

Opinia Instytutu Jakości Jagiellońskiego Centrum Innowacji dla produktów marki Sanprobi IBS i Sanprobi Stress

Opracowanie: Zespół Instytutu Jakości JCI pod kierownictwem dr Łukasza Kutrzeby

Niniejsza opinia dotyczy produktów marki Sanprobi IBS i Sanprobi Stress i została sporządzona na podstawie analizy wyników badań przeprowadzonych na tych produktach przez Instytut Jakości JCI oraz ma podstawie dokumentacji dostarczonej przez producenta.



Przedmiot opinii

Przedmiotem niniejszej opinii są suplementy diety marki Sanprobi IBS i Sanprobi Stress w kapsułkach. W celu zaopiniowania produktów, Instytut Jakości Jagiellońskiego Centrum Innowacji zaprojektował i wykonał szereg analiz mających na celu ocenę jakości tych produktów. Część wymaganych informacji została dostarczona przez producenta tj. Sanprobi Sp. z o.o. Sp. k oraz zweryfikowana przez Instytut Jakości JCI.

Konsumenci przyjmujący probiotyki powinni być świadomi, że żaden produkt o statusie suplementu diety, w tym Sanprobi IBS i Sanprobi Stress, nie wykazują działania leczniczego ani zapobiegawczego. Bezpośrednim efektem stosowania Sanprobi IBS/Sanprobi Stress może być tylko i wyłącznie wspieranie mikrobioty jelitowej. Przyjmowanie probiotyków ma więc korzystny wpływ na ludzki organizm, jednak nie może zastąpić leczenia – może je jednak uzupełniać. Badania jakości wykonane na zlecenie Instytutu Jakości JCI mają na celu przetestowanie własności probiotycznych produktu Sanprobi IBS i Sanprobi Stress.

Oceniane produkty

Sanprobi IBS to suplement diety zawierający żywe bakterie probiotyczne ze szczepu *Lactobacillus plantarum* 299v (zgodnie z systematyką obowiązującą od 2020 roku obowiązująca nazwa gatunkowa to *Lactiplantibacillus plantarum*).^[1] Jego przeznaczeniem jest uzupełnienie codziennej diety o bakterie probiotyczne L. plantarum 299v - składnik mikrobioty jelitowej.

Sanprobi Stress również jest suplementem diety i zawiera kompozycję dwóch szczepów bakterii *Lactobacillus helveticus* Rosell - 52® oraz *Bifidobacterium longum* Rosell - 175®. Jest on przeznaczony do uzupełniania codziennej diety o bakterie probiotyczne *Lactobacillus helveticus* Rosell - 52 i *Bifidobacterium longum* Rosell - 175 - składniki mikrobioty jelitowej.^[2]

Według obowiązującego prawa, suplement diety jest „środkiem spożywczym, którego celem jest uzupełnienie normalnej diety, będący skoncentrowanym źródłem witamin lub składników mineralnych lub innych substancji wykazujących efekt odżywczy lub inny fizjologiczny, (...) wprowadzany do obrotu w formie umożliwiającej dawkowanie, w postaci: kapsułek, (...) z wyłączeniem produktów posiadających właściwości produktu leczniczego w rozumieniu przepisów prawa farmaceutycznego.”^[3]

Suplementy diety mogą zawierać w swoim składzie witaminy i składniki mineralne, które naturalnie występują w żywności i spożywane są jako jej część oraz inne substancje wykazujące efekt odżywczy lub inny efekt fizjologiczny. Bakterie wykorzystywane przez producenta omawianych preparatów spełniają powyższe warunki.

Składy obu produktów wygląda następująco:

Składniki pomocnicze – takie same dla obu suplementów:

- skrobia ziemniaczana (nośnik)
- nośnik – sole magnezowe kwasów tłuszczowych
- otoczka kapsułki: hydroksypropylometyloceluloza

Bakterie probiotyczne Sanprobi IBS:

- *Lactobacillus plantarum* 299v w ilości 10^{10} CFU na kapsułkę

Bakterie probiotyczne Sanprobi Stress:

- *Lactobacillus helveticus* Rosell® - 52
- *Bifidobacterium longum* Rosell® - 175

Bakterie probiotyczne wchodzące w skład preparatu Sanprobi Stress zawierają soję i produkty pochodne oraz mleko i produkty pochodne (łącznie z laktozą). Całkowita liczba bakterii probiotycznych w jednej kapsułce Sanprobi Stress wynosi (w sumie) 3×10^9 CFU.

Zastosowane substancje pomocnicze są powszechnie wykorzystywane w produkcji leków i suplementów diety.

