

# Navorsings- en oorsigartikels

---

## Probiotika: dieet-aanvullende preparate van lewende, niepatogene mikroorganismes

M. Viljoen\*, E. Johannsen en A. Panzer

Departement Fisiologie, Skool vir Geneeskunde, Universiteit van Pretoria

e-pos: mviljoen@medic.up.ac.za

### UITTREKSEL

*Meer as vier honderd spesies van verskillende kommensale mikroorganismes kom normaalweg op die mens se slymvliesoppervlakte voor. Die verwantskap tussen hierdie mikroorganismes en die mens kan wissel van saprofities tot parasities tot simbioties. Twee van die belangrikste groepe van hierdie voordelige simbiotiese bakterieë ressorteer onder die genera *Lactobacillus* en *Bifidobacterium* wat onderskeidelik in die dunderm en kolon gevind word. Verlies of versteuring van die normale mukosale mikroflora kan bydra tot gesondheidsprobleme (soos diaree en voedselallergieë), en die terapeutiese of profilaktiese aanvulling van die normale flora is in sekere gastroïntestinale en immunologiese afwykings van waarde. Probiotika is dieet-aanvullende preparate wat bestaan uit lewende niepatogene mikroorganismes, wat natuurlik in die gastroïntestinale kanaal voorkom en wat die intestinale funksies, die mikrobiologiese balans, sowel as die algemene gesondheid verbeter wanneer dit in genoegsame hoeveelhede ingeneem word. Hierdie artikel bespreek meganismes waardeur probiotika die interne milieu kan bevoordeel, en gee 'n kort oorsig oor belangrike kliniese proewe op die profilaktiese en terapeutiese effekte van probiotika, sowel as moontlike nuwe effekte. Die geweldige toename in navorsing op die gebied van die natuurlike mikroflora en probiotika word gedeeltelik deur die kommersiële potensiaal van probiotiese preparate gedryf en talle hiervan is reeds in die handel beskikbaar. Die artikel sluit af met riglyne oor die beheer van die produksie en verspreiding van probiotiese preparate, soos gestel deur die Wêreld Gesondheidsorganisasie en aanbeveel in Suid-Afrika.*

### ABSTRACT

#### **Probiotics: diet supplements of live, non-pathogenic micro-organisms**

*More than four hundred species of different commensal micro-organisms exist on human mucosal surfaces. The relationship between these micro-organisms and their human host varies from saprofitic, to parasitic, to symbiotic. Two of the most important groups of the beneficial symbiotic bacteria resort under the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, which are found in the small intestine and colon, respectively. Loss or disturbance of the normal mucosal microflora may contribute to health problems (e.g. diarrhoea and food allergies), and the therapeutic or prophylactic supplementation of the normal flora is of value in certain gastrointestinal and immunological disturbances. Probiotics are diet supplements which consist of live non-pathogenic micro-organisms, which occur naturally in the gastrointestinal tract and which improve intestinal functions, the microbiological balance, as well as general health when ingested in sufficient quantities. This article discusses mechanisms by which probiotics can enhance the internal milieu, and provides a short summary of important clinical trials on the prophylactic and therapeutic effects of probiotics, as well as possible side-effects. The tremendous increase in research on the topic of natural microflora and probiotics is prompted partially through the commercial potential of probiotics, of which many different types are already commercially available. The article concludes with guidelines for the control of the production and distribution of probiotics as stated by the World Health Organisation and as suggested in South Africa.*

