

20479
СРПСКО ВЕТЕРИНАРСКО ДРУШТВО
ФАКУЛТЕТ ВЕТЕРИНАРСКЕ МЕДИЦИНЕ

ЗБОРНИК

РАДОВА И КРАТКИХ САДРЖАЈА



САВЕТОВАЊЕ ВЕТЕРИНАРА СРБИЈЕ
(са међународним учешћем)

*Врњачка бања,
26. - 29. септембар 2007. године*

БЕЗБЕДНОСТ ПРОБИОТИКА

Снежана Булајић, Зора Мијаћевић

Старија теорија нуди интригантан приступ у контроли негативних било каквих или пак патогених активности микроорганизама којима смо изложени. У току животног циклуса људи и животиња, постоје услови који могу да ствања повећаног ризика од инфекција, повећане активности патогених патогена или пак стања које карактерише смањена заштита од стране присутне, аутохтоне микрофлоре. Старија доб, третман са антибиотикима и имунокомпромитована стања организма домаћина такођер могу допринети колонизацији од стране патогена или условно патогених микроорганизама. Примена пробиотика може осигурати добит како се избегава интервенција без, у суштини, ризика, а уз обезбеђење баријере у случају напад микроорганизама. Рад извештава о постојећем законодавству усмереном на регулисање питања безбедности пробиотика.

Кључне речи: пробиотици, безбедност, законодавство

Дефиниција пробиотика

Дефиниција пробиотика се развијала паралелно са спознавањем механизма дејства којих пробиотици утичу на здравље људи и животиња (De Vuyst i др, 2004). Сам термин » пробиотик« први пут је представљен како би се описале културе продуковане од стране једног микроорганизама (протозоа), које стимулишу раст другог микроорганизама (Lilly i Stillwell, 1965). У овоме време, дефиниција која се у већини случајева користи јесте дефиниција Fuller-а (1989) - «пробиотици су живи микробни додаци храни, који утичу на животињу/човека домаћина побољшавајући баланс постојеће микробне популације». Године 1992. дефиниција се проширује тако да подразумева примену пробиотика не само у храни него и шире, али истовремено примену како моно, тако и мешаних култура (Havenaar i Huis in't

Снежана Булајић, асистент; др Зора Мијаћевић, ред. професор; Факултет ветеринарске медицине, Београд

Стога се пробиотик може дефинисати као препарат или производ који садржи живе, дефинисане микроорганизме у довољном броју, који мењају, односно позитивно делују на популацију микроорганизама (имплантација и/или колонизација), пре свега на популацију у гастроинтестиналном тракту, али и у другим телесним шупљинама домаћина и тиме остварују повољни здравствени ефекат у организму домаћина (De Vuyst i sar., 2004). Пробиотици имају примену у намирницама као што су јогурт, ферментисана и неферментисана млека, *infant formulae* и у фармацеутским приправцима. Повољни ефекти пробиотика подразумевају стимулисање имуног одговора, успостављање еубиозе у интестиналном тракту, «adjuvant» ефекат вакцине, редукција фекалних ензима који су имплицирани у иницијацији канцера, антимулагено и анти карциногено деловање, имуномодулацију, лечење «путничких» дијареја и дијареја повезаних са антибиотском терапијом, контрола Ротавирус и *Clostridium difficile* индукованог колитиса, превенција улцера у чијој етиологији један од фактора јесте *Helicobacter pylori*. Пробиотици су такођер имплицирани у стањима која захтевају редукцију серум холестерола, антагонизам у односу на узрочнике алиментарних обољења и узрочнике каријеса зуба, ублажавање симптома малабсорпције лактозе, као и кандидијазе и инфекција уринарног тракта (Saavedra, 2001; Salminen i sar., 1998a; von Wright i Salminen, 1999; Saarela i sar., 2000). Статус пробиотика подразумева задовољење неколико захтева: а) адхеренција на хелије, б) искључивање или редукција патогена, а на основу механизма конкуренције, ц) продукција киселине, хидроген пероксида и бактериоцина који испољавају антагонизам у односу на раст патогена, д) да су сигурни за употребу, неинвазивни, некарциногени и непатогени и ф) ефекат у смислу постизања повољног баланса микробне популације интестиналног тракта. Сојеви који се користе као пробиотици код људи изоловани су из гастроинтестиналног тракта људи и уобичајено припадају врстама рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*. У последње време, као пробиотици се користе и друге врсте бактерија млечне киселине, међу њима и ентерококе, *E. faecium*, *E. faecalis*, али и *S. thermophilus*, *L. lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Pediococcus acidilactici*, *Sporolactobacillus inulinus*, *E. coli*, *Bacillus cereus* («toyoi»), и кvasac *Saccharomyces cerevisiae* («boulardii») (Fuller, 1989; O'Sullivan i sar., 1992; Holzapfel i sar., 1998.). Иако је пробиотски концепт представљен још на почетку 20.-ог века од стране Иље Мечникова (Havenaar i Huis in't Veld, 1992), тек задње две деценије научници показују интерес за здравствено повољна својства микроорганизама, посебно бактерија млечне киселине и бифидобактерија. Овако оживљен научни интерес имао је за последицу развој бројних, тржишно доступних комерцијалних пробиотских препарата у виду фармацеутских приправака, али и производе који, као такви, представљају сегмент функционалне хране намењене исхрани људи, или се

користе као адитиви у сточној храни. И поред тога што у многим студијама експериментално изостаје научни доказ о ефикасности пробиотских препарата, модерне студије које се у свом извођењу приближавају стандардима статистичког тестирања фармацеутских агенаса, и поред оправдане опрезности, потврђују, код одређених пробиотских сојева, повољни ефекат (Marchand i Vandenplas, 2000). Традиционална примена starter микроорганизама примењивих у индустријским ферментацијама, пре свега у пекарској и пекарској индустрији, те у производњи вина, не подлеже таквим одредницама. Ипак, примена пробиотских микроорганизама се сматра неуобичајеном, до сада непримењеној, и као таквој непознатој пракси. Пробиотици, конзумирани од стране индивидуа који пате од лакших обољења, и то у виду фармацеутских припревака, могу се сматрати, мада не у правом смислу, и неком врстом лека. Стога је сасвим разумљиво да је процена безбедности ових микроорганизама од посебног интереса како за индустрију тако и за потрошача. У поређењу са хемијским адитивима у храни, чија је примена законски регулисана, не постоји дефинисан и/или проверени критеријум тестирања безбедности пробиотских микроорганизама. Оваква ситуација креира средину где се као императив поставља питање што скоријег регулисања безбедности пробиотика.

Како су сигурни пробиотици?

