

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MAJA KUŽELJ

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MAJA KUŽELJ

**LITERATURNI PREGLED IN ANALIZA PODATKOV O PREHRANSKIH
DOPOLNILIH S PROBIOTIČNIMI KULTURAMI NA SLOVENSKEM TRŽIŠČU**

**LITERATURE OVERVIEW AND ANALYSIS OF DATA RELATING TO FOOD
SUPPLEMENTS WITH PROBIOTIC CULTURES IN SLOVENIAN MARKET**

Ljubljana, 2013

Magistrsko naložko sem opravljala pod mentorstvom prof. dr. Albina Kristla in znanst. sod. dr. Katje Berginc, mag. farm.

Hvala prof. dr. Albinu Kristlu, da mi je omogočil opravljanje magistrske naloge pod svojim mentorstvom.

Najlepše se zahvaljujem tudi somentorici znanst. sod. dr. Katji Berginc za vso pomoč in ideje.

Hvala tudi JZ Lekarni Krško za pomoč pri zbiranju literature o izdelkih.

Ne nazadnje pa še velika zahvala moji družini in prijateljem, ki so vedno verjeli vame in me spodbujali.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko naložko samostojno izdelala pod vodstvom mentorja prof. dr. Albina Kristla in somentorice znanst. sod. dr. Katje Berginc.

Maja Kuželj

Ljubljana, 2013

Predsednik komisije: prof. dr. Danijel Kikelj

Mentor: prof. dr. Albin Kristl

Somentorica: znanst. sod. dr. Katja Berginc

Član komisije: doc. dr. Bojan Doljak

VSEBINA

POVZETEK	1
ABSTRACT	2
SEZNAM OKRAJŠAV.....	3
1 UVOD	4
1.1 Definicije.....	4
1.2 Gastrointestinalna flora človeka.....	6
1.3 Mehanizmi ugodnih učinkov probiotičnih kultur na zdravje ljudi.....	9
1.4 Razlogi za testiranje probiotikov na vsebnost in sestavo	13
1.5 Smernice za vrednotenje probiotikov v hrani	13
1.6 Interakcije z zdravili.....	16
1.7 Varnost	17
1.8 Genska modifikacija.....	18
2 NAMEN DELA.....	19
3 MATERIALI IN METODE	20
4 REZULTATI.....	22
4.1 Pravni status analiziranih izdelkov s probiotičnimi kulturami.....	28
4.2 Sestava analiziranih probiotikov	28
4.2.1 Kvalitativna vsebnost	28
4.2.2 Kvantitativna vsebnost	34
4.3 Pravilnost poimenovanja probiotičnih sevov	35
4.4 Opozorila na embalaži.....	36
4.5 Občutljivost probiotičnih sevov na pogoje v prebavnem traktu	40
4.6 Interakcije med zdravili in probiotiki.....	44
4.7 Varnost probiotičnih pripravkov	46
5 RAZPRAVA	48
5.1 Kvalitativna in kvantitativna sestava probiotičnih izdelkov	48
5.2 Embalaža in trditve na prehranskih dopolnilih	50
5.3 Primerjava stanja z mednarodnimi objavami	52
5.4 Analiza kazalcev ustreznosti prehranskih dopolnil na slovenskem tržišču.....	53
6 SKLEP	55
7 LITERATURA.....	56

POVZETEK

Probiotiki so živi nepatogeni mikroorganizmi, ki lahko pri ljudeh ugodno vplivajo na zdravje z uravnavanjem črevesne mikroflore, če jih zaužijemo v zadostnih količinah. So del normalne črevesne flore, ki se izoblikuje že pri otrocih takoj po prenehanju dojenja. Pomagajo pri lajšanju simptomov driske, razdražljivega črevesa, vnetnih črevesnih bolezni, zmanjšujejo rast patogenih bakterij, znižujejo nivo holesterola itd.

Na slovenskem trgu opažamo rast prodaje probiotičnih izdelkov, saj se glede na pogostost uživanja ti izdelki uvrščajo na visoko četrto mesto. V magistrski nalogi smo proučili 31 (od približno 120 probiotičnih izdelkov, ki so prisotni na slovenskem trgu) probiotičnih izdelkov (prehranska dopolnila in zdravila), ki so uporabnikom na voljo v lekarnah. 14 izdelkov smo opredelili kot probiotike preostalih 17 pa kot sinbiotike.

Ugotovili smo, da je v analiziranih izdelkih kar 19 različnih probiotičnih sevov, od tega 9 proizvodov vsebuje samo 1 sev, preostalih 22 pa jih vsebuje 2 ali več. Število posameznega seva na odmerek se giblje med 1×10^7 in $1,6 \times 10^{10}$ CFU. 6 izdelkov (20%) ima na embalaži napačno poimenovane seve. Nekateri izdelki poleg probiotičnih kultur vsebujejo tudi druge aktivne sestavine (vitamini, minerali, rastlinski izvlečki, prebavni encimi in mlečni proizvodi). Glede na spremljajoče pomožne snovi in vrsto farmacevtske oblike probiotičnih izdelkov smo ugotovili, da je 18 pripravkov na voljo v pripravkih s takojšnjim in 13 s podaljšanim sproščanjem. Pri ocenjevanju upravičenosti prehranskih in zdravstvenih trditev na embalaži glede na veljavne smernice smo ocenili, da so še vedno pomanjkljive. Pozorni smo bili tudi na navedbe glede pogojev shranjevanja in ugotovili, da pri kar 5 izdelkih niso navedeni. Poleg podatkov o izdelkih z embalaže smo upoštevali trenutno veljavno lekarniško prakso svetovanja pacientom ter proučili tudi literaturo, da bi ocenili varnost sočasnega jemanja probiotikov s predpisanimi zdravili pri populacijah, kjer je uporaba probiotikov smiselna.

Zaključili smo, da je varnost probiotičnih izdelkov sicer sprejemljiva, vendar bi bili nujni nadaljnji koraki za poosrtitev nadzora nad vsebnostjo in podatki na embalaži.

Ključne besede: probiotični sevi, probiotični izdelki, literurni pregled podatkov, analiza podatkov

ABSTRACT

Probiotics are live non-pathogenic microorganisms that may be beneficial for human health by balancing intestinal microflora, if consumed in sufficient quantities. They are part of the normal intestinal flora that is formed already in children soon after weaning. Probiotics help to relieve the symptoms of diarrhea, irritable bowel, inflammatory bowel disease, reduce the growth of pathogenic bacteria, reduce cholesterol, etc.

On the Slovenian market we are seeing growth in sales of probiotic products as compared to the frequency of consumption, they are ranked at the high fourth place. In the master's thesis, we studied 31 probiotic products (dietary supplements and drugs), which are available to users in pharmacies. 14 products were classified as probiotics, remaining 17 as sinbiotics.

We have found that the analyzed products contain 19 different probiotic strains, 9 of products contain only 1 strain other 22 contain 2 or more. The number of each strain per dose ranges from between 1×10^7 and $1,6 \times 10^{10}$ CFU. 6 products (20%) have on the packaging written strains that are incorrectly named. In addition, some of the products beside probiotic cultures contain also other active ingredients (vitamins, minerals, herbal extracts, digestive enzymes and milk products). According to the excipients and the type of pharmaceutical formulation of probiotic products, we found that 18 products are available in a preparation with immediate and 13 with sustained release. In assessing the eligibility of nutrition and health claims on the packaging according to current guidelines, we estimated that they are still insufficient. We were attentive to the statements concerning storage conditions and found out that they weren't listed on 5 products. Beside the data of the products from the packaging we took into account pharmacy practice counseling of patients and also examined the literature to evaluate the safety of concomitant administration of probiotics with prescription drugs in populations where the use of probiotics makes sense.

We concluded that the safety of probiotic products is acceptable but further steps to tighten control over the content and the packaging is necessary.

Key words: probiotic strains, probiotic products, literature overview of the data, analysis of the data

SEZNAM OKRAJŠAV:

ATB = antibiotik

Bif. = Bifidobacterium

CBZ = centralna baza zdravil

CFU = Colony Forming Units = število enot, ki tvorijo kolonije

DBPC: Double blind, randomized, placebo-controlled = dvojno slepa, randomizirana s placebom kontrolirana

E. = Enterococcus

E.coli = Escherichia coli

EFSA = Evropska agencija za varnost hrane

FDA = Food and drug administration = Ameriški vladni urad za zdravila in prehrano

GALT = gut-associated lymphoid tissue = limfatični folikli v steni prebavnega trakta

GIT = gastrointestinalni trakt

GRAS = Generally recognized as safe = splošno priznan kot varen

Lb. = Lactobacillus

OTC = Over the Counter = brez recepta

PCR = Polymerase chain reaction = verižna reakcija s polimerazo

PIL = Patient Information Leaflet = navodilo za uporabo

QPS = Qualified Persumption of Safety = kvalificirana domneva o varnosti

SmPC = Summary of Product Characteristics = povzetek glavnih (temeljnih) značilnosti zdravila

ssp = subspecies = podvrsta

WHO = World Health Organisation = Svetovna zdravstvena organizacija

ZPS = Zveza potrošnikov Slovenije

ZZUZIS = Zakon o zdravstveni ustreznosti živil in izdelkov ter snovi, ki prihajajo v stik z živili

1 UVOD

1.1 Definicije

Probiotiki so živi nepatogeni mikroorganizmi, ki lahko pri ljudeh ugodno vplivajo na zdravje z uravnavanjem črevesne mikroflore, če jih zaužijemo v zadostnih količinah (WHO). Beseda probiotik izhaja iz grškega izraza "pro bios" in pomeni za življenje.

K probiotičnim bakterijam najpogosteje prištevamo različne vrste laktobacilov, bifidobakterije, nekatere po Gramu pozitivne koke (nekatere streptokoke) in glive, najpogosteje *Saccharomyces boulardii* (Tabela I). Dnevni vnos nad $10^9\text{-}10^{10}$ živih probiotičnih mikroorganizmov zagotavlja pozitivne učinke na zdravje ljudi (1,2), čeprav bi po mnenju drugih zadoščal tudi vnos $10^5\text{-}10^6$ mikroorganizmov/ml (3), oz. $10^6\text{-}10^8$ bakterij (4). Nekateri navajajo spodnjo mejo tudi 10^7 mikroorganizmov/g (5).

Bakterijski sev pomeni skupino bakterij istega rodu in vrste, ki imajo določene skupne specifične lastnosti in se od ostalih izolatov razlikujejo po fenotipičnih ali genotipičnih značilnostih in predstavljajo opisno podkategorijo vrste (npr. 2 seva *Enterococcus faecium*, eden je patogen drugi pa ne) (6).

Probiotični izdelki/prehranska dopolnila oz. zdravila morajo ustrezati naslednjim zahtevam:

- da vsebujejo žive organizme,
- da se lahko uživajo per os,
- mikroorganizmi morajo biti sposobni doseči črevesje in preživeti,
- mikroorganizmi se morajo vezati na črevesno steno,
- mikroorganizmi se morajo razraščati v črevesju,
- pripravki morajo biti netoksični.

Da bi probiotični sevi zadostili zgoraj naštetim zahtevam in bili zmožni zagotoviti predvidene ugodne učinke (oz. učinke, ki jih proizvajalec oglašuje na prehranskih dopolnilih), morajo vgrajeni probiotični mikroorganizmi preživeti v ostrih pogojih, ki jih spremljajo na poti vzdolž prebavne cevi do debelega črevesja kot so: želodčna kislina, prebavni encimi, spremjanje pH v tankem črevesju, žolčne soli. Na predvideno mesto delovanja morajo torej prispeti živi, v zadostnem številu in s sposobnostjo razmnoževanja

v anaerobnem okolju, kjer ne smejo izkazovati škodljivih učinkov na gostitelja bodisi sami bodisi njihovi metaboliti oz. snovi, ki jih izločajo v okolico. Omenjenim zahtevam zadosti skupina mikroorganizmov, znanih kot mlečnokislinske bakterije, ki izvirajo iz rodov laktobacilov in bifidobakterij. Mlečnokislinske bakterije povzročajo mlečnokislinsko vrenje, v katerem se ogljikovi hidrati v odsotnosti kisika razgradijo v mlečno kislino, ki zniža pH črevesnega okolja in tako onemogoči razrast patogenih bakterij. Pri obeh vrstah mlečnokislinskih bakterij poznamo številne seve, ki se med seboj razlikujejo po obstojnosti, učinkovitosti in varnosti. Na ovojnini prehranskih dopolnil oz. zdravil brez recepta je priporočljivo navajati vrsto in sev, kot tudi količino/število bakterij. Najbolj proučena seva med laktobakterijami sta *Lactobacillus acidophilus* in *Lactobacillus bulgaricus* med bifidobakterijami pa *Bifidobacterium bifidum*. Kot probiotiki se uporablja tudi nekatere glice, najpogosteje *Saccharomyces boulardii* (2).

Tabela I: Mikroorganizmi, ki se lahko uporablja kot probiotiki (7)

laktobacili	bifidobakterije	enterokoki	ostali
<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Bif. bifidum</i>	<i>E. faecium</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Lb. plantarum</i>	<i>Bif. infantis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>Lactococcus lactis ssp. lactis</i>
<i>Lb. casei</i>	<i>Bif. adolescentis</i>		<i>Lactococcus lactis ssp. cremoris</i>
<i>Lb. rhamnosus</i>	<i>Bif. longum</i>		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>Lb. johnsonii</i>	<i>Bif. breve</i>		<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Lb. fermentum</i>	<i>Bif. lactis</i>		<i>Escherichia coli</i>
<i>Lb. delbrueckii</i>			
ssp. <i>bulgaricus</i>			
<i>Lb. gasseri</i>			
<i>Lb. salivarius</i>			
<i>Lb. reuteri</i>			

*Lb=Lactobacillus, Bif=Bifidobacterium, E=Enterococcus

Da bi zagotovili prihod čim večjega števila živih in kolonizacije sposobnih probiotičnih sevov, so v prehranska dopolnila dodani prebiotiki, ki so za človeka neprebavljni ogljikovi hidrati in tako ne predstavljajo neposredno hranil, vendar pozitivno vplivajo na črevesno floro. Mikroorganizmi črevesne flore namreč proizvajajo encime, ki omogočajo prebavo prebiotikov in jih zato lahko uporabijo kot hranila. Naravno se prebiotiki nahajajo zlasti v neobdelani rastlinski hrani, dandanes pa jih pogosto dodajajo prehrambenim izdelkom. Največkrat so to frukto-oligosaharidi (inulin), oligofruktoza in transgalakto-oligosaharidi (8).

Tako kot probiotiki, morajo tudi prebiotiki zadostiti naslednjim pogojem:

- rezistenca na želodčno kislino in hidrolizo z gostiteljevimi encimi,
- iz črevesja se ne smejo absorbirati,
- nepatogeni črevesni mikroorganizmi v gostiteljevi mikroflori jih morajo biti sposobni fermentirati,
- zagotoviti morajo selektivno stimulacijo rasti in/ali aktivnosti tistih črevesnih bakterij, ki jih povezujemo z ugodnimi učinki na gostiteljevo zdravje in dobro počutje (9).

Sinbiotiki so izdelki, ki vsebujejo kombinacijo probiotikov in prebiotikov. Tako pripravljena mešanica vsebuje potrebna hranila (t.j. prebiotike) za izbrane probiotične seve, in na ta način izboljša preživetje in kasnejšo kolonizacijo v črevesnem lumnu gostitelja.

Vsebnost probiotikov v enoti odmerka je običajno izražena kot število živih mikroorganizmov v bilijonih, oziroma število enot, ki tvorijo kolonije (CFU/g ali CFU/ml).

Probiotiki sodijo med prehranska dopolnila, ki jih slovenska zakonodaja (t.j. Pravilnik o prehranskih dopolnilih (Ur.l. RS, št. 82/03, 44/04, 72/05, 22/07 in 104/10)) uvršča med živila in so namenjeni dopolnjevanju običajne prehrane. Izjema je OTC zdravilo Linex. Pravilnik o prehranskih dopolnilih podrobneje definira merila za nekatere podvrste prehranskih dopolnil kot npr. vitamine in minerale (mejne vrednosti, dovoljene kemijske oblike), v primeru probiotikov pa ne omenja meritve glede njihove količinske in/ali kakovostne sestave. Pravilnik določa merila glede označevanja, predstavljanja in oglaševanja za vsa prehranska dopolnila ter obveznost prve prijave.

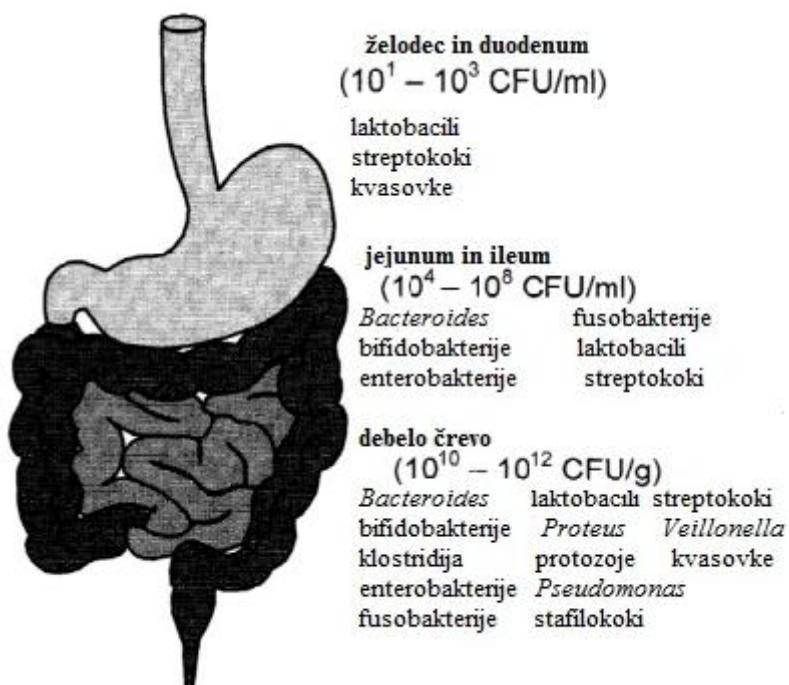
Poznamo pa tudi živila z dodanimi probiotičnimi kulturami. Najbolj oglaševani so jogurti, ki sodijo v isto skupino kot prehranska dopolnila s probiotičnimi kulturami.

1.2 Gastrointestinalna flora človeka

Med porodom se novorojenček, čigar prebavni kanal še ni koloniziran, okuži z mikroorganizmi iz materinega porodnega kanala in iz okolja. Na začetku v prebavilih novorojenčka prevladujeta *E.coli* in *Streptococcus*, vendar se z dojenjem kmalu po porodu močno poveča število bifidobakterij, zmanjša pa se število prvih dveh. S pričetkom

uvajanja hrane po 4. mesecu črevesje kolonizirajo tudi klostridije, pojavijo se tudi bakteroidi in po Gramu pozitivni koki. Po prekiniti dojenja postane otroška črevesna mikroflora enaka flori odraslih.

Prebavni trakt odraslega človeka poseljuje približno 10^{14} živih bakterij, kar je 10-krat več kot je skupno število vseh evkariontskih celic v človeškem telesu. Črevesne bakterije predstavlja preko 500 različnih vrst bakterij, od katerih se jih največ nahaja v debelem črevesu in so po svoji naravi anaerobi (Streptokoki, Bakteroidi, Bifidobakterije (Slika 1)).