### INLEIDING

Dit is algemeen bekend dat belangstelling in sekere wetenskaplike ontdekkings en teorieë dikwels 'n rakleef tyd het. Dit is egter ook nie ongewoon dat hierdie kennis later weer opgediep, verder ondersoek en praktiese toepassings daarvoor gevind word nie. Dit is dan ook die storie van probiotika. Die moontlikheid dat probiotiese bakterieë geassosieer kan word met gesondheid en dat melksuurbakterieë intestinale infeksies, sowel as die produksie van toksiene deur patogeniese mikroorganismes kan beperk, is reeds deur die Nobelpryswenner, Elie Metchnikoff van die Pasteurinstituut in Parys, gemaak. Metchnikoff het selfs sover gegaan om, wat hy bakterioterapie genoem het, deel van sy dieetvoorskrifte aan pasiënte te maak.<sup>1,2</sup> In 1900 is daar weer eens 'n verdere belangrike waarneming, wat betref die assosiasie tussen gesondheid en gastroïntestinale bakterieë, by die Pasteurinstituut gedoen toe Henry Tissier oor bifidobakterieë in die feses van gesonde borsgevoede babas gepubliseer, en die

rol daarvan in die handhawing van 'n gesonde gastroïntestinale milieu beskryf het.<sup>1,2</sup>

Vir die opeenvolgende aantal jare was daar min wetenskaplike belangstelling in die natuurlike mikroflora van die mens. Verskeie faktore het waarskynlik op daardie stadium bygedra om verdere navorsing in die veld te rem, insluitend die twee wêreldoorloë wat basiese navorsing in mikrobiologie feitlik tot stilstand laat kom het, en die ontdekking en grootskaalse produksie van antibiotika wat teen die middel van die twintigste eeu gesien was as die antwoord op alle infektiewe toestande.<sup>3</sup> Wat op daardie stadium nie besef is nie, is die feit dat die onoordeelkundige gebruik van antibiotika die natuurlike mikrobiologiese balans van die gastroïntestinale kanaal kan versteur en aanleiding tot langtermynkomplikasies kan gee. Vir 'n tyd lank was daar dus nie werklike vooruitgang gemaak in die wetenskaplike kennis omtrent die voordele wat 'n normale intestinale mikrobiologiese balans vir die mens inhou nie. Belangstelling in die rol van bakterieë in die gastroïntestinale kanaal, sowel as die totale

welstand van die individu, is egter weer gestimuleer deur onder andere, a) die toenemende neiging in sekere kringe om meer natuurlike metodes te vind vir die voorkoming en behandeling van gastroïntestinale en ander probleme, b) die ontwikkeling van antibiotika-weerstandbiedende patogene organismes, c) wetenskaplike bevestiging van die funksies van probiotiese bakterieë deur kliniese proewe en d) ontwikkeling in die tegnologie betrokke by grootskaalse kweking en preservering van hierdie bakterieë.<sup>3</sup> Bevestiging dat hierdie hernude belangstelling ook in die wetenskaplike wêreld opgevlam het, word bewys deur die feit dat teen die jaar 2000 daar reeds meer as 150 kliniese proewe, waarin die profilaktiese en terapeutiese eienskappe van bakteriële terapie ondersoek word, gepubliseer was,<sup>4</sup> dat internasionale kongresse gewy word aan navorsing op hierdie gebied en dat wetgewing vir die produksie van probiotika in talle lande, sowel as deur die Wêreldgesondheidsorganisasie daargestel is.<sup>2,5,6</sup>

### NATUURLIKE MUKOSA-GEASSOSIEERDE MIKROFLORA VAN DIE MENS

Daar is nou aansienlik meer bekend oor die voorkoms en funksies van mikroflora in die liggaam. Die oorgrote meerderheid van hierdie bakterieë word gevind in assosiasie met die mukosa. As gevolg van die groot oppervlakte van die gastroïntestinale kanaal word 'n groot deel van die natuurlike mikroflora daar aangetref. Daar is aanduidings dat oor die 400 spesies van verskillende kommensale mikroörganismes, insluitende bakterieë, giste en virusse, daar voorkom en dat die getalle wissel met ouderdom, dieet, lewenstyl en omgewingsfaktore.<sup>7,8,9,10</sup> Dit is ook bekend dat die verwantskap tussen hierdie mikroörganismes kan wissel van saprofities tot parasities tot simbioties en dit wil voorkom asof bepaalde spesies onder die simbiotiese mikroörganismes verantwoordelik is vir die beheer van die oorhoofse mukosale mikrobiologiese balans en ook die grootste bydrae maak tot die funksies wat tot voordeel van die gasheer is. Twee van die belangrikste groepe van hierdie voordelige simbiotiese bakterieë ressorteer onder die genera *Lactobacillus* en *Bifidobacterium*, met die mikroaërofiliese *Lactobacillus* hoofsaaklik in die dunderm en die anaërobiese *Bifidobacterium* hoofsaaklik in die kolon.<sup>11,12</sup> Dit spreek vanself, en is ook bewys, dat die mikrobiologiese samestelling en balans beïnvloed word deur die tipe sekresies in die verskillende dele van die gastroïntestinale kanaal, die deurgangstyd deur die gastroïntestinale kanaal en die eienskappe van die musien wat die mukosa bedek.<sup>11</sup>