Захтеви безбедности постављени у односу на пробиотске производе и с тим у вези контролне мере, свакако да морају бити пропорционалне предвиђеном ризику њихове примене. Већина пробиотских производа садржи лактобациле и/или бифидобактерије. Ентерококе се повремено примењују. Квасац *Saccharomyces boulardi* се такођер користи као хумани пробиотик, мада далеко чешће у форми капсула и прашка. У већини случајева, о безбедности пробиотских сојева закључује се дедукцијом и то на основу уобичајене заступљености дотичне врсте микроорганизама у многим намирницама, или тиме што исти микроорганизми представљају нормалне коммензале гастроинтестиналног система људи. Са изузећем ентерокока, бактерије млечне киселине заједно са бифидобактеријама, ретко се доводе у везу са клиничким инфекцијама људи (већином стања бактеријемije и ендокардитиса код пацијената чији је имуни статус компромитован озбиљном примарном болешћу). С друге стране, ентерококе се у новије време сматрају опортунистичким патогенима, пре свега у болничким срединама (Moellering, 1992), проузрокујући ендокардитис, бактеријемiju, инфекције уринарног тракта и централног нервног система (Franz i sar., 1999).

Пробиотици би, теоретски, могли бити одговорни за следећа непожељна деловања: системске инфекције, штетне метаболичке активности, прекомерна имуностимулација код осетљивих индивидуа и трансфер гена (Marteau, 2002). У неколико случајева документована је корелација између системских инфекција и конзумације пробиотика, и у свим тим случајевима здравствени статус особа је био нарушен постојањем примарне болести. Изолација бактерија млечне киселине и бифидобактерија, у овим случајевима објашњава се као резултат опортунистичких инфекција. Према Gasser-а (1994), *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus lactis* и *Leuconostoc mesenteroides* могу се утврдити у случајевима бактеријског ендокардитиса; *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus acidilactici*, *Bifidobacterium eriksoni* и *Bifidobacterium adolescentis* се изолују из случајева септикемија, али исто тако и локалних инфекција. Један од услова пробиотског статуса јесте и захтев да пробиотске бактерије не продукују штетне супстанце на основу њихове метаболичке активности. У овом случају, испитује се способност микроорганизама да конвертују састојке хране или компоненте биолошких секрета у секундарне метаболите штетне по здравље људи. Поједини микроорганизми, чији примарни хабитат подразумева интестинални тракт људи и животиња (интестиналне бактерије), делују на протеине и њихове разградне продукте продукујући амонијак, индол, феноле и аминe (Drasar и Hill, 1974). Секундарне жучне киселине могу испољити карциногено деловање тако што промовишу пролиферацију ћелија одговорних за секрецију слузи, или пак делују као промотери карциногенезе (Cheah, 1990). Многе интестиналне бактерије, укључујући *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* spp., имају способност декоњугације коњугованих жучних киселина (Midtvedt и Norman, 1967). Ипак, резултати студија Takahashi и Morotomi (1994) и Ferrari и sar. (1980) потврђују да испитиване врсте бифидобактерија, лактобацила, *Leuconostoc lactis* subsp. *lactis* и *S. thermophilus* не поседују активност 7- α -дехидролазе, ензима одговорног за продукцију секундарних жучних киселина. Агаја-Којима и сар. (1995; 1996) закључују да, у поређењу са другим бактеријама интестиналног порекла, *Bifidobacterium* spp. имају нижу активност деаминаза, али зато већу активност асимилације амонијак.

Аспект безбедности пробиотских микроорганизама подразумева и дефинисање профила резистенције, пре свега резистенције на клинички значајне антибиотике, где се неприхватљивим оцењује постојање преносиве антибиотске резистенције. Мултирезистентни сојеви ентерокока наглашавају ову проблематику, посебно услед способности трансфера својства резистенције (бар у *in vitro* студијама) на друге врсте и родове микроорганизама (Noble и сар., 1992). Иако преносива антибиотска резистенција не представља уобичајену карактеристику многих других родова бактерија млечне киселине, код лактокока и лактобацила су познати

одговорни за следећа метаболничке активности, ивида и трансфер гена на је корелација између у свим тим случајевима, њем примарне болести. рија, у овим случајевима екција. Према Gasser и *L. casei*, *Lactobacillus des* могу се утврдити у *annosus*, *L. plantarum*, *Bifidobacterium eriksoni* и септикемија, али исто иотског статуса јесте и не супстанце на основу испитује се способност компоненте биолошких равље људи. Поједини ева интестинални тракт на протеине и њихове еноле и амине (Drasar и испољити карциногено ћелија одговорних за иогенезе (Cheah, 1990). *Bacterium* и *Lactobacillus* их жучних киселина Takahashi и Morotomi рсте бифидобактерија. *ermophilus* не поседују родукцију секундарних кључују да, у поређењу *dobacterium* spp. имају асимилације амонијак. низама подразумева и стениције на клинички је постојање преносиве интерокока наглашавају трансфера својства уте врсте и родове еносива антибиотска стику многих других актобацила су познати

бројни плазмиди, који служе као носачи гена резистенције. Путем конјугативних генетских елемената, лактококе и лактобацили могу преузети детерминанте антибиотске резистенције од других бактеријских врста (Teuber i sar., 1999). Како не постоји званични и јединствен приступ у процени безбедности пробиотских микроорганизама, компаније које производе и пласирају пробиотске препарате и производе на тржиште, усвојиле су различите приступе у осигуравању “нешкодљивости” својих сојева. Пробиотски кандидат сојеви пролазе тестирање кроз студије токсичности у случају чега се орално администрирају вишеструко концентрисаније дозе пробиотика (Donohue i sar., 1989), студије колонизације и транслокације код имунокомпромитованих животиња и животиња изложених зрачењу (Dong i sar., 1987; Wagner i sar., 1997), као и тестове деградације интестиналне слузи (Donohue i sar., 1989). Међутим, како не постоји јединствена слика о могућем механизму патогенезе и специфичним факторима вируленције код пробиотских сојева, то релевантност ових тестова остаје под знаком питања (Salminen i von Wright, 1998). Према Salminen i sar. (1998б) могу се применити три приступа у процени безбедности пробиотских сојева: студије о интринзич карактеристикама соја (својство декоњугације жучних соли, деградације слузи); студије о фармакокинетици соја (преживљавање о гастроинтестиналном тракту, при чему се користе једноставни модели тестирања осетљивости пробиотског соја на киселину и жуч, али и далеко sofisticиранији динамични “мултикомпартмент” модели као симулација динамике транзита и секреција у гастроинтестиналном тракту); могућност транслокације и својства колонизације која су уско повезана са способношћу адхеренције на интестинални епител; и студије које за циљ имају утврђивање интеракције између соја и организма домаћина:

Заједничка радна група Светске здравствене организације и Организације хране и пољопривреде Уједињених нација, препознајући значај питања безбедности, предлаже да се пробиотски сојеви карактеришу уз минимум спровођења следећих тестова (Joint WHO/FAO Working Group, 2002):

1. Одређивање профила резистенције на антибиотике
2. Процена одређених метаболничких активности (продукција Д-лактата, декоњугација жучних соли).
3. Процена штетних ефеката током извођења студија на људима

4. Епидемиолошки надзор неповољних инцидената код потрошача
5. Уколико испитујући сој припада врсти микроорганизама за који је познато да продукују токсине, сој се мора тестирати на могућу продукцију токсина
6. Уколико сој који је у процедури испитивања припада врсти микроорганизама са хемолитичким потенцијалом, захтева се демонстрација хемолитичке активности

У пракси, пробиотски сојеви представљени на тржишту показују се изванредно сигурним, чак иако су конзумирани од стране особа различите старосне доби, социо-економске структуре и здравственог статуса.