Slika 1: Kolonizacija človeških prebavil z različnimi vrstami bakterij v posameznih segmentih prebavne cevi (povzeto po Simon in Gorbach, 1982).

*CFU=colony forming unit

Nepatogene bakterije vplivajo na splošno zdravje človeka z razgrajevanjem določenih komponent hrane (večina kompleksnih saharidov), proizvodnjo/sintezo prebavnih in zaščitnih encimov, vitaminov skupine B in K, s stimulacijo imunskega sistema ter vpliva na odzive gostitelja na prisotne alergene. Vpletene so tudi v metabolizem nekaterih potencialno kancerogenih snovi (razgradnja kancerogenov v manj toksične snovi), lahko pa tudi vplivajo na učinkovitost zdravil (razgradijo učinkovine na neaktivne ali toksične metabolite, aktivirajo predzdravila). Gostitelja ščitijo pred patogenimi in oportunističnimi mikroorganizmi, saj jim z uravnavanjem pH in izločanjem baktericidnih snovi preprečujejo kolonizacijo.

Tako na sestavo kot na velikost naravne črevesne mikroflore vplivajo različni zunanji in notranji dejavniki: prehrana, uporaba zdravil, stres, okužbe in kemično onesnaženje. Vsaka sprememba v posameznem dejavniku lahko povzroči porušenje stabilnega ravnotesja med patogenimi in nepatogenimi predstavniki črevesne mikroflore in s tem značilno vpliva na naše zdravje.

Med poglavitne faktorje, ki vplivajo na sestavo črevesne mikroflore (Tabela II) prištevamo vse procese/dejavnike z (ne)posrednim vplivom na fiziološke pogoje v prebavilih gostitelja – t.j. faktorji, povezani z gostiteljem (npr. staranje, stres, zdravstveno stanje, etnično okolje), sestavo/raznolikost prehrane in druge zunanje dejavnike (npr. kontaminacija s patogeni, uporaba zdravil itd.). Spreminjanje dejavnikov, ki vplivajo na prebavo oz. presnovo (npr. pH, razpoložljivost substrata, redoks potencial, čas prehoda črevesne vsebine skozi prebavno cev/čas zadrževanja v določenem segmentu prebavil, pretok črevesne tekočine, IgA izločanje, itd), tako posredno vplivajo na število in vitalnost koristnih bakterij v prid povečevanju števila potencialno škodljivih organizmov. Spremembe v prehrani ali podnebju, staranje, zdravila, bolezni, stres ali okužba običajno privedejo do povečanja anaerobov in *E. coli* v tankem črevesu in do povečanja števila enterobakterij in streptokokov v debelem črevesu s sočasnim zmanjšanjem bifidobakterij. Sestavo črevesne mikroflore pa lahko nenazadnje zaznamujejo tudi medsebojne interakcije že prisotnih bakterijskih sevov s sintezo in izločanjem različnih presnovkov (npr. proizvajanje H_2O_2 , kislin in bakteriocinov), ki neposredno ali posredno vplivajo na sposobnost preživetja okoliških bakterij (10).

Tabela II: Faktorji, ki vplivajo na sestavo mikroflore v človeških prebavilih (10).

1. Faktorji povezani z gostiteljem

- pH v lumnu prebavne cevi, sekrecija imunoglobulinov iz limfatičnega tkiva v črevesju, izločanje žolčnih kislin in soli, prisotnost encimov iz žolča, pankreasnega in želodčnega soka
 - Motilita
 - Odluščene epitelne črevesne celice, mukus in mucini, tkivni izcedek
-

2. Mikrobiološki dejavniki

- Adhezija: sposobnost oprijemanja mikroorganizmov stene prebavil
 - Motilita
 - Raznolikost hranil: hranila za mikroorganizme
 - Spore, kapsule
 - Encimi, protimikrobne komponente: vplivajo na razraščanje in vitalnost ostalih mikroorganizmov v prebavni cevi
 - Čas podvojevanja: čas, potreben za delitev bakterijske celice
-

3. Mikrobiološke interakcije

Sinergija – bakterijski sevi spodbujajo rast okoliških mikroorganizmov

- Metabolično sodelovanje
- Rastni faktorji in ekskrecija vitaminov
- Spremembe pH, O_2 napetost

Antagonizem/stimulacija – bakterijski sevi zavirajo rast preostalih okoliških mikroorganizmov, običajno so to patogene bakterije

- Kratkoverižne maščobne kisline, amini
 - Spremembe pH, O_2 napetost
 - Protimikrobne komponente
 - Potrebe po hranilih, itd.
-

4. Prehrana

- Sestava: prisotnost prebiotikov v naši prehrani, ki spodbujajo rast koristnih bakterij
 - Neprebavljiva vlakna: prebiotiki
 - Zdravila, itd.
-

1.3 Mehanizmi ugodnih učinkov probiotičnih kultur na zdravje ljudi

Probiotični sevi po zaužitju bodisi s hrano bodisi v obliki prehranskih dopolnil, zdravil oz. drugih izdelkov potujejo do različnih segmentov prebavne cevi. Zaželeno je, da v čim večjem številu ter ustrezne vitalnosti prispejo do debelega črevesja, kjer se pripnejo na resice intestinalne mukoze in se pričnejo razmnoževati, če luminalni pogoji to dopuščajo. Podobno kot drugi mikroorganizmi se s peristaltiko in defekacijo postopno izločijo iz prebavnega trakta (11).

Probiotiki izkazujejo številne, (domnevno) za zdravje gostitelja ugodne učinke:

- Preprečujejo oz. omilijo driske povezane z:
 - o uporabo antibiotikov, ki pobijejo dobre črevesne bakterije,
 - o okužbami z rotavirusi ali salmonelo,
 - o potovanjem.

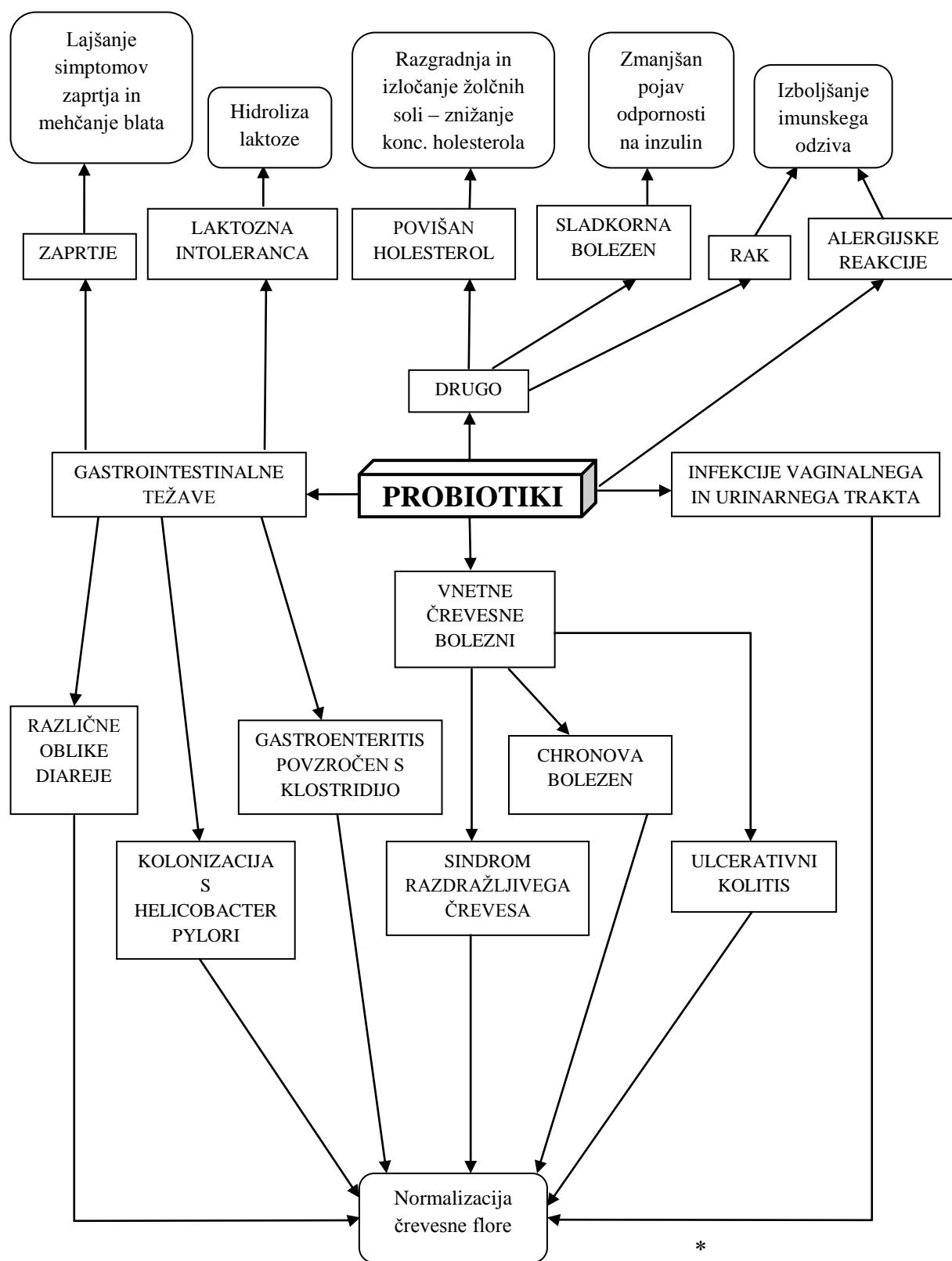
Preprečevanje oz. blaženje omenjenih drisk je povezano s sposobnostjo probiotičnih kultur, da onemogočajo rast patogenih bakterij in sicer tako, da:

- znižujejo pH v črevesnem lumnu, kar je posledica sinteze mlečne, ocetne in jantarne kislina, ki zavirajo razraščanje patogenih mikroorganizmov (*Lactobacillus acidophilus* (LA-5) proizvaja mlečno kislino, *Bifidobacterium animalis subs. lactis* (BB-12) poleg mlečne proizvaja tudi ocetno in jantarno kislino),
- tvorijo presnovke, ki so toksični za patogene bakterije (tvorba H_2O_2),
- tvorijo protimikrobne snovi, znane kot bakteriocini (LA-5 izloča širokospektralni bakteriocin acidocin, ki zavira rast bakterij in gliv),
- s patogenimi bakterijami tekmujejo za hrnilne snovi,
- z vezavo na receptorje v apikalni membrani enterocitov (t.j. adhezijo) preprečujejo kolonizacijo drugih, potencialno patogenih mikroorganizmov (11).

- Omilijo simptome sindroma razdražljivega črevesja, tako da zmanjšajo bolečine in napihnjenost. Probiotiki pri teh bolnikih se uporablajo le kot preventivno sredstvo, saj nekatere klinične raziskave prej omenjenih ugodnih učinkov niso potrdile (12).
- Zmanjšujejo ter blažijo znake vnetne črevesne bolezni (ulcerativni kolitis, Chronova bolezen) (12, 13).
- Zmanjšujejo rast patogenih bakterij, kot na primer *Clostridium difficile* in patogene seve *Escherichie coli* (12).
- Preprečujejo razraščanje glive *Candida albicans* (14).
- Znižajo serumsko koncentracijo holesterola. Probiotični sevi namreč sodelujejo pri dekonjugaciji konjugiranih žolčnih kislin v manj topne žolčne soli, ki se slabše absorbirajo iz črevesja in v večji meri izločijo s fecesom (15).
- Nekateri probiotični sevi in pripravki zmanjšujejo težave pri ljudeh z laktozno intoleranco, čeprav probiotiki na splošno niso indicirani za ta stanja (16, 17).

- Stimulirajo imunski sistem tako, da interagirajo s celicami imunskega sistema v črevesju (GALT) (18).
- Probiotiki naj bi tudi preprečevali črevesnega raka glede na izsledke *in vitro* in *in vivo* študij na živalskih modelih kot posledica:
 - stimulacije delovanja gostiteljevega imunskega sistema,
 - spremenjene presnovne aktivnosti črevesne mikroflore in fizikalno-kemijskih razmer v debelem črevesu,
 - vezave potencialno rakotvornih snovi,
 - sinteze kratkoverižnih maščobnih kislin ter protitumornih snovi (19).
- Zmanjšujejo vaginalne infekcije tako, da peroralno zaužiti probiotiki, ki se izločijo z blatom, preko analne odprtine dosežejo nožnico. Obetajoči rezultati nakazujejo možnost uporabe probiotikov kot sredstva za alternativno zdravljenje vaginalnih infekcij brez stranskih učinkov (20).
- Blažijo zaprtost in olajšajo odvajanje blata (21).
- Zmanjšujejo resnost simptomov in uporabo zdravil pri alergijskem rinitisu (22).
- Zmanjšujejo vnetje dlesni in nalaganje zobnih oblog (23).
- Blažijo simptome revmatoidnega artritisa (24).
- Zmanjšajo kolonizacijo s *Helicobacter pylori* (25).
- Zmanjšujejo pojav odpornosti na inzulin in posledični razvoj sladkorne bolezni (26).
- Probiotike poizkusno uporabljajo tudi za zdravljenje nekaterih jetrnih bolezni, kot npr. zamaščenost jeter, ki ni povezana z alkoholom, ter za profilakso spontanega bakterijskega peritonitisa pri pacientih s cirozo.

Z izjemo ugodnih učinkov dokazanih pri preprečevanju oz. lajšanju simptomov potovalnih drisk, drisk povzročenih z antibiotiki ali okužbami, lajšanju odvajanja, laktozni intoleranci ter pri preprečevanju kolonizacije *Candida albicans*, večina zgoraj navedenih zdravstvenih trditev ni znanstveno preverjenih oz. dokazanih.



*z normalizacijo črevne flore se preko defekacije »okužita« tudi vaginalni in urinarni trakt in se tako noramlizira tudi njuna bakterijska flora.

Slika 2: Učinki in mehanizmi probiotikov.

1.4 Razlogi za testiranje probiotikov na vsebnost in sestavo

Leta 2007 se je število prijavljenih probiotičnih prehranskih dopolnil na Ministrstvu za zdravje občutno povečalo, najvišja rast pa je bila zaznana v letu 2010. Glede na pogostost uživanja se probiotiki uvrščajo na četrto mesto. V lekarnah so zraven probiotičnih prehranskih dopolnil na voljo tudi zdravila, ki vsebujejo probiotike (Linex, Linex forte, Linex linbi), katerih kakovost, varnost in učinkovitost so pred prihodom na tržišče znanstveno utemeljene in preverjene s strani Agencije za zdravila.

Za prehranska dopolnila se v okviru uradnega nadzora nad živili preverja skladnost označb z živilsko zakonodajo, vsebnost mikroorganizmov ali parazitov oziroma njihovih razvojnih oblik ali izločkov in vsebnost strupenih kovin, nekovin, drugih kemičnih onesnaževalcev iz okolja ter strupenih in drugih snovi v koncentracijah, ki lahko škodljivo vplivajo na zdravje ljudi (ZZUZIS, 6. člen). Evropska agencija za varnost hrane je letos objavila preko 200 zdravstvenih trditev, ki so bile potrjene z znanstvenimi dognanji in se smejo navajati na embalaži prehranskih dopolnil; v primeru probiotikov se te trditve nanašajo na učinke, ki jih ti izdelki izkazujejo na črevesno floro oz. imunski sistem.

Tekom testiranja probiotičnih prehranskih dopolnil se ugotavlja:

- vsebnost bakterijskih sevov v primerjavi s količino navedeno na označbi,
- prisotnost vrste bakterijskih sevov oz. prisotnost drugih sevov od tistih, ki so navedeni na embalaži,
- skladnost označb s Pravilnikom o prehranskih dopolnilih ter
- predstavitev izdelka v povezavi z zdravstvenimi trditvami po EFSA presoji (27).

1.5 Smernice za vrednotenje probiotikov v hrani

Probiotiki se v hrani obravnavajo enako kot v prehranskih dopolnilih, kajti ta so po definiciji iz 2. člena Pravilnika o prehranskih dopolnilih »živila, katerih namen je dopolnjevati običajno prehrano. So koncentrirani viri posameznih ali kombiniranih hranil ali drugih snovi s hranilnim ali fiziološkim učinkom, ki se dajejo v promet v obliki kapsul, pastil, tablet in drugih podobnih oblikah, v vrečkah s praškom, v ampulah s tekočino, v kapalnih stekleničkah in v drugih podobnih oblikah s tekočino in praškom, ki so oblikovane tako, da se jih lahko uživa v odmerjenih majhnih količinskih enotah.«

Smernice za probiotike v hrani zahtevajo poznavanje sledečih lastnosti oz. izvedbe sledečih testov za zagotavljanje varnosti potrošnika:

- poznavanje identitete seva,
- *in vitro* testi za pregled potencialnih probiotikov,
- varnost probiotičnega seva,
- *in vivo* študije na živalih in ljudeh,
- zdravstvene trditve in označevanje (28).

Slika 3 podrobneje prikazuje smernice in vrstni red njihovega izvajanja. In sicer moramo najprej sev identificirati na podlagi feno/genotipskih lastnosti, nato sledi ocena varnosti z naslednjimi testi (tudi če imajo sevi potrjen GRAS status):

- določanje odpornosti na antibiotike,
- presoja nekaterih presnovnih aktivnosti (npr. proizvodnja D-laktata, dekonjugacija žolčnih soli),
- ocena stranskih učinkov v študijah na ljudeh,
- epidemiološko spremljanje neželenih učinkov pri potrošnikih (poprodajno),
- če sev po oceni spada v vrsto, ki proizvaja sesalske bakterijske toksine, ga moramo testirati tudi na proizvodnjo toksinov,
- če sev na podlagi ocene pripada vrsti z znanim hemolitičnim potencialom, je zahtevana tudi določitev hemolitične aktivnosti.