Alhoewel die aard van die intestinale mikroflora in die gesonde jong volwassene redelik stabiel is, vind daar heelwat veranderings in die vroeë lewensperiode plaas. Kolonisering begin met geboorte en daar word gesê dat mikrobiologiese imprinterings reeds op hierdie stadium plaasvind. Die vaginale en fekale flora van die moeder het tydens geboorte 'n invloed op die toekomstige mikroflora van die neonat en verdere ontwikkeling word sterk deur die dieet beïnvloed. *Bifidobacterieë* is byvoorbeeld dominant in borsgevoede babas terwyl dit tans lyk asof geen bakterieële genus in die bottelgevoede baba oorheers nie.<sup>13</sup> Die verskil tussen borsgevoede en formulebabas mag gedeeltelik voortspruit uit die prebiotiese eienskappe van moedersmelk.<sup>14</sup> Dit wil voorkom asof die mikrobiologiese imprinterings direk na geboorte en tydens die eerste weke na geboorte 'n groot invloed het op die vroeë immunologiese imprinterings en dat enteriese bakterieë 'n belangrike rol speel in die ontwikkeling van toleransie, sowel as in die ontwikkeling van immunogenisiteit.<sup>15</sup> Soos later bespreek word, mag gebrekkige mikrobiologiese imprinterings 'n rol speel in voedselallergieë. As gevolg van die assosiasie tussen die mikroflora en immunologiese ontwikkeling en die feit dat die

natuurlike mikrofloramilieus eers na geboorte begin ontwikkel, is daar die beskouing onder sommige dat babas immuungekompromiseer en om hierdie rede meer vatbaar vir gastroïntestinale infeksies en voedselallergieë is.<sup>11</sup>

Die intestinale mikroflora verander met veroudering. *Bifidobacterieë* verminder met toenemende ouderdom en 'n toename in fungi en enterobakterieë vind plaas.<sup>15,16,17,18</sup> Baie faktore kan 'n rol in hierdie verandering speel, insluitende swak eetgewoontes, medikasies, vermindering in die afskeiding van maagsuur en pankreassekresies, verlaagde gastroïntestinale motiliteit en verhoogde deurlaatbaarheid van die gastroïntestinale wand, sowel as immunologiese veranderings.<sup>18</sup>

'n Ander area waar mukosa-geassosieerde mikroflora natuurlik voorkom in die gesonde persoon, en waar dit waarskynlik 'n belangrike funksionele rol speel, is die urogenitale kanaal. Meer is hier bekend oor die vagina as oor al die ander dele van die urogenitale stelsel. Daar word gesê dat die vagina van die vrou 'n komplekse ekologiese area verteenwoordig met meer as 20 mikrobiële genera wat in balans saamleef.<sup>19,20</sup> Die mikrofloralabalans van die vagina wissel oor tyd en onder verskillende omstandighede. Tans wil dit voorkom asof *Lactobacillus* die dominante genus is met die spesies *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. vaginalis* en *L. gensenii* die mees algemene.<sup>20,21</sup> Daar is aanduidings dat *Bifidobacterium* in 25 tot 32% van nieswanger vroue voorkom, asook in swanger vroue in die vroeë stadium van swangerskap.<sup>22</sup> Die voorkoms neem egter toe en teen die einde van swangerskap word *Bifidobacterium* in die vaginas van tot 70% van vroue aangetref.<sup>22</sup> Die samestelling van die vaginale mikroflora is belangrik. Die vermoë van lactobacilli en bifidobakterieë om 'n reeks organiese sure soos melksuur, asynsuur en bottersuur te produseer, dra byvoorbeeld by tot die handhawing van die relatiewe lae pH (4.0 tot 4.5) in die vagina.<sup>20,23</sup> Hierdie suur omgewing speel 'n rol by die beheer van patogene organismes en dit wil voorkom asof 'n gebrek aan lactobacilli kenmerkend kan wees van vaginose en vaginitis.<sup>19,20,23,24,25,26</sup>