МИКРООРГАНИЗМИ ПРИМЕЊИВИ У ИНДУСТРИЈИ ХРАНЕ У ПОСТОЈЕЋЕМ ПРАВНОМ ОКВИРУ ЕВРОПСКЕ УНИЈЕ

Национални закони о храни на подручју Европе одражавају различиту социо-економску позадину, али и историјску традицију. Унутар Европске Уније, разне директиве и одредбе имају за циљ хармонизацију регулаторне праксе. Усаглашавање на нивоу Уније по питању законских одредби које регулишу подручје примене генетски модификованих микроорганизама, "нових, до сада не кориштених сојева микроорганизама те адитива у храни, углавном се заснива на интеракцији између национално компетентних власти и Европске Комисије. У формалном процесу доношења одлука, различити угледни одбори где су представљене државе чланице, имају кључну улогу. Научни одбори, чије чланове чине признати експерти, делују као саветодавни органи. На подручју законских одредница о храни и сточној храни најзначајнији научни одбори су Научни Одбор о Храни ("Scientific Committee on Food-SCF"), Научни Одбор о Исхрани Животиња ("Scientific Committee on Animal Nutrition-SCAN") и Научни Одбор о Биљкама ("Scientific Committee on Plants-SCP").

Са оснивањем Европске Управе за Безбедност Хране ("European Food Safety Authority-EFSA") на основу регулативе 178/2002, горе описани систем се мења. Задатак Европске Управе за Безбедност Хране јесте да успостави заједничку основу мера чија је сврха законско регулисање производње, промета и безбедности хране и сточних хранива у државама чланицама а на нивоу Европске Заједнице. Управа би требала осигурати независни научни извештај, процену и менаџмент ризика.

роорганизама за који је
а тестирати на могућу

тивања припада врсти
нцијалом, захтева се

на тржишту показују се
стране особа различите
еног статуса.

СТРИЈИ ХРАНЕ У ПСКЕ УНИЈЕ

у Европе одражавају
ску традицију. Унутар
за циљ хармонизације
по питању законских
тски модификованих
ва микроорганизама те
и између националних
ом процесу доношења
ене државе чланице
е признати експерти,
одредница о храни и
чни Одбор о Храни
о Исхрани Животиња
и Научни Одбор о

ране ("European Food
горе описани систем
е јесте да успостави
тисање производа,
вама чланицама а не
ти независни научни

EFSA преузима и функцију научних комитета, претходно придружених комисији, и успоставља властити научни панел координиран од стране научних комитета. Формира се следећих осам панела: Панел о адитивима, зачинима и помоћним средствима и материјалима у контакту са храном; Панел о адитивима и производима и супстанцама у анималној храни; Панел о здрављу и заштити биљака и њихових резидуа; Панел о генетски модификованим микроорганизмама; Панел о дијететских производима, исхрани и алергијама, Панел о биолошким хазардима, Панел о антиаминентима кроз ланац хране; Панел о здрављу и добробити животиња. Панели су 2003. године усвојили функције претходних научних комитета.

У европским земљама, сојеви микроорганизма који се примењују као традиционални стартери класификују се било као састојци самог производа, било као помоћна средства при процесу прераде, или пак као адитиви. Пробиотске културе, уколико су инкорпорирани у производ, обично се класификују као суплменти или дијететици, а у појединим случајевима и као фармацеутици. До данас, једино у Данској, одговарајући орган, у овом случају Данска Управа за Ветеринарство и Храну, мора бити обавештена од стране произвођача пре примене нових сојева микроорганизма. Данска уредба о адитивима у храни набраја сву потребну документацију, укључујући и "микробиолошко/токсиколошка испитивања на основу чијих резултата је могуће проценити да ли је примена културе, онако како је назначена у декларацији, оправдана". Ипак, у овом случају, приликом испитивања културе, не наводе се специфични тестови. У Француској, у разматрању је претржишни систем одобравања за сојеве микроорганизма који до сада нису примењивани. Предложене препоруке, објављене од стране Француске Агенције за Санитарну Безбедност Хране ("Agence Francaise de Sécurité Sanitaire des Aliments-AFFSA"), укључују списак тестова захтеваних у процени безбедности микроорганизма примењивих у сектору агропривредних производа и сточне хране. Резултати таквих тестова се процењују на основу "decision tree" приступа. У случају када је потребно добити податке о санитарном ризику испитиваног соја или пак постоји потреба гаранције непостојања ризика у односу на њихову намеравану употребу, постоје детаљна упутства о токсиколошком испитивању сојева, укључујући и лабораторијске студије испитивања на животињама. AFSSA смернице се односе на нове сојеве или пак сојеве микроорганизма који се примењују на нов, до сада не примењиван начин, док се генетски модификовани микроорганизми (ГМО) *per se*, у овом случају, не разматрају.

Микроорганизми примењиви у индустрији намирница и регулатива европске заједнице о новој храни

Према Регулативи Европске заједнице 258/97 ЕЕС, нову храну чине намирнице или њихови састојци који се до сада нису користили, бар не у значајном степену за људску исхрану. Специфично овоме, намирнице и састојци намирница који садрже или се састоје од, или се производе из микроорганизама, гљива или алги, односно генетски модификовани организми или намирнице које се састоје од, или изолују из микроорганизама, гљива или алги, припадају категорији нове хране. Дословно објашњавајући постојећу регулативу, сваки нови сој микроорганизама (сој који није примењиван пре 1997. године), требао би бити представљен на тржишту усвајајући процедуру која укључује и процену њихове безбедности. У пракси, стартер или пробиотски сојеви до сада нису били процењивани на основу захтева Регулативе 258/97 ЕЕС. Таква ситуација се делом објашњава тиме што велики број различитих сојева микроорганизама који се у данашње време користе у индустрији хране, чине дефиницију новог соја произвољном, а делом и због тога што се већина таквих сојева карактерише дугом историјом сигурне употребе, и тиме је специфична процена безбедности таквих сојева од ниског приоритета. Такође, комерцијализација већине, данас на тржишту присутних пробиотика, датира из периода пре 1997. године, и тиме се према Регулативи, и не узимају у разматрање.

Сасвим је другачија ситуација уколико се генетски модификовани микроорганизми примењују, било као стартер културе или пак пробиотика. Тада се Регулатива 258/97 у потпуности примењује. Ипак, у светлу постојеће законодавне климе и мишљења потрошача у Европској заједници, овакав проспект и даље има слабе могућности за реализацију мада одређени достигнућа чине ову могућност актуалном. Налаз да се лактококе, генетски инжињерингом модификоване тако да продукују хумани интерлеукин II, могу успешно применити у третману експериментално индуковане интестиналних инфламација код миша (Steidler *et al.*, 2000), води ка новом подручју примене и конструисању пробиотика са дизајнираном активношћу у промовисању здравља. Мада овакви производи спадају у категорију између хране и лекова, њихово увођење на тржиште, без сумње ће креирати судан преседан са значајним последицама у сектору функционалне хране. Али и сада, протуречности у односу на статус бактерија млечне киселине у различитим националним регулативама (адитиви, помоћна средства или састојци намирница), настављају да и даље усложњавају ситуацију и онемогућују хармонизацију законских мера на нивоу Европске заједнице.