Szczep *Lactobacillus plantarum* 299v

Najważniejszym składnikiem Sanprobi IBS jest wspomniany już szczep bakterii *L. plantarum* 299v. Występuje on w ludzkim nabłonku wyściełającym niemal cały przewód pokarmowy. Jest to gram-dodatnia pałeczka kwasu mlekowego zdolna do przeprowadzenia fermentacji wielu różnych węglowodanów. Jest oporna na działanie soli kwasów żółciowych lub soli żółci i niskiego pH, w związku z tym potrafi przeżyć pasaż przez żołądek. Gatunek *L. plantarum* występuje w dużych ilościach w spontanicznie sfermentowanej żywności (poddanej fermentacji mlekowej). Bakterie te wytwarzają krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, które obniżają pH wewnątrz jelit, co z kolei tworzy korzystne warunki dla rozwoju innych, pożądanych bakterii. Jeden z tych kwasów – kwas propionowy – poprawia metabolizm tłuszczów oraz łagodzi procesy zapalne. Badania przeprowadzone na szczepie *L. plantarum* 299v dowodzą, że przyjmowanie tych bakterii zwiększa różnorodność mikroflory jelitowej, co może zapobiegać nadmiernemu wzrostowi bakterii patogennych. Szczep ten posiada również inne właściwości prozdrowotne.^[4]

- W badaniach na szczurach wykazano, że *L. plantarum* 299v poprawia kondycję błony śluzowej układu pokarmowego, szczególnie jej funkcję barierową zmniejszając ryzyko przedostania się innych bakterii jelitowych poza obręb jelita (co może wydarzyć się gdy układ odpornościowy jest znacząco osłabiony).
- Badano również wpływ *L. plantarum* 299v na chorobę niedokrwienną serca. Badania były przeprowadzane na nielicznych grupach pacjentów, ale wstępne wyniki pozwalają sądzić, że ten szczep zmniejsza poziom cholesterolu i LDL we krwi, zmniejsza również poziom cytokin prozapalnych w surowicy a przez to może łagodzić stany zapalne. *L. plantarum* 299v może więc potencjalnie obniżać ryzyko wystąpienia choroby niedokrwiennej serca.
- Kilka badań sugeruje, że przyjmowanie probiotyków zawierających ten szczep łagodzi objawy zespołu jelita drażliwego (ang. irritable bowel syndrome, IBS) i nieswoistego zapalenia jelit.
- Przyjmowanie tego szczepu podczas antybiotykoterapii łagodzi dolegliwości związane z biegunkami.
- Przyjmowanie doustne pałeczek kwasu mlekowego prowadzi do zmian w składzie flory bakteryjnej jelit. Przede wszystkim spada ilość mogących wywoływać zakażenia oportunistyczne enterobakterii oraz bakterii z rodzaju *Clostridium*.
- *L. plantarum* 299v powoduje zmniejszenie liczby wzdęć, co ma związek z konkurowaniem tych bakterii z bakteriami produkującymi gazy.

***Lactobacillus helveticus* Rosell® - 52 i *Bifidobacterium longum* Rosell® - 175**

Te dwa szczepy probiotyczne są głównym składnikiem suplementu Sanprobi Stress.

Bifidobacterium longum jest mikroorganizmem biorącym udział w utrzymaniu prawidłowego stanu przewodu pokarmowego człowieka i stanowi naturalny składnik ludzkiej mikroflory jelitowej. Jego obecność wiąże się

z korzyściami zdrowotnymi, ponieważ hamuje wzrost szkodliwych bakterii, stymuluje układ odpornościowy i normalizuje tranzyt żołądkowo-jelitowy. Szczep *B. longum* Rosell - 175 jest pochodzenia ludzkiego i został wyselekcjonowany ze względu na swoje właściwości probiotyczne.^[14]

Lactobacillus helveticus może być izolowany z kwaśnego mleka i serów, szczególnie z serów Emmental i Gruyère. Jest to bakteria kwasu mlekowego stosowana od wieków w żywności fermentowanej, dobrze przebadana i uważana za bezpieczną dla człowieka. Szczep *Lactobacillus helveticus* Rosell® - 52 jest ceniony za właściwości probiotyczne. Bakterie tego szczepu potrafią hamować wzrost mikroorganizmów patogennych, uniemożliwiać ich adhezję do nabłonka jelit i regulować działanie układu odpornościowego.^[15]

Mieszanka obu szczepów wykazuje działanie łagodzące objawy stresu i złego samopoczucia. Związane jest to z wpływem mikroflory jelitowej na oś jelitowo-mózgową. Należy jednak zauważyć, że badania nad tzw. psychobiotykami są jeszcze nieliczne, duża część obiecujących wyników została uzyskana w badaniach na zwierzętach lub w niewielkich badaniach klinicznych na ludziach.^[16]

Wg. EFSA produkty zawierające żywe bakterie z tych szczepów są skuteczne w zwalczaniu patogenów układu pokarmowego, szczególnie tych wywołujących biegunki.^[17]

Badania i analizy laboratoryjne

Produkty Sanprobi IBS i Sanprobi Stress zostały poddane analizom laboratoryjnym pod kątem zgodności deklaracji producenta co do zawartości jakościowej i ilościowej mikroorganizmów probiotycznych w kapsułce oraz parametrów jakościowych, które powinny charakteryzować szczepy bakterii probiotycznych.