Nato sledi določitev funkcionalnih lastnosti z *in vitro* testi, s katerimi ocenimo mehanizme delovanja, čeprav ti testi niso v celoti primerni za napovedovanje funkcionalnih lastnosti mikroorganizmov v človeškem telesu. Ugotovljeno je bilo tudi, da podatki pridobljeni z *in vitro* testi ne zadoščajo, da bi sev lahko opredelili kot probiotik. *In vitro* testi preverijo:

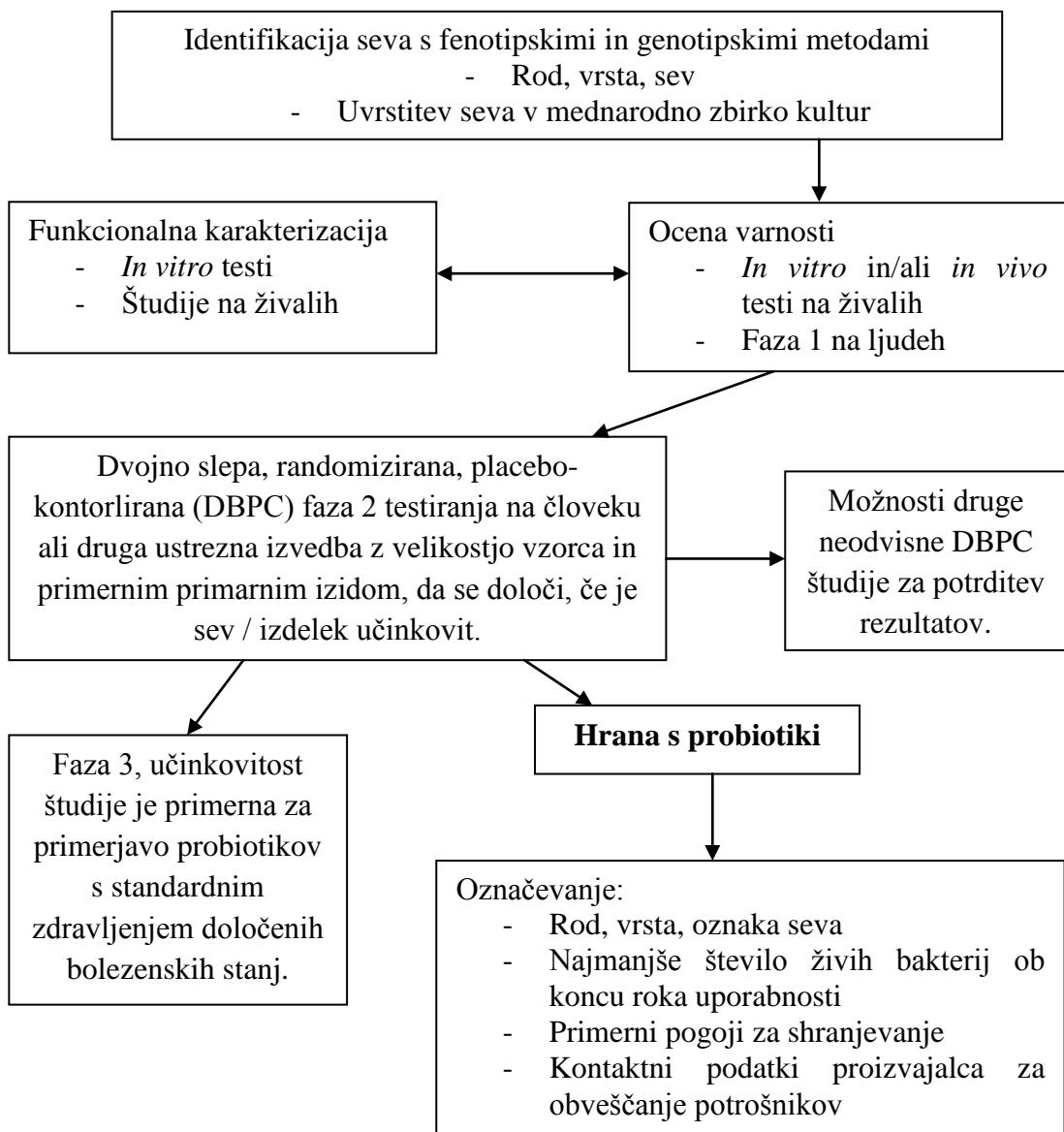
- odpornost na želodčno in žolčno kislino,
- pritrdirtev na sluznico in/ali človeške epitelijalne celice in celične linije,
- antimikrobnou aktivnost proti potencialno patogenim bakterijam,
- sposobnost zmanjšanja oprijemljivosti patogenov na površino,
- sposobnost hidrolize žolčnih soli,
- odpornost na spermicide (velja za probiotike za vaginalno uporabo).

Potrebne so tudi *in vivo* študije na živalskih in človeških modelih. V fazi 1 se testira varnost (testi so našteti zgoraj).

V fazi 2 običajno potekajo randomizirane dvojno slepe s placebom kontrolirane študije (DBPC), ki merijo učinkovitost probiotičnih organizmov v primerjavi s placebom in tudi neželene učinke. Splošno priporočilo za testiranje učinkovitosti probiotikov v hrani je, da se kot placebo uporabi nosilec (t.j. hrano), ki ne vsebuje probiotičnih kultur.

Probiotiki se ponavadi ne testirajo v fazi 3, ki primerja učinke probiotikov s predpisano terapijo. Priporočljivo je, da so študije na ljudeh multicentrične. Ker gre za hrano s probiotičnimi sevi, ti ne smejo imeti nobenih neželenih učinkov.

Šele po izvedenih zgoraj navedenih testih in ustreznih rezultatih se probiotični sev sme vgrajevati v živila oz. primerjati njegove učinke za namene zdravljenja vendar ob pogoju, da so izpolnjeni vsi pogoji označevanja (28).



Slika 3: Smernice za vrednotenje probiotikov v hrani (28).

1.6 Interakcije z zdravili

Gastrointestinalni trakt, predvsem debelo črevo, naseljuje številne bakterije, ki sodelujejo pri prebavi s primarno nalogo fermentacije ogljikovih hidratov in beljakovin, ki se ne prebavijo v zgornjem delu prebavil. Metabolne reakcije, ki jih izvajajo te bakterije in njihovi encimi, imajo sposobnost metabolizirati tudi zdravila in druge ksenobiotike veliko bolj intenzivno kot katerikoli drug del telesa. Ugotovili so, da je metabolna aktivnost prebavne mikroflore primerljiva z metabolno sposobnostjo jetter, vendar s to razliko, da so jetra primarno odgovorna za presnovo molekul z oksidacijo in konjugacijo v polarne visokomolekularne metabolite, medtem ko gastrointestinalne bakterije sodelujejo pri

redukciji in hidrolizi učinkovin v nepolarne nizkomolekularne produkte. Na hitrost in obseg bakterijske presnove vpliva predvsem količina učinkovine, ki doseže distalni del črevesja.

Večina učinkovin se hitro in popolnoma absorbira v zgornjem delu črevesja, zato je njihov stik s črevesnimi bakterijami minimalen, metabolizem do (ne)aktivnih oz. toksičnih produktov pa zanemarljiv. V zadnjih 40. letih prejšnjega stoletja smo beležili le okrog 30 zdravilnih učinkovin, ki so substrati za GIT bakterije, saj se je večina učinkovin aplicirala v oblikah s takojšnjim sproščanjem. Zaradi biofarmacevtske kompleksnosti novejših učinkovin (slaba topnost, slaba permeabilnost ali oboje) ter nujnostjo izdelave in administracije dostavnih sistemov s ciljano dostavo v nižje predele prebavne cevi, je vse več učinkovin na svoji poti v spodnje dele GIT izpostavljenih črevesnim bakterijam. Potencialnemu metabolizmu z bakterijami so lahko izpostavljene tudi učinkovine, ki se absorbirajo iz zgornjega dela prebavil ali jih apliciramo intravensko, saj se lahko s sekrecijo in/ali difuzijo iz krvnega obtoka izločijo preko črevesne stene v črevesni lumen ali pa se izločijo skozi žolč kot konjugati, ki sledijo reciklirnemu procesu, znanemu kot enterohepatično kroženje.

Metabolizem učinkovin z bakterijami je klinično pomemben, saj se učinkovine lahko pretvorijo v farmakološko aktiven, neaktivni ali toksičen produkt. Pomembnost tega pojava se je leta 1993 pokazala na Japonskem trgu z učinkovino sorivudin (obetajoča protivirusna učinkovina), za katero so kasneje ugotovili, da jo črevesne bakterije pretvorijo v (E)-5-(2-bromovinil)uracil, ki lahko inhibira metabolizem sočasno aplicirane protitumorne učinkovine 5-fluorouracila, kar je vodilo v toksične koncentracije te učinkovine. V štiridesetih letih, ko je bila učinkovina na trgu, je zaradi te bakterijsko-metabolne reakcije umrlo 18 ljudi, ki so per os prejemali obe učinkovini, zato so sorivudin takoj po tem odkritju umaknili s trga (29).

1.7 Varnost

EFSA varnim probiotičnim sevom »podeli« naziv »Kvalificirana domneva o varnosti« (QPS), v Združenih državah Amerike pa FDA odobri probiotike z oznako GRAS (Generally recognised as safe - splošno priznan kot varen). Če določen sev ima eno od teh odobritev, se smatra za varnega in se lahko sprosti na trg brez obsežnih zahtev za testiranje, ki je prikazano v organogramu Slike 3.

Verjetnost okužb z mikroorganizmi iz probiotičnega pripravka je v splošnem zelo nizka. Skoraj vsi pacienti, pri katerih je nastopila okužba kot posledica uživanja omenjenih preparatov, običajno predstavljajo posamezničke, katerih porušeni pogoji v prebavnem traktu so že pred samim jemanjem probiotikov dovoljevali kolonizacijo s patogenimi sevi (npr. nenormalnosti srčne zaklopke v primeru endokarditisa, pacienti s katetrom). Večjo dovozetnost do okužb s probiotičnimi sevi ne izkazujejo niti nekatere tvegane populacije: starejši, nosečnice, osebe z oslabljenim imunskim sistemom ali poškodbami prebavne cevi (30).

Da bi zagotovili varnost probiotikov se v preparatih smejo uporabljati le sevi človeškega izvora, ki so bili izolirani v prebavilih zdravih in so dokazano nepatogeni, niso nosilci genov za rezistenco na antibiotike, ne povzročajo endokarditisa ali prebavnih motenj ter ne sodelujejo pri dekonjugaciji žolčnih soli (31).

1.8 Genska modifikacija

Lastnosti in učinke probiotikov lahko proizvajalci z gensko manipulacijo spremenijo tako, da je njihovo delovanje bolj specifično; s takšnimi posegi lahko dosežejo učinkovitejše ubijanje patogenov, nevtralizacijo toksinov, vzpostavitev normalne črevesne mikroflore ter stimulacijo naravne in pridobljene imunosti, kar prispeva k okrepitevi boja gostitelja proti infekcijam in potencialno k zamenjavi antibiotične terapije s probiotiki, s čimer bi se še dodatno lahko izognili nastopu antibiotične rezistence.

Novejše raziskave so usmerjene tudi k uporabi probiotikov kot dostavnih sistemov za cepiva; tako da bi probiotiki sočasno lahko stimulirali prirojeno in pridobljeno imunost, saj pri prehodu skozi lokalne sluznice oponašajo naravne infekte, spodbudijo imunski sistem in tako omogočijo boljši odziv organizma na cepivo in posledično dolgotrajnejši/boljši učinek cepiva. Ker so cepiva definirana kot zdravila z mrtvimi oz. oslabljenimi patogeni, je sočasna uporaba z živimi in razmnoževanja zmožnimi probiotiki trenutno še nemogoča (32).

2 NAMEN DELA

V magistrski nalogi bomo proučili probiotične izdelke (prehranska dopolnila in zdravila), ki so uporabnikom na voljo v lekarnah. Za namen magistrskega dela bomo podatke o probiotičnih izdelkih črpali iz SmPC-jev, navodil za uporabo, embalaže in promocijskih materialov. Izbrane izdelke bomo opredelili kot probiotike oz. sinbiotike, primerjali bomo njihovo kvalitativno in kvantitativno sestavo ter podatke statistično ocenili s programom Office Excel. Glede na pomožne snovi in vrsto farmacevtskih oblik bomo skušali predvideti kinetiko sproščanja probiotičnih kultur in s pomočjo objavljenih podatkov o odpornosti posameznih probiotičnih sevov na pogoje v prebavni cevi (pH, žolčne soli, encimi itd.) bomo ocenili verjetnost dostave zadostnega števila vitalnih in razmnoževanja zmožnih kultur v distalne dele prebavil. Pri ocenjevanju izdelkov bomo pozorni na prehranske in zdravstvene trditve na embalaži ter glede na veljavne smernice ocenili njihovo upravičenost. Poleg podatkov o izdelkih z embalaže bomo proučili tudi literaturo, da bi ocenili varnost sočasnega jemanja probiotikov s predpisanimi zdravili pri populacijah, kjer je uporaba probiotikov smiselna. Pozorni bomo predvsem na potencialne farmakokinetične interakcije. Za učinkovine, kjer bomo ocenili možnost pomembnejših farmakokinetičnih interakcij, bomo preverili lekarniško prakso svetovanja pacientom v teh primerih ter predlagali optimalen dozirni režim.

3 MATERIALI IN METODE

Pri izdelavi magistrske naloge bomo uporabili podatke iz:

- SmPC-jev, PIL-ov in embalaže 31 izbranih izdelkov, ki vsebujejo probiotične kulture,
- Strokovnih člankov,
- Uradnega Lista republike Slovenije,
- Spletnih strani FDA, EFSA.

Podatke bomo obdelali s pomočjo programa Microsoft Excel.

V tabeli III so predstavljeni vsi probiotični izdelki, ki so predmet magistrske naloge.

Tabela III: Izdelki, ki smo ji analizirali

Ime izdelka	Proizvajalec	Informacije	Vir informacije
Linex	Lek	Smpc	CBZ
Linex forte	Lek	Smpc	CBZ
Linex linbi	Lek	Smpc	CBZ
Ors normia	Jadran – Galenski laboratorij	PIL, embalaža	JZ Lekarna Krško
BioGaia Protectis baby	TwoPac AB	embalaža	JZ Lekarna Krško
BioGaia Prodentis	Farmasierra Manufacturing S.L.	embalaža	JZ Lekarna Krško
BioGaia Protectis	Farmasierra Manufacturing S.L.	embalaža	JZ Lekarna Krško
Bion3	Merck	PIL	JZ Lekarna Krško
Bion3 Juniors	Merck	PIL	JZ Lekarna Krško
Bion3 Seniors	Merck	PIL	JZ Lekarna Krško
Biosympa	CSM Il piacere della salute s.r.l.	embalaža	Lekarna Murgle, Ljubljana
Cysbiotic	Medicinalis	PIL, embalaža	JZ Lekarna Krško
Granoflor	Fidimed	PIL	Lekarna-Plavž.com (33, 34)
Lactogyn	Jadran - Galenski laboratorij	PIL	JZ Lekarna Krško
Lactolady	Vitabalans	embalaža	Lekarna Murgle, Ljubljana
Lactoseven	Vitabalans	embalaža	Lekarna Murgle, Ljubljana
Lepicol baby	Lepicol Ltd.	embalaža	JZ Lekarna Krško
Lepicol	Probiotics International Ltd.	embalaža	JZ Lekarna Krško
Neo Fermental Max	Esi	embalaža	JZ Lekarna Krško
Neo Yogermina Junior	Revi Pharma	PIL, embalaža	JZ Lekarna Krško
Neo Yogermina 100	Revi Pharma	PIL, embalaža	JZ Lekarna Krško
Neo Yogermina 100, kapsule	Dietetics pharma	embalaža	JZ Lekarna Krško
Probio	Nutrilab	PIL	Lekarnar.com (35)
Prolife pastile	Zeta Farmaceutici S.p.A.	embalaža	JZ Lekarna Krško
Prolife kapsule	Zeta Farmaceutici S.p.A.	embalaža	JZ Lekarna Krško
Prolife encimi	Zeta Farmaceutici S.p.A.	embalaža	JZ Lekarna Krško
Prolife suspenzija	Zeta Farmaceutici S.p.A.	embalaža	JZ Lekarna Krško
Waya AB	Medis	PIL, embalaža	JZ Lekarna Krško
Waya AD	Medis	PIL	JZ Lekarna Krško
Waya IT	Medis	PIL, embalaža	JZ Lekarna Krško
Waya LGG	Medis	PIL, embalaža	JZ Lekarna Krško

4 REZULTATI

Analizirali smo 31 probiotičnih izdelkov, ki so potrošnikom na voljo v lekarnah. Podatki o posameznem pripravku so zbrani in prikazani v tabeli IV.

Tabela IV: Zbrani podatki za vse analizirane proizvode (ime proizvoda s pripadajočo šifro, opredelitev izdelka, vrsta proizvoda, ...), pridobljeni iz embalaže, PIL-ov ter SmPC-jev.

Ime proizvoda	Opredelitev (probiotik, sinbiotik)	Vrsta proizvoda	Vrsta organizmov v proizvodu	Število bakterij na odmerek	Odmerjanje	Način jemanja	Shranjevanje	Opozorila
LINEX (P01)	Probiotik	OTC Zdravilo	Lactobacillus acidophilus (species L. gasseri) Bifidobacterium infantis Enterococcus faecium	>1,2 x 10 ⁷ (vseh skupaj)	2 kapsuli 3x dnevno	Med obrokom Vsebina se lahko jemlje brez (želatinske) ovojnice - stresite na žličko	pri T do 25°C	Ne priporočajo nosečnicam in doječim materam, ker ni klinični testi niso bili izvedeni. Ne z alkoholom in vročimi napitki. Izdelek hranite v originalni embalaži. Driske pri otrocih, mlajših od šestih let, ne smemo zdraviti brez zdravniškega nadzora. Če hkrati jemljete antibiotike jih morate popiti v razmiku najmanj 3 ur. Ni primerno za osebe z intoleranco na sladkorje. Ni primerno za osebe s preobčutljivostjo na katero koli sestavino.
LINEX forte (P02)	Sinbiotik	OTC Zdravilo	Lactobacillus acidophilus (LA-5) Bifidobacterium animalis subsp. Lactis (BB-12)	>1x10 ⁹ >1x10 ⁹	1 kapsulo 1-3x dnevno	Enako kot zgoraj	Enako kot zgoraj	Enako kot zgoraj
LINEX limbi (P03)	Probiotik	OTC Zdravilo	Bifidobacterium animalis subsp. lactis (BB-12)	>1x10 ⁹	1 vrečica 1 do 2x na dan	Med obrokom razredčen z vodo,sokom, mlekom, hrano za dojenčke.	Enako kot zgoraj	Driske pri otrocih, mlajših od šestih let, je treba zdraviti pod zdravniškim nadzorom. Izdelek hranite v originalni embalaži. Če hkrati jemljete antibiotike jih morate popiti v razmiku najmanj 3 ur. Ne z vročimi napitki.
ORS NORMIA (P04)	Sinbiotik	Hrana za posebne medicinske namene	Lactobacillus rhamnosus LGG Bifidobacterium BB-12	10 ⁸ -10 ¹⁰	2-3 vrečke na dan	Med ali po obroku, s tekočino ali hrano sobne temperature	pri T do 25°C, zaščiteno pred vlago/na suhem, zaščiteno pred svetlobo/shranjevati na temnem, izven dosega otrok.	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Če hkrati jemljete antibiotike jih morate vzeti v razmiku najmanj 2 ur.
BIOGAIA kapljice (P05)	Probiotik	PD	Lactobacillus reuteri DSM 17938 (L.reuteri Protectis)	>1x10 ⁸	5 kapljic na dan	Med obrokom. Pred uporabo pretresi.	pri T do 25°C, zaščiteno pred vlago/na suhem, odprto hranite do 3 mesecev, izven dosega otrok	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoveženo prehrano. Izdelek je popolnoma varen.
BIOGAIA tablete (P06)	Probiotik	PD	Lactobacillus reuteri DSM 17938 (L.reuteri Protectis)	>1x10 ⁸	1 tableta na dan	Ni podatka	pri T do 25°C, izven dosega otrok	Enako kot zgoraj

Nadaljevanje tabele IV:

