

Mgr Anna Zawistowska-Rojek

Mikrobiologiczna ocena jakości wybranych preparatów probiotycznych oraz charakterystyka bakterii z rodzaju *Lactobacillus* wyizolowanych z probiotyków i z materiału klinicznego

Streszczenie

Słowa kluczowe: adhezja, antagonizm, *Lactobacillaceae*, lekowrażliwość, probiotyki, produkty probiotyczne;

Probiotyki według definicji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) oraz Organizacji Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) to żywe drobnoustroje, które podane w odpowiedniej liczbie przynoszą korzyści zdrowotne dla gospodarza. Pojęciem probiotyki określane są również produkty, zawierające w swoim składzie drobnoustroje probiotyczne. W związku z ciągłym wzrostem zainteresowania substancjami biologicznie aktywnymi o potencjalnie korzystnym wpływie na organizm i zdrowie pacjenta lub konsumenta, zarówno na krajowym, jak i na zagranicznych rynkach, pojawia się coraz więcej produktów zawierających w składzie drobnoustroje probiotyczne. W Polsce, w zależności od wskazań, drobnoustroje probiotyczne stosowane są u ludzi w postaci: produktów leczniczych, suplementów diety, dietetycznych środków spożywczych specjalnego przeznaczenia medycznego, wyrobów medycznych oraz żywności fermentowanej.

Do drobnoustrojów probiotycznych zaliczyć możemy zarówno bakterie, należące do różnych gatunków, jak i grzyby drożdżopodobne. Bakterie należące do rodzaju *Lactobacillus* (obecnie klasyfikowane jako drobnoustroje z rodziny *Lactobacillaceae*, obejmujące m.in. rodzaje takie jak: *Lactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, czy *Lactiplantibacillus*) są najczęściej stosowanymi drobnoustrojami w różnego rodzaju produktach probiotycznych. Do głównych korzyści wynikających ze spożywania probiotyków zaliczyć należy stymulację układu odpornościowego, produkcję substancji przeciwbakteryjnych, regulację składu mikrobioty jelitowej, a także działanie antymutagene i przeciwnowotworowe. Drobnoustroje probiotyczne biorą także udział w syntezie witamin (B1, B2, B12, K), zwiększają biodostępność niektórych pierwiastków (np. miedzi, wapnia, żelaza, cynku, manganu), a także pobudzają perystaltykę jelit. Właściwości probiotyków są uzależnione od stosowanego szczepu.

Celem wykonywanej pracy było opracowanie przeglądowych materiałów dotyczących prozdrowotnych czynników biologicznych, w tym probiotyków oraz przeprowadzenie badań eksperymentalnych preparatów probiotycznych. W ramach opracowywania materiałów przeglądowych przeprowadzono analizę zagrożeń związanych ze stosowaniem probiotyków, wpływu probiotyków na zdrowie człowieka oraz analizę metod badań produktów probiotycznych. W przeprowadzonych badaniach eksperymentalnych określono przeżywalność szczepów bakterii probiotycznych w terminie ważności preparatów. Ponadto porównano właściwości bakterii z rodziny *Lactobacillaceae* pochodzących z materiału klinicznego ze szczepami znajdującymi się w preparatach probiotycznych dostępnych na polskim rynku, co dostarczyło informacji o możliwości przeżycia szczepów obecnych w probiotykach w środowisku przewodu pokarmowego człowieka. Efektem przeprowadzonych badań było również wytypowanie szczepów o potencjalnie najlepszych właściwościach probiotycznych, a także sprawdzenie czy szczepy znajdujące się w dostępnych preparatach charakteryzują się podstawowymi cechami typowymi dla probiotyków.

Wyniki badań wykazały, że analizowane produkty probiotyczne należące do grupy suplementów diety i dietetycznych środków spożywczych specjalnego przeznaczenia medycznego dostępne na polskim rynku są w większości niskiej jakości. Większość przebadanych produktów, w okresie ważności preparatu, nie zawierała liczby bakterii zgodnej z deklaracją producenta. Dużą luką systemową jest brak odpowiednich wytycznych – norm ISO, czy monografii farmakopealnych, umożliwiających określenie liczby bakterii w produktach zawierających w swoim składzie kilka różnych rodzajów bakterii.

W przeprowadzonych badaniach porównano również właściwości szczepów z rodziny *Lactobacillaceae*, pochodzących z produktów probiotycznych i wyizolowanych z materiału klinicznego. Wszystkie przebadane szczepy spełniały podstawowe wymagania stawiane bakteriom probiotycznym, takie jak: przeżywalność w niskim pH, przeżywalność w środowisku z dodatkiem 0,3% soli żółci, czy antagonizm wobec drobnoustrojów chorobotwórczych (m.in. *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *S. marcescens*, *E. cloaceae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. maltophilia*, *E. faecalis*, *S. aureus* i *S. epidermidis*). Określono również właściwości adhezyjne bakterii probiotycznych wybranych szczepów do linii komórkowych Caco-2 i HT-29, właściwości kompetycyjne wobec drobnoustrojów patogennych, a także agregację oraz koagregację badanych szczepów. Porównano również szczepy z rodziny *Lactobacillaceae* metodą genetyczną PFGE. Zaobserwowano bardzo duże podobieństwo niektórych szczepów pochodzących z różnych

produktów probiotycznych, co może wskazywać, że niektóre spośród badanych izolatów pochodzących z różnych produktów to te same szczepy. Podobnie, niektóre z przebadanych izolatów klinicznych, miały identyczne pulsotypy, jak szczepy pochodzące z produktów probiotycznych, co może świadczyć o ich zdolności przeżycia w środowisku przewodu pokarmowego konsumenta.

W wyniku przeprowadzonych badań, udało się również wytypować trzy izolaty kliniczne, które spełniały wymagania stawiane szczepom probiotycznym i nie były blisko spokrewnione z pozostałymi badanymi szczepami pochodzącymi z produktów probiotycznych. Szczepy te, po przeprowadzeniu dalszych badań, określających ich bezpieczeństwo, mogą potencjalnie być brane pod uwagę jako szczepy probiotyczne.