Законски прописи који се односе на пробиотице примењиве као адитиви у сточној храни

Супротно релативно недефинисаном положају starter култура и посебно пробиотика унутар законодавног оквира Европске заједнице, производи који се користе као адитиви у сточној храни су пажљиво регулисани. Адитиви у сточној храни су законски регулисани на основу Директиве 70/524/ЕЕС, док Директива 87/153/ЕЕС дефинише смернице за процену безбедности сточних адитива. Директива 70/524/ЕЕС је замењена Регулативом 1831/2003 ЕУ. Релевантни научни комитет (SCAN) има улогу стручног тела, како у процени безбедности примене сточних адитива тако и у формулисању смерница. SCAN је 2001. године, ажурирао упутства о ефикасности и процени безбедности ензима и микроорганизама који се користе као адитиви у сточној храни. SCAN је уједно, изразио и мишљење о безбедности *Bacillus* врста у исхрани животиња (ЕС; 2000), успоставио критеријуме за процену микроорганизама резистентних на антибиотике (ЕС, 2001, ревидирано 2002). Дато мишљење о бацилима и микроорганизмима резистентним на антибиотике одражава посебну забринутост услед нових налаза о токсогености одређених *Bacillus* spp. и проблема повећане преваленце бактерија резистентних на антибиотике у ланцу хране. SCAN смернице и мишљења представљају једине, до сада постављене европске смернице у погледу тестирања нових микробних сојева.

SCAN смернице при процени безбедности ензима и микроорганизама

Безбедност микроорганизама који се користе као адитиви у сточној храни поставља се у односу на “target” животињу, оператора/корисника и интроспача. Безбедност је потребно демонстрирати применом специфичних тестова и студија. Примена сојева микроорганизама који продукују токсине који имају познате факторе вируленције, није дозвољена. Тестирани сојеви не би требали продуковати антибиотске супстанце од значаја у хуманој и ветеринарској медицини, нити би требали носити преносиве детерминанте вируленције на исте антибиотике.

Безбедност у односу на “target” животињу. Безбедност у односу на “target” животињу се поставља на основу теста “толеранције”. При овој примени, “target” животиња се изложи десетороструко увећаној дози коначног производа (микроорганизам и носач). Тест се спроводи на свакој од “target” врста или животињских категорија, код којих се дотични производ и одржава, на основу изјаве, применити. Минимални период тестирања је један месец, уколико се тестирање изводи код младих животиња; с друге

стране, код старијих категорија животиња, нпр. млечних крава, период тестирања износи најмање три месеца. Током извођења теста, животиње су изложене уобичајеном мониторингу на неповољне ефекте, а тестира се и квалитет самог производа. Аутопсија и хистопатологија се не захтевају, у најмању руку у студију могу бити укључене рутинске анализе крви. Утицај адитива на баланс интестиналне микрофлоре се процењује на основу култивисања и пребројавања микробних група фекалне флоре (колиформе, ентерококе, кластридије и др.). Исто тако, прати се и стопа преживљавања у интестинуму, али и у ком периоду производ ишчезава и не може се утврдити у фецесу по престанку администрације производа.

Безбедност оператора/корисника. Микроорганизми који се користе као адитиви у сточној храни већином су формулисани као прашак или грануле. Тиме је највероватнија изложеност оператера производу путем контакта са кожом или инхалацијом, те се изводе тестови иритације коже, а у погледу респираторне сензитизације, микробни адитиви се *apriori* сматрају надражујућим средствима, уколико се не пружи доказ о супротном. Стога се препоручују заштитне мере и захтевају посебне студије о својствима прашине и величини честица, а како би се проценила дистрибуција инхалиране фракције.

Безбедност потрошача. Проблем безбедности потрошача произлази из оних производа ферментације, који нису у потпуности окарактерисани и који се као такви могу акумулисати у ткиву животиње, наћи у животињским прерађевинама и тиме представљати ризик по здравље потрошача. Карактеризацијом овог ризика, захтева се извођење одређених тестова, пре свега токсиколошких тестова, и то студије генотоксичности и орални тест токсичности. Уколико иницијални тестови дају индикацију генотоксичности, потребне су даљне *in vivo* студије код животиња. Орални тест токсичности јесте 90 дневна студија храњења глодара, а на основу смерница датих од стране ЕУ. Пожељни начин администрације јесте инкорпорисање у храну, мада се производ може дати и са пијаћом водом.

Посебне студије које се захтевају за пробиотске сојеве *Bacillus spp.* Како је познато да поједини бацили, посебно они који припадају *Bacillus cereus* групи, продукују ентеротоксине и еметични токсин, одговорне за случајеве алиментарних тровања, неопходно је тестирати пробиотске сојеве бацила на токсичност. Захтеване студије почињу са поузданом таксономском карактеризацијом соја. У случају да испитивани пробиотски сој бацила припада *Bacillus cereus* групи, неопходно је PCR методама потврдити или искључити присуство гена чија је експресија одговорна за продукцију ентеротоксина. Додатно, како би се искључила могућност непознатих ентеротоксина и еметичних токсина, чији гени нису идентификовани и тиме нису ни конструисани одговарајући прајмери,

потребно је извести испитивања цитотоксичности на дефинисаним ћелијским линијама. Ови тестови се захтевају и у случају када се ради о врстама бацила који не припадају *Bacillus cereus* групи.

Процена резистенције на антибиотицике анималних пробиотика.

Циљ дефинисања профила осетљивости/резистенције код микроорганизама који се користе као адитиви у сточној храни јесте да се онемогући улазак сојева, који носе преносиве детерминанте резистенције у ланац хране, а тиме и ширење резистенције на хумане и анималне патогене. У пракси, већина бактерија је резистентна на неке од антибиотика. Међутим, уколико је резистенција интринзич карактера или се пак заснива на физиолошким или структуралним посебностима соја (нпр. карактеристике ћелијског зида), трансфер својства резистенције на осетљиви организам друге врсте је мало вероватна. Илустрације ради служи пример инхерентне резистенције на ванкомицин код појединих лактобацила, а услед структуралне особености пептидогликана (Evers i sar., 1996), док се, с друге стране, код ванкомицин резистентних сојева ентерокока, фенотип резистенције заснива на преносивим генетским детерминантама (Arthur i sar., 1996).

У мишљењу датом 2001. године (преуређеном и допуњеном 2002. године) SCAN предлаже листу оних антибиотика, за које је потребно одредити минималну инхибиторну концентрацију (Minimal Inhibitory Concentration-MIC). Наводе се и MIC граничне вредности за *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* i *Bacillus* spp., на основу којих се може извршити категоризација сојева на резистентне и осетљиве (табела 1).