Ime proizvoda	Opredelitev (probiotik, sinbiotik)	Vrsta proizvoda	Vrsta organizmov v proizvodu	Število bakterij na odmerek	Odmerjanje	Način jemanja	Shranjevanje	Opozorila
BIOGAIA ProDentis (P07)	Probiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus reuteri DSM 17938 Lactobacillus reuteri ATCC PTA 5289 (L. reuteri Prodentis)	$>2 \times 10^8$ (obeh skupaj)	1-2 pastili na dan	Po umivanju zob raztopiti v ustih	pri T do 25°C, izven dosega otrok	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano. Izdelek je popolnoma varen. Prekomerno jemanje lahko povzroči odvajalni učinek.
BION3 (P08)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus gasseri PA 16/8 Bifidobacterium bifidum MF 20/5 Bifidobacterium longum SP 07/3	10^7 (vseh)	1 tableta na dan	S kozarcem vode, pogolnjite cele, ne žvečiti.	Izven dosega otrok.	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano. Izdelek se dobro prenaša. Če hkrati jemljete antibiotike jih morate popiti v razmiku najmanj 2 ur. Varno za diabetike.
BION3 Juniors (P09)	Probiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus gasseri PA 16/8 Bifidobacterium bifidum MF 20/5 Bifidobacterium longum SP 07/3	10^7 (vseh)	1 tableta na dan	Prežvečiti po obroku	Enako kot zgoraj	Za boljšo učinkovitost je priporočeno jemanje 30-60 dni, lahko večkrat na leto. Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano. Izdelek se dobro prenaša. Ni primerno za osebe s preobčutljivostjo na katero koli sestavino
BION3 Seniors (P10)	Probiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus gasseri PA 16/8 Bifidobacterium bifidum MF 20/5 Bifidobacterium longum SP 07/3	10^7 (vseh)	1 tableta na dan	Pogolnjite cele s kozarcem vode, ne žvečite	Enako kot zgoraj	Za boljšo učinkovitost je priporočeno jemanje 30-60 dni, lahko večkrat na leto. Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano. Ni primeren za otroke mlajše od 12 let. Izogibajte se sočasni uporabi drugih pripravkov, ki vsebujejo vitamina A ali D. Ni primerno za: osebe s preobčutljivostjo na katero koli sestavino, ledvične bolnike (renalna insuficiencia), bolnike s hiperkalcemijo, bolnike s hiperparatiroidizmom, bolnike s hipertireozo. Se dobro prenaša.
BIOSYMPA (P11)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Kluyveromyces Marxianus Fragilis B0399 (Tulvar B0399)	Ni podatka	1 kapsula 2x na dan	Z malo vode, Vsebina se lahko jemlje brez (želatinske) ovojnica - stresite na žličko	Zaščiteno pred vlago/na suhem, izven dosega otrok	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano. Izdelek hranite v originalni embalaži.
CYSBIOTIC (P12)	Probiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus rhamnosus Rosell-11ND	$\geq 1 \times 10^9$	2 kapsuli na dan	Ni podatka	pri sobni T, zaščiteno pred vlago/na suhem, izven dosega otrok	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano.

Nadaljevanje tabele IV:

Ime proizvoda	Opredelitev (probiotik, sinbiotik)	Vrsta proizvoda	Vrsta organizmov v proizvodu	Število bakterij na odmerek	Odmerjanje	Način jemanja	Shranjevanje	Opozorila
GRANOFLOR (P13)	Probiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus acidophilus La-14 Lactobacillus plantarum Lp-115 Lactobacillus paracasei Lpc-37 Lactobacillus casei Lc-11 Bifidobacterium lactis B1-04 Bifidobacterium breve Bb-03 Bifidobacterium longum B1-0	1×10^{10} (vseh)	2 kapsuli na dan	Med ali po obroku, s kozarcem vode	Izven dosega otrok	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano.
LACTOGYN (P14)	Probiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus rhamnosus GR-1 Lactobacillus reuteri RC-14	$10^8\text{--}10^{10}$ (vseh)	1-2 kapsuli na dan	Ni podatka	v hladilniku (2-8°C), po prvem odprtju pri T do 25 °C, izven dosega otrok	Enako kot zgoraj
LACTOLADY (P15)	Probiotik	Prehransko dopolnilo	4 sevi laktobacilov in bifidobakterij	1×10^9	1 tabletta 2x na dan	Celo tableto s kozarcem vode	pri sobni T, izven dosega otrok	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano. Ni primeren za otroke mlajše od 3 let. Proizvodi, ki vsebujejo brusnico, lahko vplivajo na učinek antikoagulantov v krvi.
LACTOSEVEN (P16)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus acidophilus Lactobacillus casei Lactobacillus plantarum Lactobacillus reuteri Lactobacillus rhamnosus Bifidobacterium longum Streptococcus thermophilus	1×10^9 (vseh)	1-2 tableti na dan	Celo tableto s kozarcem vode	Enako kot zgoraj	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano.
LEPICOL baby (P17)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus casei PXN37 Lactobacillus rhamnosus PXN54 Streptococcus thermophilus PXN66 Bifidobacterium breve PXN25 Lactobacillus acidophilus PXN35 Bifidobacterium infantis PXN27 Lactobacillus bulgaricus PXN39.	1×10^9 (vseh)	1-2 vrečki na dan	Med ali po obroku, razredčen z vodo, sokom, mlekom, hrano za dojenčke	na hladnjem, zaščiteno pred svetlobo, izven dosega otrok	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano. Ni primerno za osebe z intoleranco na sladkorje
LEPICOL (P18)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus rhamnosus PXN 54 Bifidobacterium bifidum PXN 23 Lactobacillus acidophilus PXN 35 Lactobacillus plantarum PXN 47 Lactobacillus bulgaricus PXN 39	$1,2 \times 10^8$ $4,2 \times 10^7$ 6×10^7 $3,72 \times 10^8$ 6×10^6	1 vrečka na dan; v primeru diareje 2x1	Pred ali po obroku, razredčen z vodo, s sokom ali jogurtom	Zaščiteno pred svetlobo/na temnem, zaščiteno pred vlago/na suhem, izven dosega otrok	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano. Če ste pred kratkim imeli operacijo na črevesju se pred jemanjem posvetujte z zdravnikom. Ob jemanju pijte dovolj tekočine. Ni primerno za osebe z intoleranco na sladkorje.

Nadaljevanje tabele IV:

Ime proizvoda	Opredelitev (probiotik, sinbiotik)	Vrsta proizvoda	Vrsta organizmov v proizvodu	Število bakterij na odmerek	Odmerjanje	Način jemanja	Shranjevanje	Opozorila
NEO FERMENTAL max (P19)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Bacillus coagulans	2×10^9	1 kapsula na dan	Pred ali po obroku	Zaščiteno pred svetlobo/na temnem, zaščiteno pred vlago/na suhem, izven dosega otrok	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano. Izdelek hrani v originalni embalaži.
NEO YOGERMINA JUNIOR (P20)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus acidophilus Lactobacillus acidophilus Lactobacillus paracasei Lactobacillus plantarum Bifidobacterium lactis	$>1,2 \times 10^{10}$ (vseh)	1 stekleničko na dan	Po obroku. Pred uporabo pretresi. Pred uporabo zavijte zamašek v desno do konca, tako odprete v zamašku shranjene kulture.	Poleti v hladilniku (2-8°C), drugače pri T do 23 °C, zaščiteno pred svetlobo/na temnem, zaščiteno pred vlago/na suhem, izven dosega otrok	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano
NEO YOGERMINA 100 napitek (P21)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus acidophilus Lactobacillus acidophilus Lactobacillus paracasei Lactobacillus plantarum Bifidobacterium lactis	$>1,6 \times 10^{10}$ (vseh)	1 steklenička na dan	Enako kot zgoraj.	Enako kot zgoraj.	Enako kot zgoraj.
NEO YOGERMINA 100 kapsule (P22)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus acid LAB 7050 Bifidobacterium lactis B1-04TM Lactobacillus acidophilus La-14TM Lactobacillus paracasei Lpc-37TM Lactobacillus plantarum Lp-115TM	$>1,6 \times 10^{10}$ (vseh)	1 kapsula 2x na dan	Celo kapsulo po obroku, s kozarcem vode	pri T do 23 °C, zaščiteno pred svetlobo/na temnem, zaščiteno pred vlago/na suhem, izven dosega otrok.	Enako kot zgoraj.
PROBIO (P23)	Probiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus acidophilus Lactococcus lactis Bifidobacterium longum Lactobacillus rhamnosus Bifidobacterium breve Bifidobacterium bifidum	$2,25 \times 10^9$ $0,75 \times 10^9$ $0,75 \times 10^9$ $0,5 \times 10^9$ $0,5 \times 10^9$ $0,25 \times 10^9$	1-2 kapsuli na dan	S kozarcem vode	Izven dosega otrok.	Enako kot zgoraj.
PROLIFE PASTILE (P24)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Bacillus coagulans MTCC 5260 (Lactobacillus sporogenes)	$>2,5 \times 10^8$	2 pastili na dan	Na prazen želodec	pri T do 25 °C, zaščiteno pred svetlobo/na temnem, zaščiteno pred vlago/na suhem, izven dosega otrok.	Enako kot zgoraj.
PROLIFE kapsule (P25)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Bacillus coagulans MTCC 5260 (Lactobacillus sporogenes)	$>3 \times 10^8$	2 kapsuli na dan	Na prazen želodec, s tekočino ali hrano sobne temperature, Vsebina se lahko jemlje brez (želatinske) ovojnica - stresite v kozarec z vodo.	Enako kot zgoraj.	Enako kot zgoraj.

Nadaljevanje tabele IV:

Ime proizvoda	Opredelitev (probiotik, sinbiotik)	Vrsta proizvoda	Vrsta organizmov v proizvodu	Število bakterij na odmerek	Odmerjanje	Način jemanja	Shranjevanje	Opozorila
PROLIFE ENCIMI (P26)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Bacillus coagulans MTCC 5260 (Lactobacillus sporogenes) Lactobacillus plantarum R1012	$\geq 1 \times 10^9$	2 kapsuli na dan	Po obroku	pri T do 25 °C, zaščiteno pred vlago/na suhem, izven dosega otrok.	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano. Ni primeren za nosečnice in doječe matere.
PROLIFE suspenzija (P27)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Bacillus coagulans MTCC 5260 (Lactobacillus sporogenes) Lactobacillus acidophilus Streptococcus thermophilus Lactobacillus bulgaricus Bifidobacterium bifidum	$> 2,1 \times 10^9$ (vseh)	1 plastenka na dan	Na prazen želodec. Pred uporabo zavijte zamašek v desno do konca, tako odprete v zamašku shranjene kulture in pretresite.	pri T do 25 °C, zaščiteno pred svetlobo/na temnem, zaščiteno pred vlago/na suhem, izven dosega otrok	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano.
WAYA AB (P28)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Bifidobacterium bifidum (NIZO 3804) Bifidobacterium lactis (NIZO 3680) Lactobacillus (L.) acidophilus(2x) (NIZO 3678, NIZO 3887) L. paracasei (NIZO 3672) L. plantarum (NIZO 3684) L. rhamnosus (NIZO 3689) L. salivarius (NIZO 3675) Enterococcus faecium (NIZO3886)	$> 5 \times 10^9$ (vseh)	1-2 vrečki vsak dan	Na prazen želodec, razredčen z vodo, mlekom ali jogurtom, po vmešanju v želeno tekočino pustimo stati 10 minut in nato spijemo.	pri T do 25 °C, zaščiteno pred vlago/na suhem, izven dosega otrok	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano. Izdelek hranite v originalni embalaži. Z zdravnikom ali farmacevtom se posvetujte v naslednjih primerih: pred uporabo (skupaj z drugimi zdravili), če imate zdravstvene težave ter če ste noseči ali dojite. Če hkrati jemljete antibiotike jih morate vzeti v razmiku najmanj 2 ur. Ni primerno za osebe s preobčutljivostjo na katero koli sestavino.
WAYA AD (P29)	Probiotik	Prehransko dopolnilo	Bifidobacterium bifidum (NIZO 3804) Lactobacillus (L.) acidophilus (NIZO 3678) L. casei (NIZO 3889) L. plantarum (NIZO 3684) L. rhamnosus (NIZO 3689) L. salivarius (NIZO 3675) Lactococcus lactis (NIZO 3891)	$> 5 \times 10^9$ (vseh)	1 vrečko vsak dan	Na prazen želodec, razredčen z vodo, mlekom ali jogurtom, po vmešanju v želeno tekočino pustimo stati 10 minut in nato spijemo.	Enako kot zgoraj.	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano. Izdelek hranite v originalni embalaži. Z zdravnikom ali farmacevtom se posvetujte v naslednjih primerih: pred uporabo (skupaj z drugimi zdravili), če imate zdravstvene težave ter če ste noseči ali dojite. Izdelek jemljite vsaj 7 dni. Ni primerno za osebe s preobčutljivostjo na katero koli sestavino.

Nadaljevanje tabele IV:

Ime proizvoda	Opredelitev (probiotik, sinbiotik)	Vrsta proizvoda	Vrsta organizmov v proizvodu	Število bakterij na odmerek	Odmerjanje	Način jemanja	Shranjevanje	Opozorila
WAYA IT (P30)	Sinbiotik	Prehransko dopolnilo	Lactobacillus (L.) casei (NIZO 3692) L. rhamnosus (NIZO 3689) L. plantarum (NIZO 3684) Bifidobacterium (B.) bifidum (NIZO 3804) B. lactis (NIZO 3882) B. longum (NIZO 3694)	>4x10 ⁹ (vseh)	1 vrečka vsak dan	Na prazen želodec, razredčen z vodo, mlekom ali jogurtom, po vmešanju v želeno tekočino pustimo stati 10 minut in nato spijemo.	pri T do 25 °C, zaščiteno pred vlago/na suhem, izven dosega otrok	Priporočene dnevne količine se ne sme prekoračiti. Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoveženo prehrano. Izdelek hranite v originalni embalaži. Z zdravnikom ali farmacevtom se posvetujte v naslednjih primerih: pred uporabo (skupaj z drugimi zdravili), če imate zdravstvene težave ter če ste noseči ali dojite. Izdelek jemljite vsaj 7 dni. Ni primerno za osebe s preobčutljivostjo na katero koli sestavino.
WAYA LGG (P31)	Probiotik	Dietetično živilo	Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 53103)	>10 ⁹	10 kapljic na dan (otroci starejši od 2 let), 7 kapljic na dan otroci mlajši od 2 let	Med obrokom, razredčen z vodo, sokom, mlekom, hrano za dojenčke. Pred uporabo pretrsni.	pri T do 25 °C, zaščiteno pred vlago/na suhem, zaščiteno pred svetlobo/ na temnem, odprto hraniti do 1 meseca, izven dosega otrok	Izdelek hranite v originalni embalaži. Živilo uporabljajte samo pod zdravniškim nadzorom. Izdelek jemljite vsaj 14 dni. Živila ne uporabljajte kot edini vir hrane. Če hkrati jemljete antibiotike jih morate popiti v razmiku najmanj 2 ur.

4.1 Pravni status analiziranih izdelkov s probiotičnimi kulturami

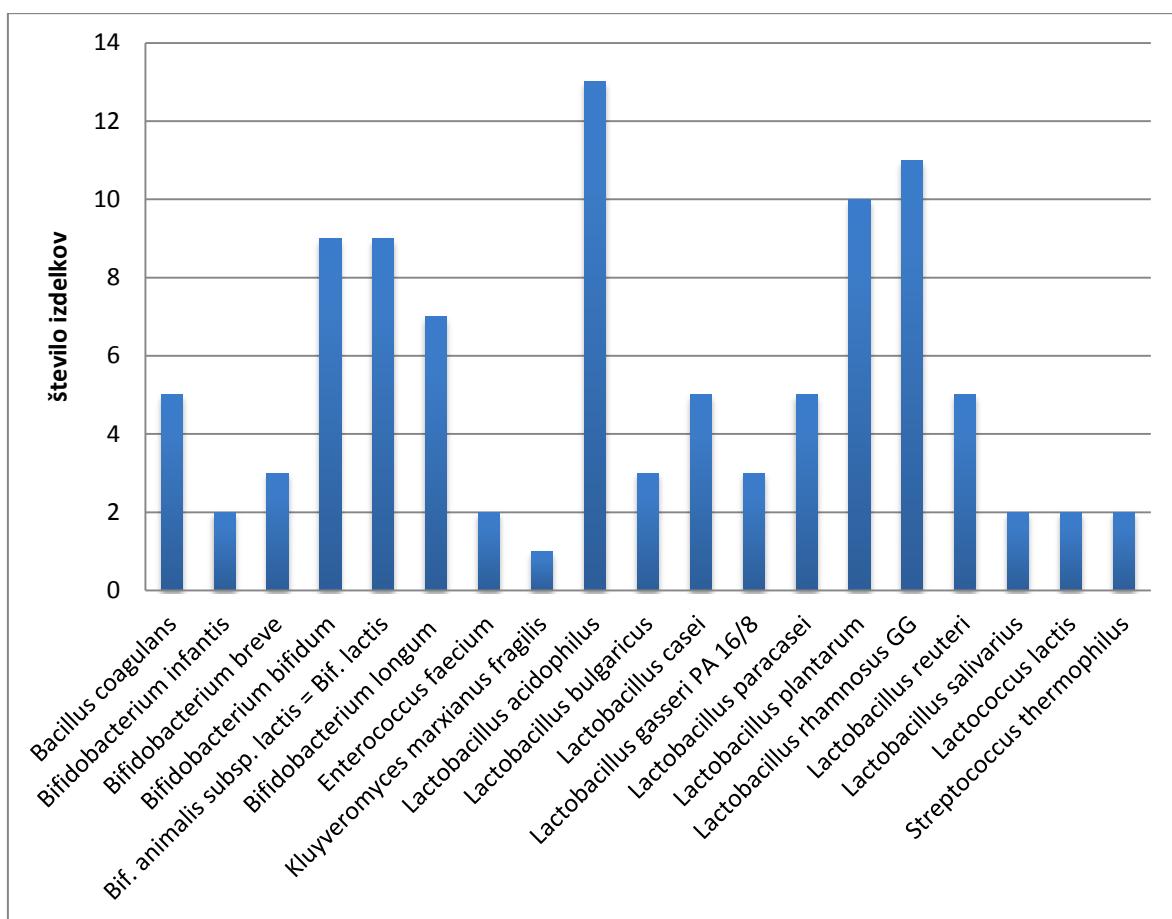
Od preverjenih izdelkov jih večina nosi status prehranskih dopolnil, 3 so registrirani kot OTC zdravila, eden je na voljo kot hrana za posebne medicinske namene in eden kot dietetično živilo.

4.2 Sestava analiziranih probiotikov

4.2.1 Kvalitativna vsebnost

❖ Probiotični sevi

Probiotični sevi, ki nastopajo v analiziranih izdelkih na slovenskem tržišču so predstavljeni na Sliki 4. Sevi rodov *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ali kombinacije obeh se uporabljajo najpogosteje. V kombinaciji z njimi ali posamično pa v pripravkih lahko zasledimo tudi *Bacillus coagulans*, *Enterococcus faecium*, *Kluyveromyces marxianus fragilis* in *Streptococcus thermophilus* (Slika 4).



