ciszek M, Bobek M, et al. Differential inflammatory mediator response in vitro from murine macrophages to lactobacilli and pathogenic intestinal bacteria. *Int J Exp Pathol* 2007, 88(3): 155-64.
3. Szymański H, Chmielarczyk A, Strus M, et al. Colonisation of the gastrointestinal tract by probiotic *L. rhamnosus* strains in acute diarrhoea in children. *Dig Liver Dis* 2006, 38(2): S274-6.
4. De Vrese M, Stegelmann A, Richter B, et al. Probiotics – compensation for lactase insufficiency. *Am J Clin Nutr* 2001, 73: S424-S429.
5. Pochapin M. The effect of probiotics on *Clostridium difficile* diarrhea. *Am J Gastroenterol* 2000, 95: S11-13.
6. Wollowski I, Rechkemmer G, Pool-Zobel BL. Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. *Am J Clin Nutr* 2001, 73: S451-5.
7. Strus M, Gosiewski T, Fyderek K, et al. A role of hydrogen peroxide producing commensal bacteria present in colon of adolescents with inflammatory bowel disease in perpetuation of the inflammatory process. *J Physiol Pharmacol* 2009, 60(6): 49-54.
8. Isolauri E, Sütas Y, Kankaanpää P, et al. Probiotics: effects of immunity. *Am J Clin Nutr* 2001, 73: S444-50.
9. Saxelin M. Probiotic Formulations and Applications, the Current Probiotics Market, and Changes in the Marketplace: A European Perspective. *Clin Infect Dis* 2008, 46: S76-9.
10. Hibberd PL, Davidson L. Probiotic Foods and Drugs: Impact of US Regulatory Status on Design of Clinical Trials. *Clin Infect Dis* 2008, 46: S137-40.
11. Reuter G. Present and future of probiotics in Germany and in Central Europe. *Bioscience and Microflora* 1997, 16: 43-51.
12. Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, et al. Overview of gut flora and probiotics. *Internat J Food Microbiol* 1998, 41: 85-101.
13. Hamilton-Miller JMT, Shah S, Winkler JT, et al. Public health issues arising from microbiological and labeling quality of foods and supplements containing probiotic microorganisms. *Public Health Nutr* 1999, 2: 223-9.
14. Hoa NT, Baccigalupi L, Huxham A, et al. Characterization of *Bacillus* species used for oral bacteriotherapy and bacterioprophyllaxis of gastrointestinal disorders. *Appl Environ Microbiol* 2000, 66, 5241-7.
15. Saxelin M, Saxelin M, Lässig A, et al. Persistence of probiotic strains in the gastrointestinal tract when administered as capsules, yoghurt, or cheese. *Int J Food Microbiol* 2010, 15(144): 293-300.
16. Tammerman R, Pot B, Hyus G, et al. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *Int J Food Microbiol* 2003, 81: 1-10.
17. Weese JS, Martin H. Assessment of commercial probiotic bacterial contents and label accuracy. *Can Vet J* 2011, 52: 43-6.
18. Curragh HJ, Collins MA. High-levels of spontaneous drug-resistance in *Lactobacillus*. *J Applied Bacteriol* 1992, 73: 31-6.

19. Adams MR, Marteau P. On the safety of lactic acid bacteria from food. *International J Food Microbiol* 1995, 27: 263-4.
20. Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, et al. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *J Food Prot* 1998, 61: 1636-43.
21. Salminen S, Von Wright A, Morelli L, et al. Demonstration of safety of probiotics – a review. *International J Food Microbiol* 1998, 44: 93-106.
22. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002.
23. Kochan P. Bezpieczeństwo probiotyków w zastosowaniach klinicznych. *Post Microbiol* 2008, 47(3): 435-9.
24. Heczko PB, Strus M, Kochan P. Critical evaluation of probiotic activity of lactic acid bacteria and their effects. *J Physiol Pharmacol* 2006, 57(9): 5-12.
25. Sanders ME, Heimbach JT, Pot B, et al. Health claims substantiation for probiotic and prebiotic products. *Gut Microbes* 2011, 2(3): 127-133.
26. Przyrembel H. Consideration of possible legislation within existing regulatory frameworks. *Am J Clin Nutr* 2001, 73: S471-5.
27. Asp NG, Bryngelsson S. Health Claims in Europe: New Legislation and PASSCLAIM for Substantiation. *J Nutr* 2008, 138: 12105-55.
28. Obama H, Ikeda H, Moriyama H. Health foods and foods with health claims in Japan. *Toxicology* 2006, 221: 95-111.
29. Amagase H. Current Marketplace for Probiotics: A Japanese Perspective. *Clin Infect Dis* 2008, 46: S73-5.
30. Farnworth ER. The Evidence to Support Health Claims for Probiotics. *J Nutr* 2008, 138: 12505-45.
31. Wieniawski W. Problemy kontroli nad produktami „pogranicza” (suplementy diety, dermokosmetyki, antyseptyki) IV Forum Farmacji Przemysłowej, Kościelisko 2008. *Kongresy i Konferencje* 2009, 65(4): 259-68.
32. Ustawa z 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia. *Dz.U.* nr 171, poz. 1225, z późn. zm.
33. Ustawa z 30 marca 2007 r. o zmianie ustawy Prawo farmaceutyczne oraz o zmianie niektórych innych ustaw. *Dz.U.* nr 75, poz. 492.
34. Ustawa z 14 marca 1985 r. o Państwowej Inspekcji Sanitarnej. *Dz.U.* 2006, nr 122, poz. 851, z późn. zm.
35. Kandler O, Weiss N. Genus *Lactobacillus*. [w:] *Bergey's Manual of Systematics Bacteriology* vol. 2. Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG, wyd. Williams and Wilkins, Baltimore MD, USA, 1986: 1209-34.
36. Kochan P, Chmielarczyk A, Szymaniak L, et al. *Lactobacillus rhamnosus* administration causes sepsis in a cardiosurgical patient – is the time write to revise probiotic safety guidelines? *Clin Microbiol Infect* 2011, 17(10): 1589-92.