MIC вредности за лактобациле, по општем мишљењу, заснивају се на малом броју података, и тиме је њихова релевантност под знаком питања. Пред тога, лактобацили представљају веома хетерогену групу микроорганизама и услед постојеће варијабилности тешко је одредити да ли различите субгрупе лактобацила носе интринзич или стечену резистенцију. У светлу овога, захтевају се даљна испитивања. Уколико је MIC вредност за одређени антибиотик изнад граничних вредности датих од стране SCAN, треба се тестирати преносивост својства резистенције и то уколико је могуће извођењем експеримента коњугације. Донор сој са фенотипом резистенције на одређени антибиотик се помеша са реципијент сојем исте врсте микроорганизама али осетљивим на дати антибиотик. У тест мора бити укључен и позитивни контролни донор сој који носи познати коњугативни плазмид способан да се пренесе у реципијент сој. Тиме се осигурава да потенцијални негативни резултат експеримента коњугације спроведеним са истим донор сојем није резултат грешке у експерименталном дизајну. Уколико се не утврди трансфер гена, исти сој се тестира на присуство познатих гена резистенције применом PCR методологије. У случају да се не утврде гени

резистенције, изводи се закључак да се ради о интринзич резистенцији или пак у основи резистенције лежи мутација, и тиме не постоји ризик преноса. Доказ интринзич резистенције је уједно и најтежи задатак, будући да се у пракси захтева идентификација и изолација ген(а) одговорних за фенотип резистенције на антибиотик.

Табела 1. Микробиолошке граничне вредности кориштене од стране SCAN у категоризацији бактеријских врста као резистентних (мг/л). Сојеви са МИС вредношћу једнаком или већом од доле наведених граничних вредности се сматрају резистентним. Р=природна резистенција*

Антибиотик	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Bacillus</i>
ampicilin	8	8	2	2**	2**
streptomycin	1024	1024	32	16	64
kanamicin/neomicin	1024	1024	32	32	64
gentamicin	500	500	4	1	8
hloramfenikol	16	16	16	16	16
tetraciklin	16	16	16	16	16
eritromicin	4	4	4	4	4
kvilupristin/dalfopristin	4	R	4	4	4
vankomicin	8	8	R	4**	4
trimetoprim	8	8	16	32	8
cipro/enrofloksacin	4	2	16	4**	1
linezolid	4	4	4	4	4
rifampin	4	4	8	32	4

* Одређивање МИС вредности није потребно за врсте које поседују природну резистенцију на антибиотик

** Одређене врсте су природно резистентне

Како је интринзич резистенција специфична за бактеријску врсту или род, неопходан предуслов јесте тачна идентификација соја. За поједина својства резистенције је познато да су интринзич карактера, на пример резистенција на ванкомицин код *Pediococcus* spp., и код одређених врста лактобацила, и тиме нису потребне даљне анализе. Ипак, у случају клинички значајних антибиотика, треба проверити могућност да плазмидима посредована резистенција буде маскирана интринзич резистенцијом. Код *Pediococcus* spp. *vanA* или *vanB* тип резистенције посредован плазмидима може бити маскиран интринзич ванкомицин резистенцијом, те се присуство *van* гена треба проверити PCR методом или хибридизацијом.

Уколико при карактер се може утврдити (SO-100), који припада већини тестираних сојева, доказ да је резистенција код *Staphylococcus aureus* каталонске пенцилазе, чији ген је повезан са резистенцијом претпостављају анализираних сојева, доказ. Уколико се не налази резистенције за који је доказан (ген), то такође нејасно је интринзич резистенција.

Код Грам позитивних резистенцији се фокусирају на природу и механизме, које су проучени код различитих микроорганизама. Као пример, мобилни ген је доминантан код микроорганизама. Код *Lactobacillus* доминантни ген одговоран за резистенцију, од стране, код хуманих микроорганизама. Стога, немогућност дефинитивно дистрибуиран код патогених организације комензала изолован.

Уколико се при трансфер својства резистенције да резистенција је утврђен. Поред тога, немогуће је утврдити могућност са могућим негативних транспозитивних трансфера. У табели 2. се могу применити, у циљу осигурања интринзич карактера. Најбољим методама, у случају, буде секвенцирање предложити један дефинитивно заснива на акумулацији дефинитивног до

инtrinsic резистенцији или не постоји ризик преноса и задатак, будући да се у одговорних за фенотип

штене од стране SCAN у). Сојеви са МИС вредношћу их вредности се сматрају

ecus	Lactobacillus	Bacillus
	2**	2**
	16	64
	32	64
	1	8
	16	16
	16	16
	4	4
	4	4
	4**	4
	32	8
	4**	1
	4	4
	32	4

е које поседују природне

теријску врсту или ризик соја. За поједина својства, на пример резистенцију, на пример резистенцију, ових врста лактобацила, имају клинички значајне плазмидима посредованим. Код *Pediococcus* одређенима може бити маскаринско присуство *van* гена треб

Уколико природа резистенције није позната, могући интринзични карактер се може утврдити потврдом резистенције код великог броја сојева (50-100), који припадају истој врсти. Ипак, присуство резистенције код већине тестираних сојева једне врсте микроорганизама, није дефинитиван доказ да је резистенција интринзич карактера. Приближно 90% сојева *Sarphylococcus aureus* је резистентно на пеницилин Г на основу продукције пеницилазе, чији ген је локализован на плазмиду. Уколико се о интринзич резистенцији претпоставља на основу утврђене резистенције код свих анализираних сојева, потребно је обезбедити, што је више могуће, додатних доказа. Уколико се ПЦР методом или хибридизацијом не утврди ген резистенције за који је познато да је преносивог карактера (нпр. *tet* или *erm* ген), то такођер није дефинитиван доказ, мада јесте снажна индикација интринзич резистенције.

Код Грам позитивних бактерија, већина студија о антибиотској резистенцији се фокусира на организме патогене за људе и животиње. Тиме се природа и механизми резистенције, као и одговорни гени резистенције већ се проучени код патогена, него код опортунистичких микроорганизама или микроорганизама без патогености, односно комездала. Специфични мобилни ген је доминантно дистрибуиран унутар одређеног рода или врсте микроорганизама. Код стрептокока и ентерокока, *ermB* ген представља доминантни ген одговоран за резистенцију на еритромицин, док, с друге стране, код хуманих изолата стафилокока доминирају *ermA* и *ermC* гени. Стога, немогућност детекције гена за који је познато да је у значајној мери дистрибуиран код патогена људи и животиња, никако не искључује, у оквиру акумулације комездала, присуство мобилног гена који још увек није идентификован.

Уколико се приликом извођења експеримента коњугације, не утврди трансфер својства резистенције са донор на реципијент сој, то још увек не значи да резистенција није преносивог карактера, већ пре, да сам трансфер није утврђен. Поред тога, некоњугативни транспозони или мали плазмиди имају могућност самосталног трансфера, већ се мобилишу акцијом некоњугативних транспозона и плазмиди.