W ramach podjętych przez Instytut Jakości JCI analiz, produkty przebadano pod kątem:

- oznaczenia ilościowego drobnoustrojów wchodzących w skład suplementu diety
- potwierdzenia przynależności gatunkowej bakterii probiotycznych techniką MALDI-TOF
- antagonizmu zastosowanego szczepu względem często występujących bakterii patogennych
- przeżywalności bakterii probiotycznych w symulowanym środowisku układu pokarmowego *in vitro*
- czystości mikrobiologicznej

Badania zaprojektowano w oparciu o przegląd literatury naukowej, wytyczne FAO/WHO oraz IPA. Wyniki tych badań mogą służyć wstępnej ocenie jakości produktu probiotycznego i skupiają się na weryfikacji własności probiotycznych suplementu w warunkach *in vitro*.

Badania wykonano dla produktów z początku i końca daty ważności, kupionych na wolnym rynku.

Dodatkowo, producent dostarczył do wglądu swoje wyniki następujących badań:

- badanie antybiotykooporności
- oznaczenie gatunkowe szczepów probiotycznych metodami biologii molekularnej
- oznaczenie genów oporności na antybiotyki na ruchomych elementach genomu

Wyniki dostarczone przez producenta zostały uznane przez zespół JCI za wiarygodne i są omówione w dalszej części niniejszej Opinii.

Wyniki badań Sanprobi IBS

OZNACZENIE ILOŚCIOWE DROBNOUSTROJÓW WCHODZĄCYCH W SKŁAD SUPLEMENTU DIETY SANPROBI IBS – KAPSUŁKI

W celu uzyskania efektu probiotycznego niezbędne jest zastosowanie odpowiedniej liczby mikroorganizmów w pojedynczej dawce, którą podaje się jako minimalną liczbę jednostek tworzących kolonie (ang. colonies forming units, CFU).^[5] Dawki stosowane w badaniach interwencyjnych (w celach leczniczych lub profilaktycznych) są bardzo zróżnicowane. Uważa się jednak, że minimalna dawka skuteczna wynosi od 10^6 - 10^9 do 10^8 - 10^{10} CFU/dziennie.^[6,7] Badania wykazały, że codzienne wzbogacenie diety w 10^9 - 10^{12} komórek bakterii probiotycznych już po kilku tygodniach stosowania może spowodować wzrost liczby naturalnych komórek bójczych w surowicy krwi, zwiększyć aktywność makrofagów i limfocytów.^[8] Z tych powodów Instytut Jakości przyjął, że dobry probiotyk powinien zawierać minimum 10^6 żywych bakterii w pojedynczej dawce. W przypadku Sanprobi IBS za pojedynczą dawkę uznano jedną kapsułkę, jako że producent zaleca przyjmowanie 1-2 kapsułek dziennie dorosłym i dzieciom powyżej 12 roku życia, a dzieciom od 3 do 12 roku – jedną kapsułkę dziennie. Ponadto probiotyk powinien zawierać dokładnie tyle żywych mikroorganizmów, ile zostało zadeklarowane przez producenta.^[9]

Bakterie probiotyczne uzyskane po namnożeniu z suplementu diety Sanprobi IBS poddano analizie ilościowej metodą dziesiętnych rozcieńczeń Kocha. Metoda badawcza była zgodna z tą stosowaną przez producenta. Uzyskane w badaniu wyniki były zgodne z deklaracją producenta na opakowaniu – uzyskano wartości rzędu 10^{10} CFU. Preparat Sanprobi IBS spełnił więc równocześnie przyjęte przez Instytut Jakości JCI wymagania dotyczące liczby żywych bakterii w preparacie probiotycznym.