Slika 4: Zastopanost posameznih probiotičnih sevov v analiziranih izdelkih.

Nekateri probiotiki imajo naveden tudi izvor seva:

- Linex forte (P02): *Lactobacillus acidophilus LA-5* in *Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12* (P03) (Chr. Hansen A/S Hørsholm, Denmark),
- Biogaia (P05, P06, P07): *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 (DSM, Deutsche Sammling von Mikroorganismen, Braunschweig, Nemčija), *Lactobacillus reuteri* ATCC PTA 5289 (ATCC, American Type Culture Collection),
- Bion3 (P08, P09, P10) izdelki vsebujejo *Bifidobacterium longum* SP 07/3 (SP Technical Research Institute of Sweden, Borås, Švedska),
- Cysbiotic (P12): *Lactobacillus rhamnosus* Rosell-11ND (Rosell Institut Lallemand Human Nutrition, Birkerød, Danska),
- Lactogyn (P14) vsebuje sev *Lactobacillus reuteri* RC-14 (R.C. Institute of Technology, Delfi, Indija),
- Lepicol (P17, P18): vsi sevi imajo oznako PXN (Protexin probiotics, Somerset, Velika Britanija),
- Vsi izdelki Prolife (P24, P25, P26, P27) vsebujejo *Bacillus coagulans* MTCC 5260 (MTCC, Microbial Type Culture Collection and Gene Bank, Chandigarh, Indija),
- Vsi izdeliki WAYA (P28, P29, P30, P31) vsebujejo seve iz NIZO Kernhemseweg, Ede gld, Nizozemska.

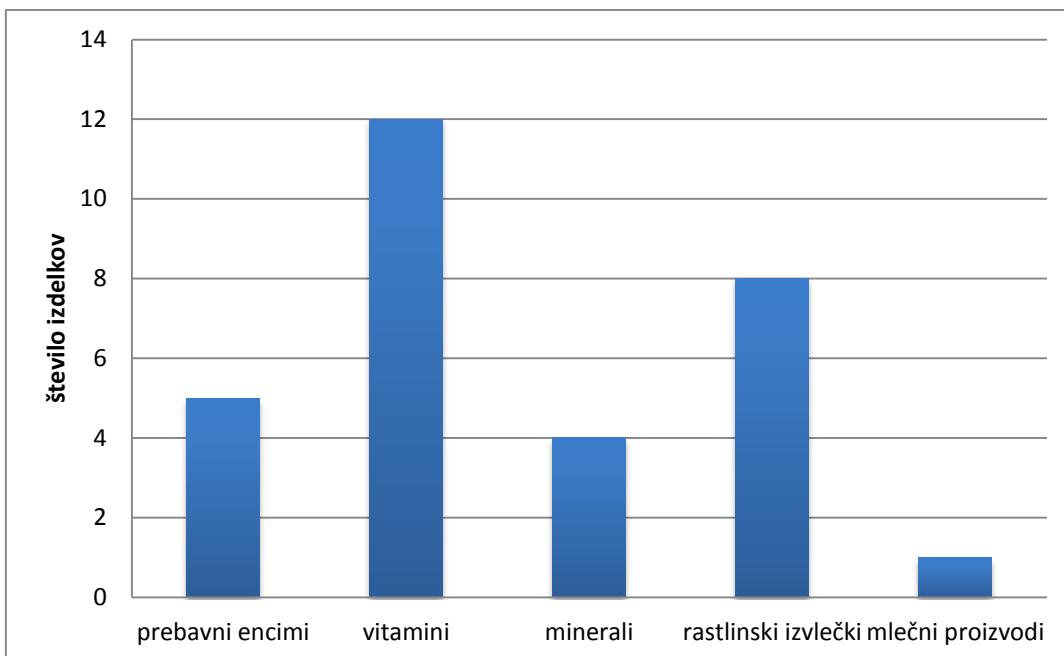
Ugotovili smo, da je monokomponentnih izdelkov (t.j. probiotičnih izdelkov, ki vsebujejo samo eno kulturo oz. sev) 9, medtem ko po številu prednjačijo večkomponentni probiotični izdelki, ki jih je kar 22, kjer nastopata 2, 3, 4, ali več kot 5 probiotičnih kultur.

❖ Druge aktivne sestavine izdelkov s probiotiki

Poleg probiotičnih kultur so nekateri analizirani preparati (celokupno 17) vsebovali tudi druge aktivne/glavne sestavine (Slika 5):

- prebavne encime amilazo (P26, P28, P30), lipazo (P26), proteazo (P26),
- vitamine:
 - A (P08, P10),
 - B₁ (P08, P10, P19, P20, P21, P22, P24, P25, P26, P27),
 - B₂ (P08, P10, P19, P24, P25, P26, P27),
 - B₃ (P08, P09, P10, P20, P21, P22),

- B₅ (P09, P10, P20, P21, P22),
- B₆ (P08, P09, P10, P19, P20, P21, P22, P24, P25, P26, P27),
- B₇ (P08, P09, P10),
- B₉ (P08, P09, P10, P20, P21, P22),
- B₁₂ (P08, P09, P10, P19, P20, P21, P22, P24, P25, P26, P27),
- C (P08, P09, P10, P23),
- D (P08, P09, P10),
- E (P08, P09, P10)
- minerale:
- cink (P08, P09, P10),
- fosfor (P08),
- jod (P08, P10),
- kalcij (P08, P09),
- kalij (P08),
- kloridi (P08),
- krom (P08, P10),
- magnezij (P08, P10, P29),
- mangan (P08, P10, P29),
- molibden (P08, P10),
- selen (P08, P10),
- železo (P08, P09, P10),
- rastlinske izvlečke:
- ginsenga (P10),
- borovnice (P10),
- brusnice (P12, P15),
- aloe vere (P19, P20, P21, P22),
- indijskega trpotca (P18),
- lutein (P10),
- mlečne proizvode (sirotka kozjega mleka v prahu) (P11).



Slika 5: Zastopanost drugih aktivnih sestavin v prehranskih dopolnilih, ki vsebujejo probiotične kulture.

❖ Pomožne snovi

Več kot polovica analiziranih probiotičnih izdelkov vsebuje nerazgradljive polisaharide, imenovane prebiotiki, ki se razgradijo - fermentirajo šele v debelem črevesju s pomočjo bakterijskih encimov. Med prebiotike uvrščamo inulin, fruktooligosaharide (glukoza + fruktoza + saharoza), glukooligosaharide, oligofruktozo, betaglukane, arabinogalaktane in kombinacije le-teh. Probiotičnim izdelkom, ki vsebujejo tudi prebiotike, pravimo sinbiotiki. Med analiziranimi 31 pripravki smo ugotovili, da je kar 17 sinbiotikov.

Poleg prebiotikov smo bili pozorni tudi na izbor pomožnih snovi v prehranskih dopolnilih, zdravilih in dietetičnih živilih s probiotičnimi kulturami (Tabela V). Ugotovili smo, da pomožne snovi glede na njihovo vlogo v običajnih farmacevtskih oblikah v omenjenih izdelkih lahko služijo kot:

- polnila (dekstrin, glukoza, celuloza, fruktoza, izomaltoza, koruzni maltodekstrin, koruzni škrob, laktoza, maltodekstrin, mikrokristalna celuloza, premrežen natrijev karmelozat, saharoza, škrob),
- veziva (dekstrin, glukoza, hidroksipropilmetil celuloza, maltodekstrin, rastlinsko olje, rastlinske mašcobe),

- drsljivci (koloidni silicij, koloidni silikat, koruzno olje, magnezijeve soli maščobnih kislin, magnezijev stearat, mikrokristalna celuloza, olje s srednjeverižnimi trigliceridi, palmovo olje, rastlinsko olje, rastlinske maščobe, smukec),
- snovi za povečevanje viskoznosti (dekstrin, karagenan, ksantanska guma, natrijevakarboksimetil celuloza),
- razgrajevalci (mikrokristalna celuloza, monoglicerid – rastlinski),
- emulgatorji (karagenan, ksantanska guma, sorbitan monostearat),
- tvorilci gela (karagenan),
- tabletne obloge (celuloza, hidroksimetil celuloza, hidroksipropil celuloza, hidroksipropilmetyl celuloza, izomaltoza, maltodekstrin, polivinilpirolidon, polivinilpolipirolidon),
- tvorci matriksa za podaljšano sproščanje (hidroksipropil celuloza, hidroksipropilmetyl celuloza),
- kapsule (hidroksipropilmetylceluloza – rastlinska, želatina),
- konzervansi (kalijev sorbat, natrijev benzoat, natrijev citrat),
- barvila (indigo carmine, rdeča pesa, rumen železov oksid, rdeč železov oksid, titanov dioksid),
- arome (amarena, eksotično sadje, hruška, jagoda, karamela, limona, limeta, mandarina, mentol, olje poprove mete, vanilija),
- regulatorji kislosti (citronska kislina, jabolčna kislina, trinatrijev citrat),
- sladila (glukoza, fruktoza, izomaltoza, kalijev acesulfam, ksilitol, laktosa, natrijev saharinat, saharoza, sorbitol, sukraloza) (36).

Tabela V: Pomožne snovi v izdelkih s probiotičnimi kulturami.

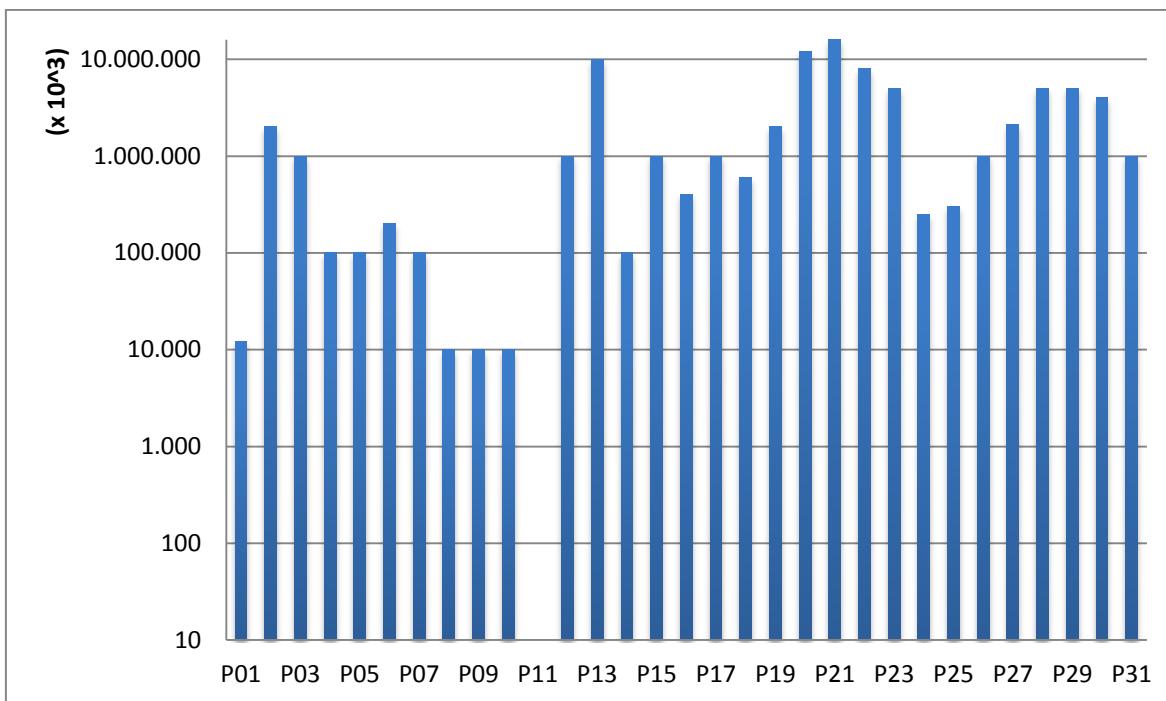
Pomožna snov	Izdelki	Pomožna snov	Izdelki	Pomožna snov	Izdelki
Amarena, aroma	P21	Koruzni škrob	P08, P09, P15, P28, P29, P30	Palmovo olje	P06, P07
Aroma	P27, P28, P30	Koruzno olje	P31	Polivinilpirolidon	P08
Citronska kislina	P06, P20, P21, P24, P25, P26, P27	Krompirjev škrob	P01, P02, P12, P23	Polivinilpolipirolidon	P08
Celuloza	P08, P13	Ksantanska guma	P24	Premrežen natrijev karmelozat	P15
Dekstrin	P01, P08, P09	Ksilitol	P06	Rastlinske maščobe	P09
Dikalcijski fosfat	P15	Laktoza	P01	Rastlinsko olje	P08, P09
Eksotično sadje	P29	Limona	P06	Rdeča pesa	P09
Fruktoza	P20, P21, P27	Limeta	P06	Rumeni železov oksid	P02
Glukoza	P08, P09, P14	Maltodekstrin	P03, P09, P04, P24, P25, P26, P27, P28, P29, P30	Saharoza	P04, P24
Glukoza, brezvodna	P02, P04	Magnezijeve soli maščobnih kislín	P09, P13, P15	Silicijev dioksid	P04, P05, P08, P09, P15, P26, P31
Hidroksimetil celuloza	P08	Magnezijev stearat rastlinskega izvora	P08, P23	Silikat	P21, P22
Hidroksipropilmetyl celuloza/hipromeloza	P02, P11, P12, P13, P22, P23	Magnezijev stearat	P01, P02, P12, P14, P19, P21, P22, P24, P25, P26	Smukec	P05, P19, P21, P24
Hidroksipropil celuloza	P08	Mandarina	P21	Sorbitan monostearat	P11
Hruška	P20	Mentol	P07	Sorbitol	P09, P20, P21, P24
Indigo carmine	P25	Mikrokristalna celuloza	P02, P14, P15, P19, P24, P26	Sukraloza	P07
Izomaltoza	P06, P07	Mleko v prahu	P04	Škrob	P01, P02, P11, P14
Jabolčna kislina	P09	Monoglycerid (rastlinski)	P08	Titanov dioksid	P11, P14, P22, P25, P26
Jagoda	P09, P20	Natrijev benzoat	P20, P21, P27	Trinatrijev citrat	P24, P25, P26, P27
Karamela	P20	Natrijev citrat	P20, P21	Vanilija	P27
Kalijev acesulfam	P09	Natrijeva karboksimetil celuloza	P08,	Železov oksid	P08, P22
Kalijev sorbat	P20, P21, P27	Natrijev saharinat	P09	Rdeči železov oksid	P01, P14, P19
Koloidni silicij	P24, P25, P27	Olje s srednjeverižnimi trigliceridi	P05	Želatina	P19, P25, P26
Koloidni silikat	P20	Olje mete poprove	P07	Karagenan	P20, P21

4.2.2 Kvantitativna vsebnost

Na manj kot polovici (11 od 31) analiziranih izdelkov smo zasledili deklarirano število posameznih sevov, kot to zahtevajo smernice glede označevanja probiotičnih kultur na prehranskih dopolnilih. Pri preostalih izdelkih (19 od 31) je podano le skupno število bakterij, ki se giblje med 1×10^7 in $1,6 \times 10^{10}$ CFU (Slika 6). Na izdelku Lactolady (P15) prisotni sevi niso poimenovani. Pri Biosympa (P11) prehranskemu dopolnilu pa je sev sicer pravilno deklariran, njegovo število pa ni navedeno.

Pravilno poimenovani bakterijski sevi s pravilno deklarirano vsako vrsto seva posebej so:

- trije izdelki (P19, P24, P25), ki vsebujejo ***Bacillus coagulans*** kot samostojen sev, v katerih se število bakterij giblje v razponu od vsaj $2,5 \times 10^8$ CFU do 2×10^9 CFU,
- dva izdelka (P05, P07), ki vsebujejo kot samostojni sev ***Lactobacillus reuteri***, z vsebnostjo vsaj 1×10^8 CFU (različna je farmacevtska oblika – peroralne kapljice in pastile; isti proizvajalec),
- štirje izdelki z ***Lactobacillus rhamnosus***, v dveh (P12, P31) kot samostojen sev (vsebnost vsaj 1×10^9 CFU; eno kot dietetično živilo v obliki kapljic namenjen dojenčkom in otrokom, drugi pa je prehransko dopolnilo namenjeno odraslim ženskam), v dveh (P18, P23) pa v kombinaciji z drugimi sevi (vsebnost $1,2 \times 10^8$ in 5×10^8 CFU),
- v dveh zdravilih (P02, P03), kjer se nahaja ***Bifidobacterium animalis subsp. lactis (BB-12)*** v vsaj 1×10^9 CFU (prašek, namenjen otrokom, in kapsule).
- ***Lactobacillus acidophilus*** se nahaja v treh izdelkih. Prvi (P02) je zdravilo (kapsule) in vsebuje vsaj 1×10^9 CFU, drugi (P18) je prehransko dopolnilo v obliki praška, vsebuje 6×10^7 CFU, tretji (P23), prav tako prehransko dopolnilo, v obliki kapsule, vsebuje $2,25 \times 10^9$ CFU.
- ***Bifidobacterium bifidum*** se nahaja v dveh prehranskih dopolnilih. V prvem (P18) je v obliki praška, ki vsebuje $4,2 \times 10^7$ CFU, drugi (P23) pa je v kapsuli, ki vsebuje $2,5 \times 10^8$ CFU.



Slika 6: Skupno število sevov v posameznih izdelkih v enem odmerku v logaritemski skali. Na izdelku P11 ni zabeleženih podatkov o številu mikroorganizmov.

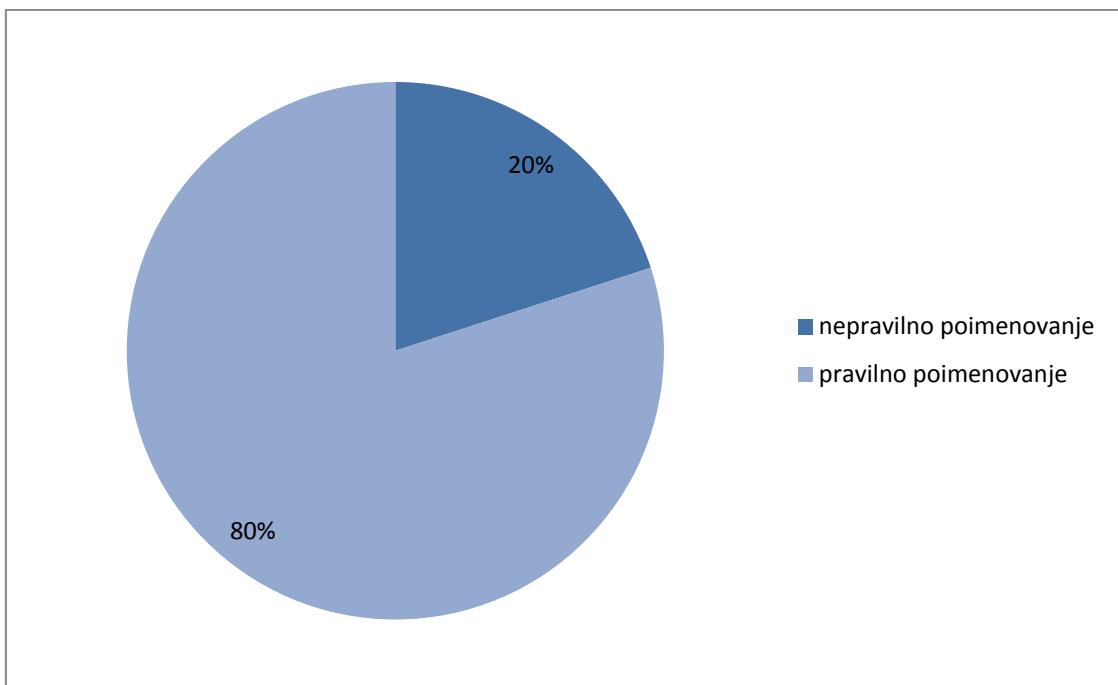
4.3 Pravilnost poimenovanja probiotičnih sevov

Pravilnost zapisa imen probiotičnih mikroorganizmov, navedenih na deklaracijah, smo preverili na seznamu priznanih bakterijskih imen »Approved Lists of Bacterial Names«, ki je dostopen na internetu (37).