Alhoewel daar redelike ontwikkeling in ons kennis omtrent die mikroflora van ander mukosale areas soos dié van die mondholte en die respiratoriese stelsel is, is minder bekend oor die toepassing van bioterapie in hierdie areas en word die mikroflora van hierdie organe dus nie hier bespreek nie.

Die mikroflora-ekwilibrium, wat betref spesiesamestelling, sowel as die biomassa, verskil van persoon tot persoon. Een belangrike bepalende faktor van die interpersoonlike verskille is waarskynlik die adhesiemolekule op die musienlaag van die mukosa. Dit is bekend dat die mikroflora in die normale gesonde persoon nie direk aan die epiteel adheer nie maar wel aan die musien – 'n verskynsel wat help om te verhoed dat mikroflora die sirkulasie bereik.<sup>11</sup> Die tipe adhesiemolekule op die musien is aanvanklik 'n funksie van die genoom, maar word mettertyd bepaal deur die glikolitiese potensiaal van die bakterieë, sowel as die dialoog tussen die mikroflora en die gasheerselle wat weer die musiensamestelling beïnvloed.<sup>11</sup> Dit word vandag redelik algemeen aanvaar dat verlies of versteuring van die normale mukosale mikroflora kan bydra tot versteurings soos konstipasie, dispepsie, diarree, abdominale distensie, irriteerbare dermsindroom, spastiese kolon, en sekere immuun-geassosieerde afwykings.<sup>9,27,28,29</sup> Verskeie faktore kan bydra tot die versteuring van hierdie normale balans. Onoordeelkundige gebruik van antibiotika is voorheen na verwys, maar ander faktore soos die verlies van normale flora deur diarree, abnormale peristalsis, abnormale dieet, die onoordeelkundige gebruik van asteroïede en sekere ander hormoonbehandelings, sowel as veroudering en oormatige stres en kan ook bydra tot versteuring van die

intestinale mikrobiologiese milieu en daardeur ook die moontlikheid van kolonisering deur patogene organismes bevorder.<sup>7,8,30</sup>

## PROBIOTIKA

Die rasionaal vir die terapeutiese of profilaktiese gebruik van probiotika in toestande waar daar 'n afname, of versteuring, van die normale flora is, is dat dit aanvullend of ondersteunend tot die werking daarvan kan optree. Die term "probiotiese bakterieë" het redelik onlangs eers in algemene gebruik gekom. Die woord is afgelei van die Grieks "*pro bios*" wat "vir lewe" beteken. Die algemeen aanvaarde definisie van die term probiotika is "dieet-aanvullende preparate wat bestaan uit lewende niepatogene mikroörganismes, wat natuurlik in die gastroïntestinale kanaal voorkom en wat die intestinale funksies, die mikrobiologiese balans, sowel as die algemene gesondheid verbeter wanneer dit in genoegsame hoeveelhede ingeneem word".<sup>7</sup> Met die uitbreiding van ons kennis oor die invloed van probiotika op die immuunstelsel is daar egter nou ook groepe wat die vermoë om mukosale immuunfunksie te moduleer, insluit by die definisie van probiotika.<sup>4</sup> Ander terme wat in assosiasie met die term probiotika gebruik word en wat dikwels verwarring veroorsaak, is prebiotika en sinbiotika. Prebiotika kan gedefinieer word as nieverteerbare voedselbestanddele wat die liggaam bevoordeel deur, onder andere, die groei of aktiwiteit van bakterieë, soos bifidobakterieë, wat in die kolon voorkom te stimuleer, en wat die vermoë het om die gasheer te bevoordeel (*verwys na Deel 2 van hierdie artikelreeks*). Hoewel ander produkte ook nou begin beskou word as prebiotika, bestaan prebiotika primêr uit nieverteerbare oligosakkariede wat die groei van die normale bifidobakterieë in die kolon bevorder. Die term sinbiotika word minder dikwels in die probiotikaliteratuur gebruik. Alhoewel daar soms met die term sinbiotika<sup>31</sup> verwys word na die gesondheidstimulerende produkte wat deur probiotiese bakterieë in die teenwoordigheid van die nodige prebiotika geproduseer en dan absorbeer word, is die meer algemeen aanvaarde betekenis van die woord 'n "kombinasie van probiotika en prebiotika wat die gasheer bevoordeel".<sup>32</sup>