У табели 2. се наводи списак предложених метода, које се могу применити, у циљу осигуравања доказа о томе да је утврђена резистенција интринзич карактера. Најбољи доказ пружају генетске методе, мада се ради о различитим методама, будући да је потребно да ген резистенције, у том случају, буде секвенционисан делимично или у целини. Како није могуће предложити један дефинитивни експеримент, доказ интринзич резистенције заснива на акумулацији резултата више метода, које узете засебно немају дефинитивног доказа, али представљене заједно делују уверљиво.

Табела 2. Експерименти који се могу користити у одређивању интринзич природе резистенције на антибиотике

1. Резистенција утврђена код великог броја сојева (50-100) који припадају истој врсти
2. Неутврђивање <i>in vitro</i> трансфера резистенције
3. Применом ПЦР методе или хибридизације - немогућност детекције познатих гена резистенције (<i>erm</i> , <i>tet</i> ...)
4. Изолација и детерминација секвенце гена и утврђивање специфичности у односу на врсту
5. Утврђивање локализације гена на хромосому кориштењем обилежених проба специфичних за ген.
6. Утврђивање нуклеотидних секвенци које омеђују ген како би се доказало присуство "хоусе-кеепинг" гена. Може се такођер утврдити и непостојање инсерционих секвенци.

Контролисање микроорганизама примењивих у индустрији хране на подручју Америке

Према US Федералном акту о храни, лековима и козметичким средствима, микроорганизам који се користи у индустрији хране може бити класификован било као адитив, у ком случају његова употреба треба бити одобрена од стране Управе за Храну и Лекове ("Food and Drug Administration-FDA"), а на основу података о ефикасности, односно безбедности истог, или се пак микроорганизам генерално сматра безбедним карактеришући се тиме тзв. GRAS статусом ("Generally Recognised As Safe"). GRAS статус се остварује на два начина. Или супстанца, односно микроорганизам има историју безбедне употребе у храни, и то пре 1. јануара 1958. године, или се његова употреба сматра, на основу мишљења квалификованих стручњака, безбедним у условима намераване употребе. У пракси, GRAS статус представља, у неку руку, начин заобилажења стандардних процедура одобравања. Поред тога, GRAS статус подразумева да одговорност за безбедност производа лежи искључиво на произвођачу.

Значајна карактеристика GRAS приступа јесте и то да одговорност обезбеђења независног мишљења стручњака о безбедности супстанце или микроорганизама почива искључиво на апликанту, а FDA или прихвата, или изражава неслагање са датим мишљењем. Исто тако, GRAS статус је обично ограничен на специфичну примену супстанце или микроорганизама, а свакако не на генералну употребу организма у другом контексту или другом

производу. Тако, T14 се карактеристично примењује у инфанцији и најчешће примењује са статусом може се пронаћи на [micro.html](#).

Јасно је да одређених замки система контроле земљама Европске Европи изазивају (антибиотике), па је светлу тога да могао "квалификоване п (QPS)".

Концепт

Приликом тестирања безбедности сточној храни, SCAN, међутим, бива изложен да адитив у сточној храни или пробиотски суплементи постоји велики број индустрији хране и микробне заједнице. Тиме се потврђује стандарди безбедности буду проширили и може се очекивати индустрију, него

Као решен је "поситион микроорганизама ("Safety Assessment Applications"). У специфичних микроорганизама и раз

ковима и козметичким
устирији хране може бити
ова употреба треба бити
кове ("Food and Drug
о ефикасности, односно
ерално сматра безбедно
ally Recognised As Safe").
Ли супстанца, односно
храни, и то пре 1. јануара
, на основу мишљења
а намераване употребе.
ку, начин заобилазњавања
GRAS статус подразумева
учиво на произвођачу.
есте и то да одговорност
збедности супстанца лежи
а FDA или прихвата, онда
то, GRAS статус је обавезан
или микроорганизама, у
гом контексту или другој

инструменту. Тако, нпр. *Bifidobacterium lactis* Bb12 и *Streptococcus thermophilus* су се карактеришу GRAS статусом у односу на њихову специфичну примену у *аифант* формули. Делимична листа микроорганизама, укључујући и неке примењиване стартер организме, и микробне производе са GRAS статусом може се наћи на порталу <http://www.цфсан.фда.гов/~дмс/опа->

Лакно је да GRAS концепт штити USA регулаторни систем од неких тешки које се примером показују у недоследности новонастајућег система контроле и процене безбедности примене микроорганизама у Европској Унији. Док US систем не разматра одређене теме које у Европи изазивају забринутост (као што је нпр. преносива резистенција на антибиотике), пажљива анализа GRAS концепта показује његову корисност у светлу тога да може послужити као модел за предложени европски приступ "квалификоване претпоставке безбедности" ("Qualified Presumption of Safety - QPS").

Концепт квалификоване претпоставке безбедности - QPS

Приликом формулисања смерница о захтевима и протоколу тестирања безбедности микроорганизама који се примењују као адитиви у сточној храни, SCAN не сматра да сојева, са историјом безбедне употребе у храни намењеној људима, треба ослободити захтеваних студија безбедности. SCAN, међутим, спознаје да ово може водити нелогичној ситуацији где соја би био изложен далеко строжијем тестирању у случају када се користи као адитив у сточној храни, но што би то био случај да се примењује као стартер или пробиотски сој у исхрани људи. Ситуација се даље усложњава тиме да постоји велики број микробних врста и сојева који се већ примењују у индустрији хране, неки као дефинисани стартери, али опет многи као микробне заједнице развијене спонтано или као резултат "бацк-слоппинг". Тиме се потврђује велика варијабилност примењиваних сојева. Уколико се стандарди безбедности слични онима који се примењују на сточне адитиве већу проширили и на ове микроорганизме и производе повезане са њима, може се очекивати веома тешка, готово немогућа ситуација, не само за индустрију, него и за потрошаче али и за органе инспекције и контроле.

Као решење, 2002. године, SCAN објављује, у циљу излагања става, свој "поситион папер"- "Процена безбедности и аспект контроле микроорганизама примењивих у сточној храни и храни намењеној људима" ("Safety Assessment and Regulatory Aspects of Microorganisms in Feed and Food Applications"). У овом документу, предлаже се да се састави листа специфичних микроорганизама са историјом безбедне употребе и то у циљу објашњавања и разјашњења постојећег система одобрења оних производа у

чији састав улазе дотични микроорганизми или се производе на основу истих. Списак микроорганизама би се заснивао, директно цитирајући сам документ, на “квалификованој претпоставци безбедности (Qualified Presumption of Safety-QPS). У овом случају претпоставка се дефинише као уверење, убеђење или претпоставка утемељена на разумном доказу и квалификована тако да дозвољава примену одређених ограничења.

Европска Управа за Безбедност Хране преузима одговорност за покретање европске иницијативе у циљу усвајања QPS система, који слично GRAS систему у Америци омогућава сојевима микроорганизама, који на основу дуге историје сигурне употребе већ имају успостављен статус безбедности, увођење на тржиште без потребе претходног опсежног тестирања (EFSA, 2004).