Ugotovili smo, da je večina izdelkov poimenovanih pravilno (Slika 7), izjema pa so trije izdelki Neo Yogermina (P20, P21, P22), kjer je napačno zapisano ime seva; *Lactobacillus acido*. Takšno poimenovanje ne obstaja, najverjetneje pa je bilo mišljeno *Lactobacillus acidophilus*.

Sev *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* je pravilno poimenovan le na OTC zdravilih (P02, P03), ostalih šest (P13, P20, P21, P22, P28, P30) proizvajalcev pa ga je na probiotičnih izdelkih poimenovalo kot *Bifidobacterium lactis* (38).

Vsi ostali sevi na ostalih petindvajsetih izdelkih so poimenovani pravilno.



Slika 7: Delež pravilno/nepravilno poimenovanih probiotičnih sevov v analiziranih probiotičnih izdelkih.

4.4 Opozorila na embalaži

Vsa prehranska dopolnila imajo ustrezno in skladno s smernicami navedena sledeča opozorila:

- da se morajo »shranjevati izven dosega otrok«,
- da se »priporočene dnevne količine ne sme prekoračiti« (ta trditev se nahaja tudi na izdelku, ki je registriran kot hrana za posebne medicinske potrebe) ter
- da »prehransko dopolnilo ni nadomestilo za raznovrstno in uravnoteženo prehrano«.

Trditev, da se »živila ne sme uporabljati kot edini vir hrane«, pa smo zasledili samo na enem testiranem izdelku (P31), čeprav že osnovna definicija prehranskih dopolnil odsvetuje tovrstno uporabo.

Pogoji shranjevanja probiotičnih izdelkov, ki so navedeni na embalažah so definirani sledeče (Tabela VI):

- zaščiteno pred svetlobo (P04, P05, P17, P18, P19, P20, P21, P22, P24, P25, P27, P31),

- vlogo (P04, P05, P11, P12, P18, P19, P20, P21, P22, P24, P25, P26, P27, P28, P29, P30, P31),
- pri sobni temperaturi (P12, P15, P16),
- do 23°C (P20, P21, P22),
- do 25°C (P01, P02, P03, P04, P05, P06, P07, P14, P24, P25, P26, P27, P28, P29, P30, P31),
- na hladnem (P17),
- nekatere pa je potrebno shranjevati v hladilniku (2-8°C) (P14, P20, P21).

Pet (P08, P09, P10, P13, P23) izdelkov ne omenja pogojev shranjevanja, osemnajst (P04, P05, P12, P14, P17, P18, P19, P20, P21, P22, P24, P25, P26, P27, P28, P29, P30, P31) izdelkov pa ima navedena več kot dva pogoja shranjevanja.

Tabela VI: Pogoji shranjevanja izdelkov s probiotičnimi kulturami.

Pogoji Izdelki	Do 23°C	Do 25°C	Sobna T	Na hladnjem	V hladilniku (2-8°C)	Zaščiteno pred svetlobo	Zaščiteno pred vlagom
P01		X					
P02		X					
P03		X					
P04		X				X	X
P05		X					X
P06		X					
P07		X					
P08							
P09							
P10							
P11							X
P12			X				X
P13							
P14*		X			X		
P15			X				
P16			X				
P17				X		X	
P18						X	X
P19			X			X	X
P20**	X				X	X	X
P21**	X				X	X	X
P22**	X				X	X	X
P23							
P24		X				X	X
P25		X				X	X
P26		X					X
P27		X				X	X
P28		X					X
P29		X					X
P30		X					X
P31	X					X	X

*shranjujemo v hladilniku, po prvem odprtju pa pri T do 25°C

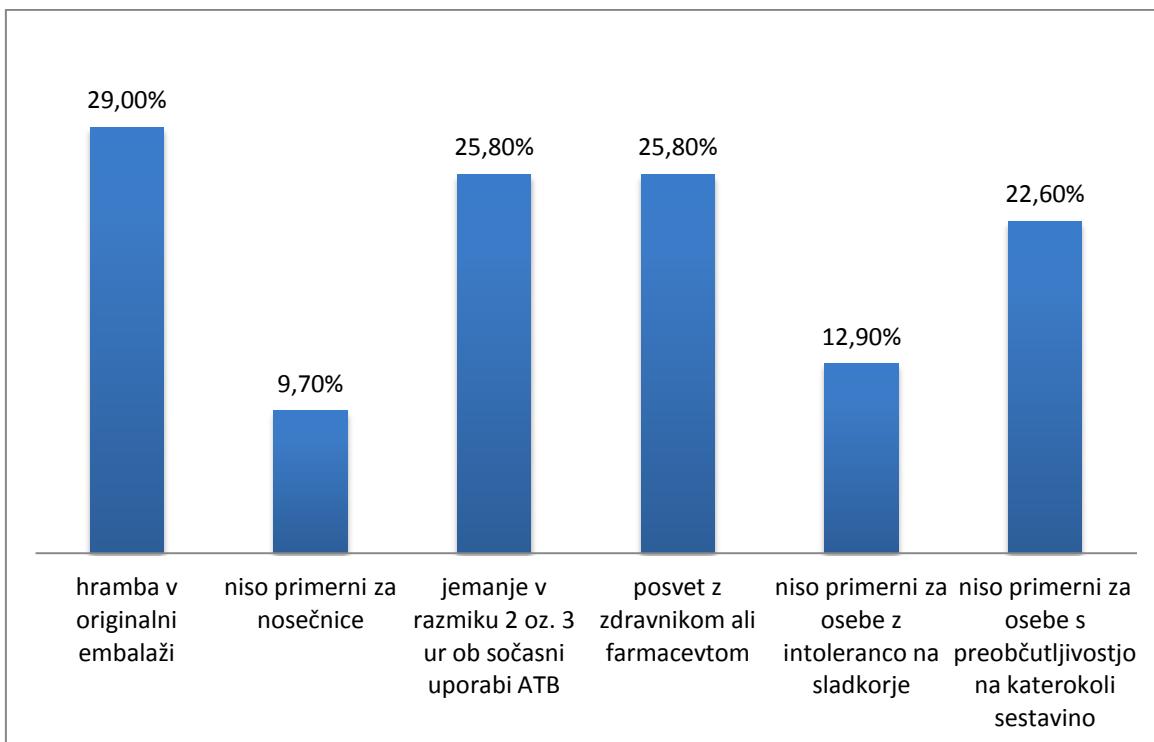
** shranjujemo pri T do 23°C, v poletnih mesecih pa raje v hladilniku

Navedeni pogoji shranjevanja so upravičeni, ker so probiotični mikroorganizmi pripravljeni s postopkom liofilizacije (freeze drying) med katerim odtegnemo vso vodo in tako onemogočimo razmnoževanje. Po vstopu v telo pa se mikroorganizmi ponovno aktivirajo in razmnožujejo. Lahko se shranjujejo pri sobni temperaturi (do 25°C), pri višjih temperaturah pa ne, ker bi s tem aktivirali liofilizirane mikroorganizme in poškodovali formulacijo (39).

Za tiste izdelke pri katerih način shranjevanja ni bil naveden, bi svetovali uporabnikom, da jih shranjujejo tako kot ostala zdravila, t.j. pri temperaturi do 25°C, če sevi niso liofilizirani pa v hladilniku zaščiteno pred vlagom in svetlobo.

Na nekaterih izdelkih je navedeno tudi (Slika 8):

- da se morajo hrani v originalni embalaži (P01, P02, P03, P11, P19, P28, P29, P30, P31),
- da niso primerni za nosečnice (P01, P02, P26), ker niso bile izvedene ustrezne študije,
- da jih je treba uživati v 2 oz. 3 urnem razmiku, če se sočasno uživajo z antibiotiki (P01, P02, P03, P04, P08, P13, P28, P31),
- v katerih primerih naj bi se pacient pred uporabo posvetoval z zdravnikom ali s farmacevtom (P01, P02, P03, P18, P28, P29, P30, P31),
- da so/niso primerni za osebe z intoleranco na sladkorje (P17, P18/P01, P02), oz. da so primerni za osebe z laktozno intoleranco,
- da niso primerni za osebe s preobčutljivostjo na katero koli sestavino (P01, P02, P09, P10, P28, P29, P30),
- da niso primerni za otroke mlajše od 12 let (P10) oz. 3 let (P15),
- da ima prekomerno uživanje odvajalni učinek (P06, P07),
- da se je potrebno izogibati sočasni uporabi z drugimi pripravki, ki vsebujejo vitamina A ali D (P10),
- da niso primerni za ledvične bolnike (renalna insuficienca), bolnike s hiperkalcemijo, s hiperparatiroidizmom in s hipertireozo (P10),
- pri štirih pripravkih (P01, P02, P03, P13) je tudi opozorilo, da se ne smejo jemati skupaj z vročimi napitki, pri treh, ki so v obliki kapsul (P01, P02, P13) pa še naj se ne uživajo z alkoholom,
- pri pripravku Lactolady je še naslednje opozorilo: »Proizvodi, ki vsebujejo brusnico lahko vplivajo na učinek antikoagulantov v krvi«, ki ga na drugem pripravku (Cysbiotic), ki tudi vsebuje brusnico, ni.



Slika 8: Deleži analiziranih probiotičnih izdelkov z drugimi opozorili na embalaži oz. v navodilu za paciente

*skupni seštevek % je višji od 100, ker imajo določeni izdelki več opozoril

4.5 Občutljivost probiotičnih sevov na pogoje v prebavnem traktu

Ena od zahtev, ki jim morajo zadostiti probiotiki je, da morajo mikroorganizmi biti sposobni doseči debelo črevo v zadostnem številu in tam biti sposobni razmnoževanja. To neposredno pomeni, da morajo biti sevi odporni na pogoje v prebavnem traktu, kadar jih apliciramo v formulacijah s takojšnjim sproščanjem, oziroma morajo biti zaščiteni (obloge, prirejeno sproščanje) s farmacevtsko obliko.

Občutljivost posameznega seva, ki smo ga identificirali v testiranih probiotičnih izdelkih, na spremenjajoče pogoje vzdolž prebavne cevi (pH, želodčni sok, žolč) smo povzeli po literaturi in so prikazani v tabeli VII.

Tabela VII: Občutljivost probiotičnih sevov na pogoje vzdolž prebavne cevi pri človeku (11, 39-45).

Ime seva	Odpornost (+) oz. občutljivost (-) probiotičnih sevov na pogoje v GIT ter način sproščanja, ki ga zagotavljajo komercialni proizvodi, v katerih je posamezen sev vgrajen
<i>Bacillus coagulans</i>	HCl (+), žolč (+) - takojšnje sproščanje (kapsule, tablete, suspenzija) - aktivacija spor v kislem želodčnem soku
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12 = <i>Bifidobacterium lactis</i>	HCl (+), žolč (+) - takojšnje sproščanje (prašek) - prirejeno sproščanje (kapsula, suspenzija)
<i>Bifidobacterium breve</i>	HCl (+), žolč (+) - takojšnje sproščanje (prašek) - prirejeno sproščanje (kapsula)
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	HCl (+), žolč (+) - takojšnje sproščanje (prašek, suspenzija) - prirejeno sproščanje (obložena tableta)
<i>Bifidobacterium infantis</i>	HCl (+), žolč (+) - hitro sproščanje (prašek, kapsula)
<i>Bifidobacterium longum</i>	HCl (+), žolč (+) - takojšnje sproščanje (prašek) - prirejeno sproščanje (obložena tableta, kapsula, mikroenkapsulacija sevov)
<i>Enterococcus faecium</i>	HCl (-), žolč (+) - takojšnje sproščanje (prašek, kapsule)
<i>Kluyveromyces marxianus fragilis</i>	HCl (+), žolč (+) - prirejeno sproščanje (kapsula)
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	HCl (+), žolč (+) - takojšnje sproščanje (kapsule, prašek, suspenzija) - prirejeno sproščanje (kapsula, mikroenkapsulacija, suspenzija)
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	HCl (+), žolč (+) - hitro sproščanje (suspenzija, prašek)
<i>Lactobacillus casei</i>	HCl (+), žolč (+) - hitro sproščanje (prašek) - prirejeno sproščanje (kapsula)
<i>Lactobacillus gasseri PA 16/8</i>	HCl (+), žolč (+) - prirejeno sproščanje (obložena tableta)
<i>Lactobacillus paracasei</i>	HCl (+), žolč (+) - takojšnje sproščanje (prašek) - prirejeno sproščanje (kapsula, suspenzija)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	HCl (+), žolč (+) - takojšnje sproščanje (prašek, kapsula) - prirejeno sproščanje (kapsula, suspenzija, mikroenkapsulacija)
<i>Lactobacillus rhamnosus GG</i>	HCl (+), žolč (+) - takojšnje sproščanje (kapsula, prašek, kapljice) - prirejeno sproščanje (kapsula, mikroenkapsulacija)
<i>Lactobacillus reuteri</i>	HCl (+), žolč (+) - takojšnje sproščanje (kapsula, žvečljiva tableta, kapljice) - prirejeno sproščanje (mikroenkapsulacija)
<i>Lactobacillus salivarius</i>	HCl (+), žolč (+) - takojšnje sproščanje (prašek)
<i>Lactococcus lactis</i>	HCl (+), žolč (+) - takojšnje sproščanje (prašek) - prirejeno sproščanje (kapsula)
<i>Streptococcus thermophilus</i>	HCl (+), žolč (+) - takojšnje sproščanje (suspenzija) - prirejeno sproščanje (mikroenkapsulacija)

Po pregledu literarnih podatkov smo ugotovili, da naj bi bili vsi sevi odporni na pogoje v prebavnem traktu, vendar ne 100% (določen delež probiotičnih sevov v odmerku podleže

pogojem v prebavilih, vendar jih vseeno preživi dovolj, da v zadostnem številu dosežejo debelo črevo in se potem v njem razmnožijo). Razlike v odpornosti so odvisne tudi od same formulacije. Npr. dodatek glukoze poveča čas preživetja mikroorganizmov v želodcu (44). Probiotiki se zaradi dodatka prebiotikov (=sinbiotiki) v črevesju hitreje razmnožijo. Sevi so na voljo v formulacijah s takojšnjim (kapsule, tablete, praški) in prirejenim sproščanjem. Oba napitka Neo Yogermina 100 (P21) in Neo Yogermina Junior (P20) sta na voljo v obliki suspenzije, ki vsebuje aloe vero in karagenane, ki imajo zgoščevalni učinek in upočasnijo prehod skozi črevesje. Prva zaščita (aloe vera) tvori mehak gel, ki prepreči stik probiotičnih kultur z želodčnimi sokovi med potovanjem skozi želodec, druga (karagenan) pa zgosti nastalo suspenzijo in tako podaljša čas zadrževanja v črevesju, kjer se probiotiki tako v večjem deležu oprimejo in pritrdirjo na črevesne resice kar omogoči kolonizacijo. Zato lahko tudi pričakujemo, da bo preživetje mikroorganizmov pri formulacijah s takojšnjim sproščanjem manjše in bo črevesje doseglo manjše število kultur, kot pa pri formulacijah s prirejenim sproščanjem oz. v formulacijah, kjer pomožne snovi zaščitijo probiotike pred vplivi iz okolja (oblage, zgoščevalci, pomožne snovi za uravnavanje pH).

Drugi pristopi, ki se jih poslužujejo proizvajalci za izdelavo probiotičnih farmacevtskih oblik, ki bi omogočile dostavo živih in razmnoževanja zmožnih mikroorganizmov v čim večjem številu so še:

- oblaganje s hidrokispropilcelulozo, ki upočasni razpadanje tablete v želodcu,
- polnjenje v kapsule iz hidroksipropil metil celuloze/hipromeloze, ki omogoča prirejeno sproščanje,
- uporaba ksantanske gume za prirejeno sproščanje,
- uporaba karagenanov, ki tvorijo gel in preprečijo propad kultur v želodcu,
- obloga tablete iz polivinilpirolidona (topna pri pH 3,0-7,0), ki omogoča upočasnjeno sproščanje,
- vgradnja probiotikov v polisaharidni matriks, ki omogoča podaljšano sproščanje in zmanjša hitrost prodiranja želodčne kisline v formulacijo,
- mikroenkapsulacija probiotikov s hidroksipropilcelulozo (kar omogoča večje preživetje mikroorganizmov, ne pa gastrorezistence) (36),
- dodatek prebiotikov, ki so hrana mikroorganizmom,
- uporaba gastrorezistentnih sevov (kar je tudi najpogostejše).

Vsi probiotiki z izjemo BioGaia prodentis, ki se uporablja oralno za vzdrževanje dobrega ustnega zdravja in splošnega počutja, delujejo v gastrointestinalnem traktu tako, da se pripnejo na intestinalni mukus.

S statističnim testom enosmerna ANOVA v programu Microsoft Excel smo preverili, če se priporočeno maksimalno število mikroorganizmov zaužitih v priporočenih dnevnih odmerkih razlikuje glede na formulacijo. Ugotovili smo, da so razlike statistično signifikantne; t.j. da pripravki s podaljšanim sproščanjem zagotavljajo statistično značilno večji vnos probiotikov dnevno, torej lahko pri njih potencialno pričakujemo tudi učinkovitejšo dostavo večjega števila kultur v debelo črevo.

Anova: Single Factor

SUMMARY

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>	<i>Std. Dev.</i>
takošnje sproščanje	18	3,35E+10	1,86E+09	6,01E+18	2,45E+09
podaljšano sproščanje	12	8,33E+10	6,94E+09	5,62E+19	7,50E+09

ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	1,86E+20	1	1,86144E+20	7,235	0,012	4,196
Within Groups	7,2E+20	28	2,57298E+19			
Total	9,07E+20	29				

F>F crit., razlika je statistično signifikantna.

SS = vsota kvadratov posameznih vrednosti

df = stopnje prostosti

MS = povprečje vsote kvadratov

Ker je F večji od Fcrit. zavrnemo ničelno hipotezo, ki pravi, da med skupinama ni statistično značilnih razlik in sprejmemo alternativno hipotezo, ki pravi, da med skupinama obstaja statistično signifikantna razlika.

4.6 Interakcije med zdravili in probiotiki

Spodaj smo povzeli literaturo, ki obravnava interakcije med črevesno floro in učinkovinami. Ker pa so probiotiki del normalne človeške flore, tudi oni lahko sodelujejo v istih reakcijah.