IDENTYFIKACJA GATUNKÓW ZAWARTYCH W PREPARACIE I PORÓWNANIE Z TYM, CO ZDEKLAROWANE NA ETYKIECIE PRODUKTU

W preparacie Sanprobi IBS wykryto tylko jeden gatunek bakterii – *L. plantarum*. Identyfikacji dokonano metodą MALDI-TOF. Jest to gatunek deklarowany przez producenta, badanie potwierdza więc zgodność z deklaracją na opakowaniu i świadczy o jakości produktu. Z punktu widzenia konsumenta istotna jest wiedza o tym, co dokładnie znajduje się w przyjmowanych środkach prozdrowotnych, dlatego skład podany na opakowaniu musi zgadzać się ze stanem faktycznym.

Należy zaznaczyć i pochwalić to, że producent określił na opakowaniu wykorzystane bakterie z dokładnością wymaganą przez IPA (*International Probiotics Association* – organizacja ta zaleca podawanie gatunku, rodzaju i nazwy wykorzystywanego szczepu bakterii probiotycznych) oraz podał źródło, z którego te bakterie pochodzą – szwedzką firmę Probi. *L. plantarum* 299v wykazuje wiele korzystnych dla człowieka cech, dlatego ważne jest, by mieć pewność, że to właśnie ten szczep znajduje się w przyjmowanym probiotyku.

Producent potwierdził także we własnym zakresie metodami biologii molekularnej, że używany szczep bakterii to *Lactiplantibacillus plantarum* 299v.

CZYSTOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA PRODUKTU

Na czystość mikrobiologiczną składa się kilka wartości:

- Ogólna liczba drobnoustrojów
- Liczba grzybów
- Liczba bakterii tolerujących żółć
- Obecność *Escherichia coli*
- Obecność *Pseudomonas aeruginosa*
- Obecność *Salmonella*
- Obecność *Staphylococcus aureus*

Najwyższe dopuszczalne wartości dla każdego z powyższych warunków są określone w odpowiednich wytycznych, np. Quality of Natural Health Products Guide - Natural and Non-prescription Health Products Directorate (Appendix 4: General finished product specifications for products containing live microorganisms).^[10]

Sanprobi IBS spełnia wszystkie wymagania stawiane przez powyższą normę.

ANTAGONIZM WOBEC BAKTERII PATOGENNYCH (*SALMONELLA TYPHIMURIUM*, *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*, *CANDIDA ALBICANS*, *BACILLUS CEREUS*) MIERZONY STOPNIEM ZAHAMOWANIA ICH WZROSTU

Przeprowadzono badanie właściwości antagonistycznych bakterii uzyskanych z probiotyku Sanprobi IBS względem drobnoustrojów wskaźnikowych: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Clostridium difficile* ATCC 43593, *Candida albicans* ATCC 10231 i *Bacillus cereus* ATCC 10876. Są to mikroorganizmy odpowiedzialne za wiele przypadków zatruc pokarmowych i biegunki, dlatego potencjalne działanie antagonistyczne bakterii probiotycznych jest korzystne z punktu widzenia konsumenta. Szczepy probiotyczne wykazujące antagonizm wobec bakterii patogennych mogą hamować ich rozwój zapobiegając powodowanym przez nie chorobom lub łagodząc objawy.

Bakterie *Lactobacillus plantarum* wyizolowane z suplementu Sanprobi IBS wykazują właściwości antagonistyczne względem bakterii *Bacillus cereus* i *Clostridium difficile* oraz niewielki wpływ antagonistyczny wobec *Staphylococcus aureus*. Sanprobi IBS może być więc potencjalnie wykorzystany jako środek wspomagający w leczeniu w schorzeń układu pokarmowego wywołanych przez te patogeny.

Właściwości antagonistyczne szczepów *Lactobacillus* mogą wynikać z hamującego wpływu produktów metabolizmu tych bakterii takich jak np. kwasy organiczne, nadtlenek wodoru czy też bakteriocyny.^[11]

PRZEŻYwalność w SYMULOWANYM ŚRODOWISKU UKŁADU POKARMOWEGO *IN VITRO*, UWZGLĘDNIJĄC PARAMETRY TRAWIENIA ŻOŁĄDKA I JELITA CIENKIEGO (ODPOWIEDNIE pH, SOLE ŻÓŁCI).

Jedną z wymaganych właściwości probiotyków jest ich zdolność do przeżycia wędrówki przez górny odcinek przewodu pokarmowego (po doustnym podaniu) zanim trafią do jelita cienkiego. Pasaż przez żołądek (niskie pH) oraz dwunastnicę (działanie soli żółci) powoduje niejednokrotnie spadek liczby żywych komórek bakteryjnych. Uważa się, że minimalna dawka terapeutyczna żywych bakterii probiotycznych, które docierają do jelit powinna wynosić 106 CFU dziennie.^[6, 7] Instytut Jakości JCI postanowił ocenić tolerancję pałeczek kwasu mlekowego z preparatu Sanprobi IBS w warunkach *in vitro* na działanie obniżonego pH oraz roztworu soli żółci wołowej w stężeniu 0,4%.