Dit is algemeen bekend dat verskeie voedselsoorte soos jogurt, gefermenteerde melkprodukte en kaas, melksuurbakterieë bevat wat, indien in genoegsame hoeveelhede ingeneem, gesondheidsvoordele kan inhou. Die bakterieë in hierdie produkte is egter oor die algemeen aangepas om in melkprodukte te groei. Hulle kan dus as *in transit* beskou word aangesien hulle moeilik vir langer periodes in die gastroïntestinale kanaal oorleef of vermeerder. Bakterieë vir gebruik in die suiwelindustrie word byvoorbeeld geselekteer volgens kriteria soos die vermoë om esters te produseer en die effektiwiteit waarmee hulle melksuur produseer, in teenstelling met probiotiese funksies soos die vermoë om te adheer en te koloniseer in die gastroïntestinale kanaal, hulle weerstandbiedendheid teen gal, die vermoë om die immuunstelsel te stimuleer en ander eienskappe. Inligting is egter besig om na vore te kom wat daarop dui dat bepaalde melkgebaseerde bakterieë in reaksie op stimuli in die dieet die vermoë het om in die gastroïntestinale kanaal te adapteer deur die sintese van nuwe proteïene.<sup>33</sup>

## POTENSIËLE GESONDHEIDSVORDELE VAN PROBIOTIKA

Navorsing het verskeie maniere aangetoon waardeur probiotiese mikroörganismes die liggaam moontlik kan bevoordeel, insluitende a) die onderdrukking van die groei van patogene organismes soos bakterieë, virusse<sup>1,8,9,27,29,30</sup> en fungi soos

*Candida albicans*,<sup>21,24,27,33,34</sup> b) normalisering van gastroïntestinale funksies soos die vermindering van konstipasie, diarree, winderigheid en abdominale distensie,<sup>1,8,9,27,29,30</sup> c) bevordering van die absorpsie van kalsium en magnesium,<sup>9,35</sup> d) intestinale produksie van vitamine B6 en B12,<sup>1,29</sup> e) bevordering van die vertering van laktose,<sup>1,9,29</sup> f) bevordering van die ontwikkeling en maturasie van die spesifieke en nonspesifieke, sowel as algemene mukosale immuunstelsel,<sup>36,37,38</sup> g) neutralisering en die voorkoming van die vorming van karsinogene,<sup>1,35,39</sup> en onderdrukking van inflammatoriese reaksies in die gastroïntestinale kanaal,<sup>37,40,41</sup> h) 'n rol in die instandhouding van die integriteit en motiliteit van die normale intestinale epiteliem,<sup>41</sup> i) vermindering in bloedcholesterolvlakke<sup>1,29</sup> en j) 'n rol in die voorkoming en behandeling van voedselallergieë.<sup>42,43,44,45</sup>