Усвајање QPS система би имало многе предности:

- ◆ систем би осигурао хитно потребан механизам хармонизације процене безбедности микроорганизама кроз ланац хране. Хармонизација и јединствен приступ, у том случају, могу се остварити без компромитовања стандарда постављених за микроорганизме који се примењују у сточној храни, али исто тако, без захтева да сви организми са дугом историјом безбедне употребе буду изложени опсежној и непотребној процедури тестирања
- ◆ систем би, у будућности, могао дозволити увођење квалификованог општег система одобрења, смањујући тиме потребу за излишним и понављајућим тестирањем, што би оснажило комерцијални развој нових производа без компромитовања безбедности истих
- ◆ применом QPS система, процена безбедности би могла бити ограничена на оне аспекте који су од значаја за тестирање микроорганизам (нпр. присуство маркера преносиве резистенције на антибиотике код бактерија млечне киселине или познатих фактора вируленције код сојева за које је познато да поседују патогени потенцијал)

ЗАКЉУЧАК

Европски правни оквир на основу Регулative 258/97 ЕЕС, покрива подручје примене и контроле оне хране и оних састојака који се до сада, у значајном опсегу, нису користили у исхрани људи у земљама чланицама Европске заједнице, тзв. нова храна. Код пробиотских производа, проблем

јесте што још добијени акти или немају ста дефиницији с безбедности н статуса. То би анализу њихов њихове дотада безбедности с статус нове, д сојеве статус састојцима (“У извршио проце да сојеви навед Један пробиотских ба

- (1) Произво његову безбедн
- (2) Уколико нове х процеду
- (3) Када пр примене произво
- (4) Најбољи историј припада докумен се проц производ
- (5) Када сој али не п сој може

јесте што још увек није заузет коначни став о томе да ли производи који су добијени активношћу микроорганизама или садрже микроорганизме имају или немају статус нове хране. Генетски модификовани организми, по самој дефиницији се сматрају новином. За друге микроорганизме, процена безбедности њихове примене претпоставља претходно дефинисање њихова статуса. То би подразумевало фенотипску и генотипску карактеризацију соја, анализу њихове заступљености у намирницама те податке о историји њихове дотадашње примене у намирницама. Даљни критеријуми процене безбедности се постављају у случају да примена тестираног соја добије статус нове, до сада непримењиване праксе, а производ који садржи такве сојеве статус нове хране. Британски саветодавни одбор о новој храни и састојцима ("UK Advisory Committee on Novel Foods and Ingredients") је извршио процену сојева *Lactobacillus GG* и *Lactobacillus johnsonii* и закључио да сојеви наведених врста лактобацила не представљају нове сојеве. Један од могућих модела процене и осигуравања безбедности пробиотских бактерија би био следећи:

- (1) Произвођач који уводи на тржиште пробиотски производ и врши његову продају има пуну и коначну одговорност са аспекта безбедности таквог производа.
- (2) Уколико се за пробиотски производ испостави да припада категорији нове хране, тада мора бити изложен одговарајућој званичној процедури одобравања (ЕУ Регулатива за нову храну)
- (3) Када процењивани сој микроорганизама има дугу историју безбедне примене, бит ће безбедан и као пробиотски сој, а његова примена у производима неће исти производ класификовати као нову храну
- (4) Најбољи тест за безбедност хране јесте веома добро документована историја безбедне потрошње од стране људи. Стога, уколико сој припада врсти унутар које нису утврђени патогени сојеви, а добро је документована дуга историја сигурне употребе, врло вероватно да ће се процењивани сој показати безбедним и као пробиотски сој, а производ у чији састав улази неће имати статус нове хране
- (5) Када сој припада врсти унутар које нису утврђени патогени сојеви, али не постоји извештај о историји сигурне употребе, испитивани сој може бити сигуран као пробиотски сој али би се сам производ

требао категоризирати као нова храна, а процену његове безбедности вршити на основу стеченог статуса

- (6) Када сој припада врсти унутар које су утврђени патогени сојеви, примена тог соја у намирници ће резултирати у добијању статуса нове хране
- (7) У карактеризацији пробиотског соја захтевају се најновије таксономске методе, пре свега DNA-DNA хибридизација и детерминација рРНА секвенце.
- (8) Сојеви код којих се утврде мобилни гени резистенције на антибиотике, нпр. гени који кодирају протеине одговорне за инактивацију антибиотика, не би смели ући на тржиште
- (9) Сојеви који нису на одговарајући начин таксономски описани, исто тако, не би смели бити представљени на тржишту. Сојеви би се, поред тога, требали депоновати у међународно познатој колекцији култура микроорганизма.

ЛИТЕРАТУРА:

- Araya-Kojima, T., Yaeshima, T., Ishibashi, N., Shimamura, S., Hayasawa, H. 1995. Inhibitory effects of *Bifidobacterium longum* BB536 on harmful intestinal bacteria. *Bifidobacter. Microflora* 14: 59-66; Araya-Kojima, T., Yaeshima, T., Ishibashi, N., Shimamura, S., Hayasawa, H. 1996. Inhibitory effects of human-derived *Bifidobacterium* on pathogenic *Escherichia coli* serotype O-111. *Biosci. Microflora* 15: 17-22; Arthur M, Reynolds P, Courvalin P. 1996. Glycopeptide resistance in enterococci. *Trends Microbiol.* 4: 401-407; Cheah, PY. 1990- Hypotheses for the etiology of colorectal cancer - an overview. *Nutr. Cancer* 14: 5-13; De Vuyst, L., Avonts, L., Makras, E., 2004. Probiotics, prebiotics and gut health (Chap.17). Remacle, C., Reusens, B. (Eds.), *Functional Foods, Ageing and Degenerative Disease*. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, United Kingdom, pp. 416-482; Dong M-Y, Chang T-W, Gorbach, SL. 1987. Effects of feeding *Lactobacillus* GG on lethal irradiation in mice. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 7: 1-7; Donohue DC, Salminen S, Marteau P. In: Salminen von Wright Ed, *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspect*. Marcel Dekker, Inc, New York 1998; 369-383; Drasar, BS, Hill, MJ. 1974. Human intestinal flora. London:Academic Press, 72-102; European Food Safety Authority, 2004. EFSA Scientific Colloquium Summary Report. QPS: qualified presumption of safety of microorganisms in food and feed. European Food Safety Authority, Brussels, Belgium; European Commission (EC) 2000. The safety of use of *Bacillus* species in animal nutrition.; European Commission (EC) 2001. Guidelines for the assessment of additives in feedingstuffs., part 1: Enzymes and microorganisms;