Wg. przeprowadzonych analiz, badany preparat zawierał szczepy zdolne do przeżycia w obniżonym pH, podobnym do środowiska soku żołądkowego. Po inkubacji badanych bakterii w pH 3 oraz pH 2, w ciągu 6 godzin przy życiu pozostawało wystarczająco dużo bakterii probiotycznych – w najgorszym przypadku (sześciogodzinna inkubacja w pH 2) liczba żywych bakterii probiotycznych nie spadła poniżej $2,33 \cdot 10^7$. Wpływ soli żółci na żywotność badanych pałeczek kwasu mlekowego był nieznaczny – po 2 godzinach inkubacji w obecności 0,4% soli żółci wołowej liczba bakterii probiotycznych spadła o rząd wielkości (do $\sim 10^8$), ale później liczba bakterii rosła co znaczy, że były w stanie zaadaptować się do takiego środowiska.

Sanprobi IBS wykazał się bardzo dobrymi właściwościami przeżywania w symulowanym środowisku układu pokarmowego *in vitro*. Uzyskane wyniki świadczą o bardzo dobrej przeżywalności bakterii probiotycznych zawartych w tym produkcie. Jest to ważne z punktu widzenia konsumenta, ponieważ jedynie żywe bakterie probiotyczne mogą spełniać swoje prozdrowotne funkcje. Zastosowanie nieodpowiedniego szczepu, niezdolnego do przeżycia w trudnych warunkach panujących w żołądku i jelitach, bądź błędne zaprojektowanie kapsułki może doprowadzić do śmierci bakterii. W takiej sytuacji przyjmowanie probiotyku byłoby bezcelowe. Warto zwrócić uwagę na wynik mówiący o tym, że po pewnym czasie bakterie zaczęły się namnażać. Oznacza to, że szczep obecny w preparacie Sanprobi IBS jest zdolny do adaptacji i normalnego funkcjonowania w ludzkim przewodzie pokarmowym.

OZNACZANIE WRAŻLIWOŚCI NA ANTIBIOTYKI SZCZEPÓW BAKTERII OBECNYCH W SUPLEMENCIE

Szczepy probiotyczne nie powinny wykazywać antybiotykooporności, ponieważ istnieje ryzyko przekazania tej cechy bakteriom patogennym obecnym w przewodzie pokarmowym, co jest zjawiskiem bardzo niekorzystnym.

Antybiotykooporność mikroorganizmów jest w ostatnich latach znaczącym problemem dla medycyny, ponieważ odporne szczepy mikroorganizmów chorobotwórczych nie poddają się łatwemu leczeniu. Z powodu wzrastającej oporności dotychczasowe antybiotyki stają się coraz mniej skuteczne. Mikroorganizmy mogą nabywać cechy oporności na dwa sposoby – poprzez mutacje połączone z selekcją (tak dzieje się w przypadku nadużywania antybiotyków) oraz przez tzw. horyzontalny transfer genów, polegający na przejściu tej właściwości od innych opornych bakterii, niekoniecznie chorobotwórczych. Zastosowanie bakterii probiotycznych wrażliwych na antybiotyki (nieposiadających cech oporności)



powoduje, że mikroorganizmy patogenne obecne w przewodzie pokarmowym nie mogą nabyć od nich dodatkowych oporności.

W oparciu o dane dostarczone przez producenta stwierdzono, że szczep *L. plantarum* 299v obecny w probiotyku Sanprobi IBS jest wrażliwy na działanie: gentamycyny, ampicyliny, klindamycyny, erytromycyny, tetracykliny i chloramfenikolu. Szczep ten jest jednak oporny na kanamycynę oraz na wankomycynę (ta ostatnia jest cechą naturalną dla szczepów *L. plantarum*).

Interpretację wyników badań dostarczonych przez producenta oparto na wytycznych EFSA „Guidance on the characterisation of microorganisms used as feed additives or as production organisms” i normy ISO 10932:2010 („Milk and milk products – Determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) of antibiotics applicable to bifidobacteria and non-enterococcal lactic acid bacteria (LAB)”).

OZNACZANIE GENÓW OPORNOŚCI NA RUCHOMYCH ELEMENTACH GENOMU

Aby mieć pewność, że *L. plantarum* 299v jest bezpieczny do stosowania mimo oporności na kanamycynę i wankomycynę, producent wykonał badanie mające na celu ustalenie, w jakim miejscu genomu znajdują się geny oporności.