- Redukcija je najpogostejši tip metabolnih bakterijskih reakcij, ker je večina bakterij gastrointestinalnega trakta fakultativno anaerobna (streptokoki) ali popolnoma anaerobna (bifidobakterije, laktobacili).
 - Pogosta je **azo-redukcija** tj. redukcija azo skupine do primarnega amina. Omenjena reakcija se izkorišča pri dostavi predzdravil (prontozil, sulfasalazin in njuni analogi), ki se v debelem črevesju s pomočjo prebavne mikroflore aktivirajo v farmakološko aktivne spojine.
 - Tudi **nitro skupine** učinkovin so pogoste tarče bakterij, ki jih pretvorijo v večinoma neaktivne metabolite (primarne amine) (nitrazepam, klonazepam, mizonidazol).
 - Redukcija **sulfoksida** v **sulfid** v neaktivne metabolite (omeprazol, sulfinpirazon in sulindak) (46).
 - Redukcija **-NO₂** v **-NOH** pri ranitidinu in nizatidinu zmanjša absorpcijo aktivne učinkovine (29).
- **Hidrolizo** sorivudina in laktuloze katalizirajo črevesne bakterije. V primeru laktuloze nastali produkti reakcije - mlečna in ocetna kislina - z znižanjem pH stimulirata sekrecijo vode v črevesni lumen, kar privede do odvajjalnega učinka. Omenjeni pojav se izrablja za mehčanje blata (46).
- S **hidrolizo sukcinatne skupine** iz sukcinilsulfatiazola dobimo aktivno obliko sulfatiazol,
- **dehidrosilacija** L-dope v aktivna metabolita m-tiramin in m-hidroksifenilocetno kislino,
- **acetiliranje** 5-aminosalicilne kisline v neaktivni metabolit N-acetyl-5-aminosalicilno kislino,
- **deacetiliranje** fenacetina v toksičen metabolit p-fenetidin,
- **proteoliza** inzulina in kalcitonina v neaktivne metabolite,
- **denitriranje** gliceril trinitrata in izosorbid dinitrata v neaktivne metabolite,

- **tvorba amina s hidrolizo amidne vezi** pri kloramfenikolu ga pretvori v toksičen metabolit,
- **dekonjugacija** zdravil z bakterijskimi encimi, ki se izločijo z žolčem kot neaktivni konjugati - digitoksin, indometacin, morfij vodi v nastanek/pretvorbo neaktivnih jetrnih metabolitov učinkovin v aktivno obliko in tako sodelujejo v enterohepatičnem kroženju,
- **odprtje tiazolovega obroča** pri levamisolu povzroča pretvorbo v metabolit, ki deluje proti rakastim celicam debelega črevesja,
- **deglikozilacija** kvercetin-3-glukozida v 3,4-dihidroksifenilacetilno kislino in deglikolizacija ostalih flavonoidov,
- **N-demetiliranje** aktivnega metamfetamina v aktivni metabolit amfetamin, ki se izloči s fecesom (29).

Razgradnja zdravilnih učinkovin s pomočjo mikroorganizmov je odvisna od farmakokinetičnih lastnosti in kinetike sproščanja. Absorpcija dobro permeabilnih učinkovin apliciranih v formulaciji s takojšnjim sproščanjem poteka v proksimalnih delih črevesja, kjer ne pridejo v kontakt s črevesno floro, kar pa ne velja za sisteme s prirejenim sproščanjem, kjer precejšen delež učinkovine doseže distalni del tankega črevesa in debelo črevo, kjer je potencialno lahko izpostavljena bakterijski razgradnji. Medtem ko absorpcija dobro permeabilnih učinkovin poteče popolnoma v proksimalnem tankem črevesju, so slabo permeabilne učinkovine ne glede na aplicirano formulacijo (s takojšnjim ali prirejenim sproščanjem) zaradi slabe absorpcije v tankem črevesju vedno potencialno lahko podvržene bakterijski razgradnji v ileumu in kolonu (29, 47).

Če bi pacient potencialno sočasno apliciral predpisano učinkovino v dostavnih sistemih, ki vsebujejo nerazgradljive vlaknine in probiotični pripravek s takojšnjim sproščanjem, bi lahko sproščeni probiotični sevi vlaknine iz dostavnega sistema za učinkovino obravnavali kot prebiotike (t.j. substrate za fermentacijo) in jih pričeli metabolizirati s čimer bi lahko vplivali na kinetiko sproščanja učinkovine ter stabilnost učinkovine in formulacije.

Po pregledu literature smo ugotovili, da ni nikjer zabeleženega nobenega konkretnega primera, kjer bi probiotiki vplivali na farmakokinetične interakcije. Pri vseh treh OTC zdravilih je navedeno tudi, da farmakokinetične študije niso bile izvedene, ker se probiotiki sistemsko ne absorbirajo.

Lekarniška praksa svetovanja pacientom ob nakupu probiotikov je sledeča:

- pacienta najprej prosimo, naj nam opiše svoje težave zaradi katerih se je odločil za nakup probiotičnega izdelka. Temu primerno mu lahko svetujemo velikost odmerka, ki je manjši pri jemanju zaradi preventivnih namenov, večjega pa priporočamo pri že obstoječi težavi,
- vprašamo ali jemlje še kakšna druga zdravila,
- opozorimo ga, naj vzame probiotike v vsaj 2 urnem zamiku z ostalimi zdravili,
- če se stanje v nekaj dneh ne izboljša, svetujemo obisk zdravnika.

4.7 Varnost probiotičnih pripravkov

Na izdelkih smo pregledali trditve, ki govorijo o varnosti pripravkov in samih sevov. Na spletni strani FDA oz. EFSA smo povzeli seznam sevov, katerim je bil podeljen GRAS oz. QPS status (48, 49).

Glede varnosti smo pri izdelkih zasledili naslednje trditve:

- Izdelek je popolnoma varen (P05, P06, P07),
- Izdelek se dobro prenaša (P08, P09, P10),
- *Lactobacillus acidophilus* spada med GRAS (generally recognised as safe; splošno prepoznane kot varne) mlečnokislinske bakterije (P02),
- *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* spada med GRAS mlečnokislinske bakterije (P02, P03).

Tabela VIII: Status o varnosti posameznih probiotičnih sevov.

Ime seva	Varnost (FDA/EFSA)
<i>Bacillus coagulans</i>	GRAS, QPS
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	GRAS, QPS
<i>BB-12 = Bifidobacterium lactis</i>	GRAS, QPS
<i>Bifidobacterium breve</i>	GRAS, QPS
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	GRAS, QPS
<i>Bifidobacterium infantis</i>	GRAS, QPS
<i>Bifidobacterium longum</i>	GRAS, QPS
<i>Enterococcus faecium</i>	NE QPS
<i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>fragilis</i>	GRAS, QPS
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	GRAS, QPS
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	GRAS, QPS
<i>Lactobacillus casei</i>	GRAS, QPS
<i>Lactobacillus gasseri</i> PA 16/8	GRAS, QPS
<i>Lactobacillus paracasei</i>	GRAS, QPS
<i>Lactobacillus plantarum</i>	GRAS, QPS
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	GRAS, QPS
<i>Lactobacillus reuteri</i>	GRAS, QPS
<i>Lactobacillus salivarius</i>	GRAS, QPS
<i>Lactococcus lactis</i>	GRAS, QPS
<i>Streptococcus thermophilus</i>	GRAS, QPS

Vsi sevi razen *Enterococcus faecium* imajo potrjen status o varnosti in so zato upravičeno prisotni v probiotičnih izdelkih.

Enterococcus faecium ni na QPS seznamu, ker je bilo v preteklosti zabeleženih veliko okužb ljudi s patogenimi sevi enterokokov. Vendar s pomočjo sodobnih postopkov lahko v laboratoriju ločimo med patogenimi in nepatogenimi sevi in lahko sklepamo, da so proizvajalci v svojih izdelkih uporabili nepatogene seve, ki ne ogrožajo uporabnikovega zdravja.

5 RAZPRAVA

V predstavljeni magistrski nalogi smo proučili 31 probiotičnih izdelkov, ki so na voljo slovenskemu potrošniku v lekarni. Kot vir informacij smo uporabili SmPC-je, navodila uporabnikom, pripadajočo embalažo izdelkov ter strokovno literaturo in internetne baze regulatornih organizacij (EFSA, FDA, Pravilniki RS).

Ugotovili smo, da glede na zakonska določila in podzakonske akte, večina analiziranih pripravkov sodi v skupino prehranskih dopolnil (26 izdelkov), sledijo pa jim OTC zdravila (3 izdelki) ter dietetična živila in hrana za posebne medicinske namene z enim izdelkom v vsaki kategoriji. Ker se merila za vrednotenje kakovosti, varnosti in učinkovitosti prehranskih dopolnil, zdravil in ostalih izdelkov pomembno razlikujejo, lahko pričakujemo izrazita odstopanja prehranskih dopolnil, tako v kakovostni kot tudi količinski sestavi, ne glede na trditve, ki jih proizvajalec zabeleži in/ali oglašuje.

5.1 Kvalitativna in kvantitativna sestava probiotičnih izdelkov

Glede na zakonodajna določila, mora embalaža prehranskih dopolnil vsebovati informacijo tako glede količinske kot tudi kakovostne sestave z ustrezno enoto.

Pri proučevanju sestave probiotičnih izdelkov smo ugotovili, da 9 od analiziranih proizvodov vsebuje samo en probiotični sev, preostalih 22 izdelkov pa je večkomponentnih (t.j. vsebujejo več kot en probiotični sev). Najbolj zastopane bakterijske seve predstavljajo *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* in *Lactobacillus rhamnosus GG*, ki smo jih zabeležili pri 10 ali več izdelkih (Slika 4). Sledijo jim *Bacillus coagulans*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* in *Lactobacillus reuteri* (prisotni so v več kot 5 in manj kot 10 izdelkih). Pri dobri polovici izdelkov so proizvajalci deklarirali tudi izvor posameznih sevov, kar omogoča večjo varnost in sledljivost.

Pri analizi kvantitativne sestave smo zasledili pomembna odstopanja izdelkov od predpisanih smernic. Le 11 od 31 izdelkov je imelo deklarirano število vsakega probiotičnega seva, pri kar 19 pa je proizvajalec navedel le celokupno število mikroorganizmov. Eden izdelek števila probiotičnih sevov ni imel zabeleženih. Dodatno smo ugotovili, da kar 6 izdelkov (t.j. 20% pripravkov) nima ustrezno poimenovanih prisotnih probiotičnih sevov, od tega so 3 izdelki imeli napačno poimenovana kar dva probiotična seva.

Poleg probiotičnih kultur analizirani izdelki vsebujejo tudi druge aktivne snovi; največkrat smo zabeležili prisotnost vitaminov (12 izdelkov), sledijo pa jim pripravki, ki dodatno vsebujejo še rastlinske izvlečke (10 izdelkov), prebavne encime (5 izdelkov) ter druge komponente (Slika 5). Proučili smo tudi pomožne snovi in ugotovili, da lahko 17 izdelkov zaradi prisotnosti prebiotikov uvrstimo med sinbiotike. V nekaterih pripravkih pomožne snovi omogočajo zaščito probiotičnih organizmov pred ostrimi pogoji v prebavilih ter zagotavljajo prirejeno sproščanje. Večina pripravkov glede na vgrajene pomožne snovi zagotavlja takojšnje sproščanje (18 izdelkov), vendar pa je število mikroorganizmov, ki jih s priporočenim dnevnim odmerkom pacient vnese v telo, glede na naše analize statistično značilno višje pri probiotičnih prehranskih dopolnilih, ki omogočajo prirejeno sproščanje (ANOVA test). Zaščita probiotičnih kultur pred pogoji v zgornjih prebavilih (želodčni sok, žolč, pankreasni sok, pH, itd.) s pomočjo pomožnih snovi oz. formulacije namreč omogoči dostavo čim višjega števila živih, razmnoževanja in adhezije zmožnih bakterij, ki bi sicer podlegle poškodbam v proksimalnem alimentarnem kanalu. V magistrski nalogi smo ugotovili, da skoraj vsi probiotični sevi v prehranskih dopolnilih na slovenskem tržišču izkazujejo rezistenco na želodčno kislino in žolč, torej bi teoretično lahko dosegli dostavo primerljivega števila vitalnih in kolonizacije zmožnih probiotičnih kultur v debelo črevo ne glede na aplicirano formulacijo oz. ne glede na kinetiko sproščanja, ki jo zagotavlja. Navkljub (ne)občutljivosti bakterijskih sevov na pogoje v prebavilih pa smo sklepali, da določen delež mikroorganizmov v pripravkih s takojšnjim sproščanjem vedno podleže ireverzibilnim poškodbam, ki vodijo v slabše vitalne, kolonizacije nezmožne in/ali nevitalne bakterije, saj informacije o občutljivosti bakterijskih sevov na različne dejavnike v prebavnem traktu večinoma izvirajo iz *in vitro* študij, ki ne odražajo dejanskega stanja *in vivo*. Proizvajalci lahko kompenzirajo odmiranje probiotičnih sevov v prebavilih iz cenejših pripravkov s takojšnjim sproščanjem tako, da povečajo odmerek v formulaciji, dodajo prebiotike, ali pa uberejo dražji pristop in mikroorganizme zaščitijo s formulacijo (obloge, prirejeno sproščanje).

Da bi lahko nedvoumno ocenili vpliv izbora formulacije na število uspešno dostavljenih probiotikov v debelo črevo, bi potrebovali tudi profile kinetike sproščanja. Oglaševanje prirejenega sproščanja in posledično boljša kakovost prehranskega dopolnila se je v preteklosti namreč izkazalo za neupravičeno v primeru nekaterih prehranskih dopolnil, ki so vsebovala folno kislino in česnove ekstrakte, saj omenjeni pripravki niso sprostili aktivnih snovi v časovnem okvirju, ko je formulacija potovala skozi prebavni trakt (50).

V magistrski nalogi glede na gornje zaključke ugotavljamo neustreznost dobre polovice analiziranih prehranskih dopolnil glede na predpisane standarde. Podobne ugotovitve glede kvantitativne in kvalitativne sestave probiotičnih izdelkov na slovenskem tržišču so že pred 4 leti zabeležili v raziskavi (51), kjer so potrdili pomembna odstopanja glede na Pravilnik o prehranskih dopolnilih (le 5 od 20-ih analiziranih probiotikov je vsebovalo dovolj živih mikroorganizmov sposobnih kolonizacije; pri 6 izdelkih s PCR metodo niso potrdili prisotnosti živih mikroorganizmov deklariranih vrst, manjkajoče podatke o številu sevov so zabeležili pri 2 izdelkih). Podobne pomanjkljivosti je ponovno zabeležila tudi Zveza Potrošnikov Slovenije (ZPS) lani, ko je ugotovila, da nekateri izdelki niso vsebovali zadostnega števila živih bakterij. Opazili pa so tudi nepravilno poimenovanje probiotičnih bakterij (52). Kljub prizadevanju ZPS, da bi z javnimi objavami nepravilnosti/neskladnosti glede kakovosti probiotičnih prehranskih dopolnil prisilili proizvajalce k ustreznim ukrepom, pa v tem magistrskem delu še leto kasneje po opravljeni raziskavi ZPS ugotavljamo neustrezno oz. napačno poimenovanje sevov.

Obe probiotični zdravili, ki so ju testirali (Linex in Linex forte) pa sta ustrezali takrat in v tej nalogi po kakovostni sestavi kot tudi po številu probiotičnih bakterij (51).

5.2 Embalaža in trditve na prehranskih dopolnilih

Osmi člen Pravilnika o prehranskih dopolnilih o označevanju poleg pogojev iz predpisa, ki ureja splošno označevanje predpaketiranih živil, predpisuje, da mora označba prehranskega dopolnila poleg imena vrste/narave hrani in njihove priporočene dnevne količine (t.j. odmerka) vsebovati še naslednje podatke:

- opozorilo: »Priporočene dnevne količine oziroma odmerka se ne sme prekoračiti.«;
- navedbo: »Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za uravnoteženo in raznovrstno prehrano«;
- opozorilo: »Shranjevati nedosegljivo otrokom!« (53).

Ugotovili smo, da vsa analizirana prehranska dopolnila s probiotičnimi kulturami nosijo ustrezone zgoraj navedene oznake. Vsa prehranska dopolnila prav tako ustrezajo 7. členu Pravilnika o prehranskih dopolnilih, ki prepoveduje pripisovanje lastnosti preprečevanja, zdravljenja ali ozdravljenja bolezni pri ljudeh pri označevanju, predstavljanju in

oglaševanju teh izdelkov, saj se smejo navajati le z znanstvenimi dokazi potrjeni učinki (53).

Le na nekaterih izdelkih smo zasledili opozorila glede potrebnega posveta z zdravnikom in farmacevtom pred nakupom in jemanjem tovrstnih artiklov, kar je zlasti pomembno za občutljive populacije (otroci, nosečnice, ledvični bolniki, osebe z intoleranco na sladkorje oz. preobčutljivostjo na katero koli sestavino izdelka).

Pomanjkljiva so tudi opozorila o pogojih shranjevanja. Medtem ko nekateri probiotiki nosijo podrobne napotke o načinu shranjevanja (zaščiteno pred svetlobo in vLAGO, hramba pri sobni temperaturi (23 ali 25 °C), v hladilniku), na 5-ih izdelkih navodil potrošniku ni. V tem primeru uporabniku v skladu z lekarniško prakso svetujemo hrambo v hladilniku, kadar je izdelek pripravljen s tehnologijo liofilizacije pa vsaj pri sobni temperaturi, zaščiteno pred svetlobo.

Poleg načina shranjevanja so pomembna tudi opozorila glede načina jemanja teh izdelkov. Ker so probiotiki živi organizmi, je jemanje skupaj z vročimi napitki nesmiselno, saj v tem primeru nenačrtno uničimo probiotične seve že pred zaužitjem ne glede na ves trud, ki ga je proizvajalec morda vložil v tehnologijo priprave formulacije, ki bi zagotavljala zaščito probiotikov in dostavo čim večjega števila v debelo črevo. Žal smo opozorilo, da se izdelka ne sme jemati z vročimi pripravki, zasledili na le 4 pripravkih.

Dobra polovica (18 od 31) prehranskih dopolnil tudi nosi opozorilo, da se morajo jemati vsaj z 2-3-urnim zamikom glede na aplikacijo antibiotikov, saj se tako izognemo uničenju probiotičnih kultur s predpisanim zdravilom. O drugih potencialnih interakcijah nismo našli zapisov ali opozoril na izdelkih. V SmPC-jih vseh OTC zdravil smo zabeležili, da študije glede interakcij z zdravili niso bile izvedene, ker se probiotiki sistemsko ne absorbirajo, kar pa ne izključuje lokalnih interakcij v lumnu prebavil ob sočasnem zaužitju probiotičnih pripravkov in predpisane terapije, ki bi lahko privedle do farmakokinetičnih interakcij in vprašljive stabilnosti učinkovin. Probiotične kulture iz pripravkov s hitrim sproščanjem bi namreč lahko vplivale na stabilnost pomožnih snovi v dostavnih sistemih učinkovin s prirejenim sproščanjem in tako spremenile profil sproščanja učinkovine, njeno stabilnost, učinkovitost in posledično tudi varnost terapije. Ker pri literaturnem pregledu nismo našli poročil o kakršnih koli interakcijah med probiotiki in učinkovinami, ki ne

sodijo v skupino antibiotikov, bi potrošnikom s predpisano terapijo svetovali previdnost, posvet pri zdravniku ali farmacevту ter ne glede na farmakološko skupino, v katero sodijo sočasno predpisane učinkovine, najmanj 2-urni razmik med zaužitjem zdravila ter probiotika.