European Commission
Aspects Of Microorga
2002. The criteria for
R. Jr, Courvalin P. 199
Resist. 1(2): 219-23;
transformations by str
Holzapfel WH, Stiles
Microbiol. 47: 1-24; I
Bacteriology 66, 365
occurrence in human c
in't Veld, J.H.J., 199
Bacteria in Health an
Haberer, P., Sneal, J.,
and probiotics. Intern
Stillwell, R.H., 1965.
Science 147, 747-748;
the benefit of the host
Marteau, P. 2002. Safe
T., Norman A. 1967.
found in intestinal cor
1992. Emergence of *En*
Noble W, Virani Z,
genes from *Enterococ*
Microbiol. 93: 195-19
1992. Probiotic bacteri
314; Report of a Joi
Evaluation of Probiotic
Saarela M, Mogensen C
safety, functional and te
2001. Clinical applicati
1147S-1151S; Salmine
Microb. Ecol. Health I
SL1998a In: Salminen,
Aspects. Marcel Dekke
Warelli, L., Marteau, P,
Mogensen, G., Birkelar
probiotics - review. Int
Hans W, Schotte L, Ne
Colitis by *Lactococcus l*
T. Morotomi, M. 1994.
Lactobacillus and *Bifido*
E 1999. Acquired antil
Lewenhock 76 (1-4)
effects and open questio
Warner T, Roberts L
immunodeficient mice w

- European Commission (EC) 2002. Position Paper on Safety Assessment and Regulatory Aspects Of Microorganisms in Food and Feed Applications; European Commission (EC) 2002. The criteria for assessing microorganisms resistant to antibiotics.; Evers S, Quintiliani R Jr, Courvalin P. 1996. Genetics of glycopeptide resistance in enterococci. *Microb. Drug Resist.* 1(2): 219-23; Ferrari, A., Pacini, N., Canzi, E. 1980. A note on bile acid transformations by strains of *Bifidobacterium*. *J. Appl. Bacteriol.* 49: 193-7; Franz CM, Holzapfel WH, Stiles ME. 1999. Enterococci at the crossroads of food safety? *Int. J. Food Microbiol.* 47: 1-24; Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 66, 365-378; Gasser, F. 1994. Safety of lactic acid bacteria and their occurrence in human clinical infections. *Bull. Inst. Pasteur* 92: 45-67; Havenaar, R., Huis in't Veld, J.H.J., 1992. Probiotics, general view. In: Wood, J.B.J. (Ed.), *Lactic Acid Bacteria in Health and Disease*. Elsevier, London, United Kingdom; Holzapfel, W.H., Haberer, P., Sneal, J., Schillinger, U., Huis in't Veld, J.H.J., 1998. Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of Food Microbiology* 41, 85-101; Lilly, D.H., Stillwell, R.H., 1965. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. *Science* 147, 747-748; Marchand J, Vandenplas Y. 2000. Micro-organisms administered in the benefit of the host: myths and facts. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 12 (10): 1077-88; Marteau, P. 2002. Safety aspect of probiotic products. *Scand.J.Nutr.* (In Press).; Midtvedt, T., Norman A. 1967. Bile acid transformation by microbial strains belonging to genera found in intestinal contents. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 7: 629-38; Moellering, RC. 1982. Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. *Clin. Infect. Dis.* 14 (6): 1173-4; Noble W, Virani Z, Cree RGA. 1992. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Lett. Microbiol.* 93: 195-198; O'Sullivan, M.G., Thornton, G., O'Sullivan, G.C., Collins, J.K., 1982. Probiotic bacteria: myth or reality? *Trends in Food Science and Technology* 3, 309-314; Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, London Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002); Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Matto J, Mattila-Sandholm T. 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.* 84 (3): 197-215; Saavedra, L., 2001. Clinical applications of probiotic agents. *American Journal of Clinical Nutrition* 73, 1145S-1151S; Salminen S, von Wright A. 1998. Current probiotics - safety assured? *Microb. Ecol. Health Dis.* 10: 68-77; Salminen, S., Deighton MA, Benno Y, Gorbach SL. 1998a. In: Salminen, von Wright Ed, *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*. Marcel Dekker Inc, New York 1998; 211-253; Salminen, S., von Wright, A., Wiedli, L., Marteau, P., Brassart, D., de Vos, WD., Fonden, R., Saxelin, M., Collins, K., Wignesen, G., Birkeland, S-E, Mattila-Sandholm, T. 1998b. Demonstration of safety of probiotics - review. *International Journal of Food Microbiology* 44: 93-106; Steidler L, Hans W, Schotte L, Neirynek S, Obermeier F, Falk W, et al. 2000. Treatment of Murine Colitis by *Lactococcus lactis* Secreting Interleukin-10. *Science* 289: 1352-1355; Takahashi, T., Mikotomi, M. 1994. Absence of cholic acid 7-dehydroxylase activity in the strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. *J. Dairy Sci.* 77: 3275-86; Teuber M, Meile L, Schwarz H. 1999. Acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria from food. *Antonie Van Leeuwenhoek* 76 (1-4): 115-37; von Wright, Salminen, S. 1999. Probiotics: established effects and open question. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 11 (11): 1195-8; Wagner RD, Warner T, Roberts L, Farmer J, Balish E. 1997. Colonization of congenitally immunodeficient mice with probiotic bacteria. *Infect. Immun.* 65 (8): 3345-51

SAFETY OF PROBIOTICS

Snežana Bulajić, Zora Mijačević

The probiotic theory offers an intriguing approach to controlling negative metabolic or pathogenic activities of microbes to which we are exposed on a daily basis. Throughout the human and animal life cycle, conditions exist that produce increased risk for infection, increased activity of opportunistic pathogens and decreased protection from normal microflora. Old age, treatment with antibiotics and immunocompromised states can all contribute to a disruption of colonizing microbes. Probiotics could ensure the benefit of an intervention with essentially no risk that may provide another barrier to microbial assault. The article reviews current legislation regulating the safety of probiotic.

Key words: *probiotics, safety, legislation*

У раду је ра
(површине),
користи дес
што чини ук
површина са
од приближ
узорци треб
препоручује
унутрашња с

Кључне реч

ISBN 978-86-83115-08-2

CIP – Каталогизација у публикацији
Народна библиотека Србије, Београд

636.09:616(082)
636.09:616(048)
614.31(082)
614.31(048)

САВЕТОВАЊЕ ветеринара Србије (19 ; 2007 ;
Врњачка Бања)

Зборник радова и кратких садржаја / 19.
саветовање ветеринара Србије (са
међународним учешћем), Врњачка Бања, 26. -
29. септембар, 2007. године ; [организатор]
Српско ветеринарско друштво [и] Факултет
ветеринарске медицине ; [главни и одговорни
уредник Босиљка Ђуричић]. – Београд :
Српско ветеринарско друштво, 2007 (Београд
: Научна КМД). – IX, 220 стр. : табеле,
граф. прикази ; 25 cm

На спор. насл. стр.: Book of Papers and
Abstract. – Делимично упоредо срп. текст и
енгл. превод. – Тираж 600. – Напомене и
библиографске референце уз текст. -
библиографија уз већину радова.

ISBN 978-86-83115-08-2

1. Ств. насл. на упор. насл. стр. 2.

Ђуричић, Босиљка

а) Ветеринарска медицина – Зборници б)
Ветеринарска медицина – Апстракти ц)
Ветеринарска епизоотиологија – Зборници д)
Ветеринарска епизоотиологија – Апстракти е)
Животне намирнице – Хигијена – Зборници ф)
Животне намирнице – Хигијена – Апстракти

COBISS.SR-ID 14341284