Geny oporności mogą występować w genoforze (nukleoidzie) bądź na plazmidach. W tym drugim przypadku rośnie prawdopodobieństwo przekazania tych genów innym bakteriom (w tym chorobotwórczym) na zasadzie horyzontalnego transferu genów. Ponieważ badany szczep *L. plantarum* wykazuje oporność na niektóre antybiotyki, sprawdzono, czy geny warunkujący te cechy znajduje się w plazmidowym DNA.

Drobnoustroje wyizolowane z suplementu Sanprobi IBS zawierały plazmidowe DNA, jednakże nie stwierdzono w nim obecności genów oporności dla antybiotyków. Oznacza to, że ryzyko przekazania oporności bakteriom patogennym jest niskie a sam szczep probiotyczny jest bezpieczny i jego stosowanie nie przyczynia się do zwiększania antybiotykooporności mikroorganizmów patogennych.

Wyniki badań Sanprobi Stress

OZNACZENIE ILOŚCIOWE DROBNOUSTROJÓW WCHODZĄCYCH W SKŁAD SUPLEMENTU DIETY SANPROBI STRESS

Analogicznie jak poprzednio, probiotyk powinien zawierać minimum 10^6 żywych bakterii w pojedynczej dawce, czyli w jednej kapsułce Sanprobi Stress. Produkt powinien też zawierać dokładnie tyle żywych mikroorganizmów, ile zostało zadeklarowane przez producenta na opakowaniu.

Bakterie probiotyczne uzyskane po namnożeniu z suplementu diety Sanprobi Stress poddano analizie ilościowej metodą dziesiętnych rozcieńczeń Kocha. Producent deklaruje, że jedna kapsułka tego probiotyku zawiera łącznie 3×10^9 CFU żywych bakterii probiotycznych. Uzyskane w badaniu wyniki potwierdzają tę deklarację.

IDENTYFIKACJA GATUNKÓW ZAWARTYCH W PREPARACIE I PORÓWNANIE Z TYM, CO ZDEKLAROWANE NA ETYKIECIE PRODUKTU

W preparacie Sanprobi Stress wykryto deklarowane gatunki bakterii - *Lactobacillus helveticus* oraz *Bifidobacterium longum*. Identyfikacji dokonano metodą MALDI-TOF a wyniki są zgodne z wynikami badań molekularnych dostarczonych przez producenta, które są dokładniejsze i umożliwiają określenie konkretnych szczepów, czyli *Lactobacillus helveticus* Rosell® - 52 x oraz *Bifidobacterium longum* Rosell® - 175. Badania potwierdzają więc zgodność składu jakościowego z deklaracją na opakowaniu i dobrze świadczą o jakości produktu.

CZYSTOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA PRODUKTU

Sanprobi Stress spełnia wszystkie wymagania czystości mikrobiologicznej jak te opisane wcześniej dla Sanprobi IBS. Pod tym względem produkt jest więc bezpieczny do spożycia.

ANTAGONIZM WOBEC BAKTERII PATOGENNYCH (*SALMONELLA TYPHIMURIUM*, *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*, *CANDIDA ALBICANS*, *BACILLUS CEREUS*) MIERZONY STOPNIEM ZAHAMOWANIA ICH WZROSTU

Przeprowadzono badanie właściwości antagonistycznych bakterii uzyskanych z probiotyku Sanprobi Stress (analogicznie jak dla Sanprobi IBS) względem drobnoustrojów wskaźnikowych: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Clostridium difficile* ATCC 43593, *Candida albicans* ATCC 10231 i *Bacillus cereus* ATCC 10876.

Bakterie *Lactobacillus helveticus* wyizolowane z suplementu Sanprobi Stress wykazują właściwości antagonistyczne względem bakterii *Bacillus cereus*, *Clostridium difficile* i w mniejszym stopniu wobec bakterii *Salmonella Typhimurium*.

Omawiany suplement diety zawiera również bakterie probiotyczne *Bifidobacterium longum*, które jednak nie wykazały działania antagonistycznego względem żadnych badanych bakterii wskaźnikowych.

Biorąc pod uwagę powyższe, Sanprobi Stress może być potencjalnie wykorzystany jako środek wspomagający w leczeniu w schorzeń układu pokarmowego wywołanych przez te patogeny, względem których bakterie *Lactobacillus helveticus* przejawiają antagonizm.