5.3 Primerjava stanja z mednarodnimi objavami

S podobnimi problematikami, povezanimi s kakovostjo probiotičnih izdelkov se srečujemo tudi v mednarodnih okvirjih. Hamilton-Miller s sodelavci je v Veliki Britaniji analiziral 52 probiotičnih izdelkov, od tega 29 prehranskih dopolnil. 17% prehranskih dopolnil je imelo napačno poimenovane bakterijske seve, pogosto je bila vsebnost manjša od deklarirane, prisotni so bili sevi, ki niso bili deklarirani na embalaži. V 8 prehranskih dopolnilih so odkrili tudi potencialni patogeni organizem *Enterococcus faecium*. Samo 7 so jih označili kot ustrezne, 5 pa kot zadovoljive (54).

Coeuretova s sodelavci je v Franciji, kjer so v 10 izdelkih proučevali vsebnost laktobacilov ugotovila, da ima 50% izdelkov napačno označeno število sevov, 30% pa napačno poimenovane seve laktobacilov. V 40% primerov deklariranega seva v izdelku niso zaznali. 4 izdelki so se prodajali pod različnimi imeni, čeprav so vsi vsebovali enake seve, samo proizvajalec jih je na vsakem izdelku poimenoval drugače (55).

Driskova je v ZDA proučila 5 probiotičnih izdelkov. V 2 izdelkih niso zaznali *Bifidobacterium bifidum*, ki so bili deklarirani na embalaži, medtem ko so laktobacile našli v 2 izdelkih, čeprav ti niso bili deklarirani na embalaži (56).

Raziskovalci iz Bastyr University (Kenmore, WA) so proučili 12 naključno izbranih probiotičnih prehranskih dopolnil, ki se shranjujejo v hladilniku in 8, ki se ne. Ugotovili so, da je samo 1 izdelek vseboval vse seve, ki jih je imel deklarirane na ovojnini. Več kot 30% izdelkov je bilo kontaminiranih z drugimi mikroorganizmi in več kot 50% izdelkov, ki se niso shranjevali v hladilniku, je vsebovalo popolnoma mrtve mikroorganizme (57).

Chen s sodelavci je proučil 28 probiotičnih izdelkov na Kitajskem trgu. Vsa prehranska dopolnila so glede na število deklariranih sevov ustrezala, ker imajo na Kitajskem zakonsko določeno spodnjo mejo vsebnosti mikroorganizmov na odmerek. 75% prehranskih dopolnil je imelo deklarirano število posameznih vrst sevov. V 25% izdelkih ni bilo prisotnega seva *Bifidobacterium*, čeprav je bil deklariran na embalaži (58).

Če primerjamo podatke iz tujih študij z našimi, ugotovimo veliko podobnost izsledkov.

5.4 Analiza kazalcev ustreznosti prehranskih dopolnil na slovenskem tržišču

Izdelke smo razvrstili v Tabelo IX z 10 kriteriji in določili meje ustreznosti. S kriteriji smo povzeli parametre na katere smo bili pozorni med analizo izdelkov in z njihovo pomočjo ocenili vsak posamezen izdelek kot celoto. Ocenili smo:

- A: kvalitativno sestavo, s katero smo preverili ali so navedeni posamezni sevi ali samo rodov v katere sodijo,
- B: kvantitativno sestavo, s katero smo preverili, če je navedeno število posameznih sevov, skupno število vseh sevov ali pa nič,
- C: pogoje shranjevanja, s katerim smo preverili, če ima izdelek glede na lastnosti navedene ustrezne pogoje za shranjevanje,
- Č: pravilnost poimenovanja, s katerim smo preverili ali so posamezni sevi v izdelku pravilno poimenovani,
- D: izvor sevov, s katerim smo preverili ali ima izdelek naveden izvor sevov,
- E: opozorila v skladu z 8. členom Pravilnika o prehranskih dopolnilih, ki pravijo: »Priporočene dnevne količine oziroma odmerka se ne sme prekoračiti.« in »Shranjevati nedosegljivo otrokom!« (53),
- F: način jemanja,
- G: ali so navedena opozorila na interakcije z zdravili, predvsem z antibiotiki, ker ti pobjejo probiotike,
- H: ali probiotiki vstopajo v interakcije z zdravili,
- I: pravni status, če je izdelek OTC zdravilo ali prehransko dopolnilo.

Meje ustreznosti smo si zadali na naslednji način:

- pod 60% je izdelek neustrezen,
- med 60-80% zadovoljiv,
- nad 80% pa ustrezen.

Neustreznih izdelkov je šest (P13, P15, P16, P20, P21, P22), zadovoljivih je sedemnajst (P01, P04, P07, P08, P09, P10, P11, P14, P17, P19, P23, P24, P25, P26, P27, P28, P29, P30), ustreznih pa osem (P01, P02, P03, P05, P06, P12, P18, P31). Po pričakovanjih so ustrezena vsa tri OTC zdravila, za katera veljajo strožji predpisi kot za prehranska dopolnila. Večina izdelkov je zadovoljivih. Najbolj zaskrbljujočih je neustreznih 6 izdelkov, vendar so glede na svetovne študije te neustreznosti/nepravilnosti nekaj običajnega in čeprav je bila naša analiza samo teoretične narave prihajamo do enakih

zaključkov, kot znanstveniki drugje po svetu. Probiotični izdelki bi morali biti bolj regulirani (več testiranj, postavljena meja za najmanjšo količino sevov, ki je še učinkovita), saj bi le tako lahko porabnikom zagotovili ustrezno varnost in učinkovitost.

Tabela IX: Ustreznost izdelkov določenim kriterijem

Kriteriji Izdelki	A	B*	C	Č	D	E	F	G	H	I**
P01	✓	●	✓	✓	✗	✓	✓	✓	✓	✓
P02	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
P03	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
P04	✓	●	✓	✓	✗	✓	✓	✓	✓	✗
P05	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P06	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P07	✓	●	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P08	✓	●	✗	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗
P09	✓	●	✗	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P10	✓	●	✗	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P11	✓	✗	✓	✓	✗	✓	✓	✗	✓	✗
P12	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P13	✓	●	✗	✗	✗	✓	✓	✓	✓	✗
P14	✓	●	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P15	✗	●	✓	✓	✗	✓	✓	✗	✗	✗
P16	✓	●	✓	✓	✗	✓	✓	✗	✓	✗
P17	✓	●	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P18	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P19	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✓	✗	✓	✗
P20	✓	●	✓	✗	✗	✓	✓	✗	✓	✗
P21	✓	●	✓	✗	✗	✓	✓	✗	✓	✗
P22	✓	●	✓	✗	✗	✓	✓	✗	✓	✗
P23	✓	✓	✗	✓	✗	✓	✓	✗	✓	✗
P24	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P25	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P26	✓	●	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P27	✓	●	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P28	✓	●	✓	✗	✓	✓	✓	✓	✓	✗
P29	✓	●	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P30	✓	●	✓	✗	✓	✓	✓	✗	✓	✗
P31	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗

*vsak sev poimenovan posebej ✓, skupno število sevov ●, ni navedenega števila sevov ✗

**zdravilo ✓, ostalo ✗

6 SKLEP

V okviru magistrske naloge smo proučili kvalitativno in kvantitativno sestavo, prehranske in zdravstvene trditve ter literaturo, ki zadeva probiotične izdelke.

Glede na rezultate ugotavljamo, da so zakonodajna določila, ki se dotikajo področja prehranskih dopolnil, pomanjkljiva in preslabo regulirana, ker ne zagotavlja pričakovane kakovosti izdelkov, ki so slovenskemu potrošniku na voljo v lekarnah, razen če se odloči za nakup OTC zdravil.

Večina obravnavanih prehranskih dopolnil ustreza členom Pravilnika o prehranskih dopolnilih, vendar bi za probiotike pravilnik moral vsebovati dodaten člen, ki bi od proizvajalcev zahteval navajanje informacij o prisotnosti živih organizmov v izdelkih, znanstveno pravilno poimenovanje vseh sevov, kot tudi strokovno pravilno navajanje števila bakterij, minimalno število bakterij, ki še zagotavlja koristne učinke za zdravje, priporočeno dnevno količino izdelka, s katero je še dosežen zdravstveni učinek, navedbo, ter opis njegove funkcije (na primer preprečevanje potovalnih diarej), opozorilo, kakšne so posledice prekomernega uživanja prehranskega dopolnila ipd., kar pa smo našli le pri nekaterih izdelkih.

7 LITERATURA

1. Fasoli S, Marzotto M, Rizzotti L, Rossi F, Dellaglio F, Torriani S: Bacterial composition of commercial probiotic products as evaluated by PCR-DGGE analysis. *Int J Food Microbiol* 2003 Jan 26; 82(1): 59-70
2. 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. Amerian Córdoba Park Hotel, Córdoba, Argentina 1-4 Oct 2001
3. Gueimonde M, Delgado S, Mayo B, Raus-Masiedo P, Margolles A, Reyes-Gavilan CG: Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. *Food Res Int* 2004; 37: 839-850
4. Müller MR, Ehrmann MA, Vogel RF: Multiplex PCR for the detection of *Lactobacillus pontis* and two related species in a sourdough fermentation *Appl Environ Microbiol* 2000; 66(5): 2113-2116
5. Coeuret V, Gueguen M, Vernoux JP: Numbers and strains of lactobacilli in some probiotic products *Int J Food Microbiol* 2004; 97(2):147-156
6. Spletni vir: <http://www.lek.si/si/skrb-za-zdravje/medicinski-slovar/> Datum dostopa: 1.3.2013
7. Gardiner G, Ross R, Kelly P, Stanton C, Collins J, Fitzgerald G: Microbiology of therapeutic milks. V: *Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products.* 3rd ed. Robinson R.K. (ed.). New York, John Wiley & sons: 431-478
8. Spletni vir: <http://sl.wikipedia.org/wiki/Prebiotik> Datum dostopa: 2.3.2013
9. Gibson GR, Probert HM, Van Loo J, Rastall RA, Roberfroid MB: Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev* 2004; 17: 259-275
10. Holzapfel W H, Haberer P, Snel J, Schillinger U, Huis in't Veld JHJ: Overview of gut flora and probiotics. *Int J Food Microbiol.* 1998; 41: 85–101
11. Spletni vir:
[http://www.cbz.si/zzzs/pao/bazazdr2.nsf/o/C1686AECF97CCF98C12579EC001FF481/\\$File/s-0324.pdf](http://www.cbz.si/zzzs/pao/bazazdr2.nsf/o/C1686AECF97CCF98C12579EC001FF481/$File/s-0324.pdf) Datum dostopa: 2.4.2013

12. Quigley EMM: Probiotics and Prebiotics—What Is Their Role in Gastrointestinal Disorders? *US GastroHep Rev* 2008; 40-43
13. Balfour Sartor R: Mechanisms of Disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006; 3(7): 390-407
14. Köhler GA, Assefa S, Reid G: Probiotic Interference of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 with the Opportunistic Fungal Pathogen *Candida albicans*. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2012; 2012: 636474
15. Ooi LG, Liang MT: Cholesterol-Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics: A Review of in Vivo and in Vitro Findings. *Int J Mol Sci* 2010; 11: 2499-2522
16. Amdekar S, Singh V: Probiotics: For Stomach Disorders - An Evidence Based Review. *Am J PharmTech Res* 2012; 2(2): 164-186
17. Del Piano M, Carmagnola S, Anderloni A, Andorno S, Ballarè M, Balzarini M, Montino F, Orsello M, Pagliarulo M, Sartori M, Tari R, Sforza F, Capurso L: The use of probiotics in healthy volunteers with evacuation disorders and hard stools: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 30-34
18. Perdigón G, Fuller R, Raya R: Lactic Acid Bacteria and their Effect on the Immune System. *Curr Issues Intest Microbiol* 2001; 2(1): 27-42
19. Fotiadis CI, Stoidis CN, Spyropoulos BG, Zografos ED: Role of probiotics, prebiotics and synbiotics in chemoprevention for colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2008; 14(42): 6453-6457
20. Vujic G, Jajac Knez A, Despot Stefanovic V, Kuzmic Vrbanovic V: Efficacy of orally applied probiotic capsules for bacterial vaginosis and other vaginal infections: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013; published ahead of print
21. Levri KM, Ketvertis K, Deramo M, Merenstein JH, D'Amico F: Do probiotics reduce adult lactose intolerance? A systematic review. *J Fam Pract* 2005; 54(7): 613-620
22. Vliagoftis H, Kouranos VD, Betsi GI, Falagas ME: Probiotics for the treatment of allergic rhinitis and asthma: systematic review of randomized controlled trials. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008; 101(6): 570-579

23. Krasse P, Carlsson B, Dahl C, Paulsson A, Nilsson A, Sinkiewicz G: Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swed Dent J*. 2006; 30(2): 55-60
24. Mandel DR, Eichas K, Holmes J: *Bacillus coagulans*: a viable adjunct therapy for relieving symptoms of rheumatoid arthritis according to a randomized, controlled trial. *BMC Complement Altern Med* 2010; 10: 1
25. Fujimura S, Watanabe A, Kimura K, Kaji M: Probiotic Mechanism of *Lactobacillus gasseri* OLL2716 Strain against *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 2012; 50(3): 1134-1136
26. Lye HS, Kuan CY, Ewe JA, Fung WY, Liong MT: The Improvement of Hypertension by Probiotics: Effects on Cholesterol, Diabetes, Renin, and Phytoestrogens. *Int J Mol Sci* 2009; 10(9): 3755-3775
27. Recek M, Triler M: Probiotična prehranska dopolnila, Novinarska konferenca, Mipor 4.4.2012
28. Spletni vir: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf> Datum dostopa: 15.4.2013
29. Sousa T, Paterson R, Moore V, Carlsson A, Abrahamsson B, Basit AW: The gastrointestinal microbiota as a site for the biotransformation of drugs. *Int J Pharm* 2008; 363: 1-25
30. Marteau P: Safety aspects of probiotic products. *Scand J Nutr* 2001; 45: 22-24
31. Saarela M, Mogensen G, Fondén R, Mättö J, Mattila-Sandholm T: Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotech* 2000; 84: 197-215
32. Sleator RD: Probiotic therapy - recruiting old friends to fight new foes. *Gut Pathogens* 2010; 2: 5
33. Spletni vir: http://lekarna-plavz.com/index.php?page=shop.product_details&category_id=41&flypage=flypage.e.tpl&product_id=461&option=com_virtuemart&Itemid=1&vmcchk=1&Itemid=1
Datum dostopa: 2.3.2013
34. Spletni vir: <http://www.grandel.de/gesundheit/aminosaeuren-milchsaurebakterien/grano-flor> Datum dostopa: 2.3.2013
35. Spletni vir: <http://www.lekarnar.com/izdelki/nutrilab-probio-kapsule> Datum dostopa 2.3.2013

36. Rowe RC, Sheskey PJ, Quin ME: Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth edition, RPS Publishing, London, 2009: 917
37. Spletni vir: <http://www.bacterio.cict.fr/alintro.html#b>, Datum dostopa: 10.4.2013
38. Spletni vir: http://en.wikipedia.org/wiki/Bifidobacterium_animalis Datum dostopa: 11.4.2013
39. Jalali M, Abedi D, Varshosaz J, Najjarzadeh M, Mirlohi M, Tavakoli N: Stability evaluation of freeze-dried *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerance* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in oral capsules. *Res Pharm Sci* 2012; 7(1): 31–36
40. Spletni vir: <http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/MicrobeWiki> Datum dostopa: 11.4.2013
41. Alp G, Aslim B: Relationship between the resistance to bile salts and low pH with exopolysaccharide (EPS) production of *Bifidobacterium* spp. isolated from infants feces and breast milk. *Anaerobe* 2010; 16(2): 101-105
42. Corsetti A, Caldini G, Mastrangelo M, Trotta F, Valmorri S, Cenci G: Raw milk traditional Italian ewe cheeses as a source of *Lactobacillus casei* strains with acid-bile resistance and antigenotoxic properties. *Int J Food Microbiol* 2008; 125(3): 330-335
43. Spletni vir: <http://www.daily-mfg.com/documents/brochures/L.salivarius.pdf>
Datum dostopa: 5.5.2013
44. Corcoran BM, Stanton C, Fitzgerald GF, Ross RP: Survival of Probiotic *Lactobacilli* in Acidic Environments Is Enhanced in the Presence of Metabolizable Sugars. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71(6): 3060-3067
45. Lick S, Drescher K, Heller KJ: Survival of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in the Terminal Ileum of Fistulated Göttingen Minipigs. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67(9): 4137-4143
46. Grundmann O: The Gut Microbiome and Pre-systemic Metabolism: Current State and Evolving Research. *J Drug Metab Toxicol* 2010; 1: 104
47. Sinha VR, Kumria R: Microbially triggered drug delivery to the colon. *Eur J Pharm Sci* 2003; 18: 3-18
48. Spletni vir: <http://www.fda.gov/> Datum dostopa: 23.4.2013
49. Spletni vir: <http://www.efsa.europa.eu/> Datum dostopa: 23.4.2013

50. Lawson LD, Gardner CD. Composition, stability, and bioavailability of garlic products used in clinical trials. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 6254-6261
51. Matijašić BB, Zorič Peternel M, Rogelj I: Ugotavljanje deklariranih bakterij v probiotičnih prehranskih dopolnilih in zdravilih na slovenskem trgu. *Farm vestn* 2010; 61: 263-269
52. Spletni vir: <http://www.zps.si/hrana-in-pijaca/kakovost-zivil/test-probioticna-prehranska-dopolnila.html?Itemid=414> Datum dostopa: 25.4.2013
53. Spletni vir: <http://www.uradni-list.si/1/objava.jsp?urlid=200382&stevilka=3942> Datum dostopa: 27.4.2013
54. Hamilton-Miller JMT, Shah S, JT Winkler JT: Public health issues arising from microbiological and labelling quality of foods and supplements containing probiotic microorganisms. *Pub Health Nutr* 1999; 2(2): 223-229
55. Coeuret V, Gueguen M, Vernoux JP: Numbers and strains of lactobacilli in some probiotic products. *Int Food Microbiol* 2004; 97: 147-156
56. Drisko J, Bischoff B, Giles C, Adelson M, Rao RVS, McCallum R: Evaluation of Five Probiotic Products for Label Claims by DNA Extraction and Polymerase Chain Reaction Analysis. *Digestive Diseases and Sciences* 2005; 50(6): 1113-1117
57. Spletni vir: <http://www.bastyrcenter.org/content/view/664/> Datum dostopa: 18.5.2013
58. Chen T, Wu Q, Li1 S, Xiong S, Jiang S, Tan Q, Zhang Z, Zhu D, Wei H: Microbiological Quality and Characteristics of Probiotic Products in China. *J Sci Food Agric* 2013; published ahead of print