PRZEŻYWALNOŚĆ W SYMULOWANYM ŚRODOWISKU UKŁADU POKARMOWEGO IN VITRO, UWZGLĘDNIAJĄC PARAMETRY TRAWIENIA ŻOŁĄDKA I JELITA CIENKIEGO (ODPOWIEDNIE PH, SOLE ŻÓŁCI)

Szczepy probiotyczne *Lactobacillus helveticus* oraz *Bifidobacterium longum*, zawarte w kapsułkach Sanprobi Stress wykazały mniejszą oporność i zmniejszenie przeżywalności we wszystkich badanych warunkach tj. w pH 2, pH 3 i w obecność soli żółci. Największą redukcję mikroorganizmów stwierdzono w roztworze o pH 2 (spadek o 4 rzędy wielkości). Z kolei w roztworze o pH 3 oraz w roztworze z dodatkiem 0,4% soli żółci zaobserwowano spadek ilości żywych bakterii probiotycznych o 3 rzędy wielkości. Mimo większej redukcji mikroorganizmów w kapsułkach Sanprobi Stress w porównaniu do Sanprobi IBS, ten suplement również spełnił wymaganą dawkę.

Doniesienia literaturowe wskazują, że bakterie z rodzaju *Bifidobacterium* wykazują słabą tolerancję na warunki obniżonego pH, natomiast wzrost bakterii z rodzaju *Lactobacillus* jest promowany w warunkach układu pokarmowego.^[12,13] Prawdopodobnie więc *Lactobacillus helveticus* odpowiada w głównej mierze za działanie probiotyczne Sanprobi Stress w realnych warunkach jego stosowania.

OZNACZANIE WRAŻLIWOŚCI NA ANTIBIOTYKI SZCZEPÓW BAKTERII OBECNYCH W SUPLEMENCIE

W oparciu o dane dostarczone przez producenta stwierdzono, że szczep *Lactobacillus helveticus* Rosell® - 52 jest wrażliwy na działanie: ampicyliny, klindamycyny, wankomycyny, erytromycyny, tetracykliny, streptomycyny i chloramfenikolu. Szczep wykazał oporność na gentamycynę i kanamycynę.

W oparciu o wyniki przeprowadzonych badań wykazano także, że szczep *Bifidobacterium longum* Rosel® - 175 jest wrażliwy na działanie: gentamycyny, klindamycyny, wankomycyny, erytromycyny, tetracykliny, streptomycyny i chloramfenikolu. Badanie wrażliwości dla ampicyliny wykazało oporność tego szczepu na badany antybiotyk.

Interpretację wyników badań dostarczonych przez producenta wykonano analogicznie jak w przypadku opisanego wcześniej badania Sanprobi IBS.

OZNACZANIE GENÓW OPORNOŚCI NA RUCHOMYCH ELEMENTACH GENOMU

Aby mieć pewność, że szczepy probiotyczne w suplemencie Sanprobi Stress są bezpieczne do stosowania mimo oporności na niektóre antybiotyki, producent wykonał badanie mające na celu ustalenie, w jakim miejscu genomu znajdują się geny oporności.

W oparciu o wyniki analiz genetycznych udostępnionych przez producenta można stwierdzić, że szczepy bakterii użyte do produkcji Sanprobi Stress nie zawierają genów oporności na ruchomych częściach genomu.

Oznacza to, że ryzyko przekazania oporności bakteriom patogennym przez bakterie obecne w tym suplemencie jest niskie, a użyte szczepy probiotyczne są bezpieczne do stosowania w tym kontekście.

Ocena opakowania i treści kierowanych do konsumenta

OPAKOWANIE I ZNAKOWANIE SUPLEMENTU DIETY

Sanprobi IBS i Sanprobi Stress są suplementami diety i muszą być oznakowane zgodnie z wymogami stawianymi środkom spożywczym wprowadzonym do obrotu na terenie Rzeczypospolitej Polskiej. Wszystkie napisy na opakowaniach obu produktów są w języku polskim, są wyraźne, czytelne i nieusuwalne, nie zawierają niejednoznacznych/trudnych do zinterpretowania sformułowań. Opakowania zawierają wszystkie obowiązkowe informacje zgodnie z rozporządzeniem unijnym nr 1169/2011, tj. nazwę, skład produktu, masę produktu netto, termin przydatności do spożycia, warunki przechowywania, nazwę i dane kontaktowe dystrybutora oraz sposób użycia. Ponadto na opakowaniach obu suplementów, w widocznym miejscu, chociaż małą czcionką, znajduje się obowiązkowa informacja o tym, że produkty są suplementami diety. Łatwo też odnaleźć informację o tym, że produkty są probiotykami.

Treści na opakowaniu suplementu diety nie mogą sugerować, że zbilansowana i zróżnicowana dieta nie może dostarczyć wystarczających dla organizmu ilości składników odżywczych. Nie mogą również sugerować, że produkt ma właściwości lecznicze i producent w obu wypadkach stosuje się do tych zastrzeżeń.

DODATKOWE TREŚCI KIEROWANE DO KONSUMENTA

Produktowi Sanprobi IBS towarzyszy dedykowana strona internetowa (www.sanprobi-ibs.pl/). Treści zamieszczone na niej poszerzają informacje z opakowania – konsument może dowiedzieć się tam jak długo należy przyjmować produkt wg zaleceń producenta oraz czym wyróżnia się ten konkretny produkt spośród innych probiotyków dostępnych na rynku. W przekazie marketingowym skierowanym do profesjonalistów (np. do lekarzy) położono nacisk na temat znaczenia mikroflory w fizjologii i patofizjologii przewodu pokarmowego.

Bardzo podobna strona internetowa towarzyszy produktowi Sanprobi Stress (<http://www.sanprobi.pl/sanprobi-stress>). W części przeznaczony dla profesjonalistów można znaleźć informacje na temat znaczenia mikroflory w fizjologii i patofizjologii osi mózgowo-jelitowej.

Obie strony internetowe towarzyszące ocenianym produktom nie sugerują bezpośrednio żadnego związku między przyjmowaniem probiotyków a konkretnymi korzyściami zdrowotnymi – poza utrzymaniem prawidłowej mikroflory jelitowej. Jednocześnie można na nich znaleźć ciekawe i często przydatne informacje – zarówno dla laików jak i dla lekarzy, farmaceutów czy dietetyków.

Ocena końcowa produktu

Badania przeprowadzone na produkcie marki Sanprobi IBS i na produkcie Sanprobi Stress jednoznacznie dowodzą wysokiej jakości analizowanych suplementów diety. Produkty spełniają przyjęte przez Instytut Jakości JCI kryteria świadczące o tym, że posiadają dobre właściwości probiotyczne i są bezpieczne dla konsumentów.

Biorąc pod uwagę powyższe, Instytut Jakości JCI pozytywnie ocenia produkty marki Sanprobi IBS i Sanprobi Stress i rekomenduje je do otrzymania Znaku Jakości JCI – Jakość Potwierdzona Badaniami.

Literatura

1. Zheng J, Wittouck S, Salvetti E, et al. 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*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2020;70(4):2782-2858. doi:10.1099/ijsem.0.004107
2. <http://www.sanprobi.pl/sanprobi-ibs> (dostęp: 31.03.2022)
3. Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. z 2015 r. poz. 594 z późn. zm.)
4. *Lactiplantibacillus plantarum* 299v (LP299V®): three decades of research. doi:10.3920/BM2020.0191
5. Coeuret V., Gueguen M., Vermoux J.P.: Numbers and strains of *Lactobacilli* in some probiotic products. *Int J Food Microbiol* 2004, 97, 147–156
6. Czerwionka-Szaflarska M., Romańczuk B.: Probiotics for the prevention and treatment of selected gastrointestinal disorders in children. *F Med Rod* 2010, 4, 135–140.
7. Fric P.: Probiotics and prebiotics – renaissance of a therapeutic principle. *CEJ Med*. 2007, 2, 237–270
8. Shanahan F.: Probiotics in perspective. *Gastroenterology* 2010, 139, 1808–1812
9. International Probiotics Association: *Best Practices Guidelines for Probiotics*. 2017
10. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/natural-non-prescription/legislation-guidelines/guidance-documents/quality-guide.html#app4> (dostęp: 31.03.2022)
11. Klewicka Elżbieta i in. (1999) Antagonistyczna aktywność bakterii fermentacji mlekowej *Lactobacillus acidophilus*, *Żywność Nauka Technologia Jakość*
12. Dianawati D et al (2016) Viability, Acid and Bile Tolerance of Spray Dried Probiotic Bacteria and Some Commercial Probiotic Supplement Products Kept at Room Temperature, *Journal of Food Science*
13. Sanchez B et al. (2007) Low-pH Adaptation and the Acid Tolerance Response of *Bifidobacterium longum* Biotype *longum*, *ASM Journals*
14. <https://foodprobiotics.lallemand.com/product/b-longum-rosell-175-me/> (dostęp: 31.03.2022)
15. Generally Recognized as Safe (GRAS) Determination for the Use of the Probiotics *Lactobacillus helveticus* Rosell®-52 (R0052), *Bifidobacterium longum* ssp. *infantis* Rosell®-33 (R0033), and *Bifidobacterium bifidum* Rosell®-71 (R0071)
16. <https://www.cofamispa.it/wp-content/uploads/2019/09/Scheda-R52-1.pdf> (dostęp: 31.03.2022)
17. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to a combination of *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-1720, *Lactobacillus helveticus* CNCM I-1722, *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* CNCM I-3470 and *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* CNCM I-1079 and defence against pathogenic gastro-intestinal microorganisms (ID 3017, further assessment) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006