## MEGANISMES WAARDEUR PROBIOTIKA DIE INTERNE MILIEU KAN BEVOORDEEL

Navorsing oor veral die laaste twee dekades het talle meganismes uitgewys waardeur die natuurlike flora en aanvullings daarvan deur probiotiese preparate tot voordeel van die mens kan wees. Die omvang van hierdie potensiële bydrae, relatief tot ander beheermeganismes, is nog nie duidelik nie, maar dat mikroflora 'n rol speel in algemene gesondheid en dat verstourings in die interne mikrobiologiese balans verreikende gevolge kan hê, kan nie meer betwyfel word nie. Meganismes waardeur beskerming teen patogene organismes gebied word, die invloed op die immuunstelsel en 'n paar ander meganismes word vervolgens kortliks bespreek.

### Beskerming teen patogene organismes

Soos voorheen genoem, help die normale intestinale flora om die individu teen die kolonialisering van patogene organismes te beskerm. Die meganismes waardeur dit geskied, sluit in die produksie van stowwe met sterk antimikrobiale eienskappe. Melksuurbakterieë produseer byvoorbeeld, tydens fermentasie, 'n reeks van kortkettingvetsure insluitende melksuur, asynsuur, battersuur en propioonsuur wat die intestinale pH verlaag en wat ook 'n breë spektrum van inhiberende effekte teen grampositiewe en gram-negatiewe bakterieë, sowel as teen sommige virusse, het.<sup>4,9</sup> Dit is bekend dat melksuur en asynsuur die groei van patogene soos *Staphylococcus aureus*,<sup>46</sup> *Salmonella typhimurium*,<sup>47</sup> *Helicobacter pylori*,<sup>48</sup> *Clostridium difficile*,<sup>49,50</sup> *Yersinia*,<sup>51</sup> sowel as van *Listeria*, *Campylobacter* en *Shigella*.<sup>1,29</sup> Inhibeer. 'n Ander produk van melksuurbakterieë wat 'n effek op die groei van bepaalde mikroörganismes het, is waterstofperoksied<sup>52,53</sup> en daar word gespekuleer dat dit moontlik een van die meganismes is waardeur melksuur bakterieë *Candida albicans* oorgroeiing kan verminder.<sup>21</sup> Probiotika kan verder die groei en kolonisering van patogene mikroörganismes in die gastroïntestinale kanaal en op ander mukosale oppervlaktes soos die urogenitale kanaal en mukosa van die mondholte inhibeer deur met hulle te kompeteer vir ruimte, voedingstowwe en bindingsplekke.<sup>4,8,24,54,56</sup>

### Invloed op die immuunstelsel

Navorsing wat betref die voordeel van probiotiese mikroörganismes vir die mens is vir die laaste dekade sterk gefokus op die interaksie tussen die immuunstelsel en probiotika. Soos voorheen genoem, het die natuurlike mikroflora, sowel as probiotika, immuunmoduleringsfunksies – veral wat betref die algemene mukosale immuunstelsel, wat die mukosa-geassosieerde limfoïedweefsel of MALT insluit.<sup>38,57,58,59,60,61</sup> Die verskillende

populasies limfoïedeweefsel van die algemene mukosale immuunstelsel (MALT) word genoem na die organe waarin dit voorkom, byvoorbeeld die brongus-geassosieerde limfoïedeweefsel (BALT), die gastroïntestinaal-geassosieerde limfoïedeweefsel (GALT), die nasaal-geassosieerde limfoïedeweefsel (NALT) en ander. 'n Kenmerk van hierdie mukosale immuunstelsel is die gedissemineerde immuunrespons. Limfosiëte wat in een deel van die MALT, byvoorbeeld die GALT, geaktiveer word, sirkuleer via die torakale limfvat en die bloedsirkulasie na mukosa-geassosieerde limfoïedeweefsel in ander organe. Hierdie gedissemineerde immuunrespons verklaar waarom die immunogenisiteit of toleransie wat in een orgaan se MALT induseer word ander organe se mukosale immuniteit beïnvloed en waarom die effek van die gastroïntestinale flora, of probiotika wat vir terapeutiese doeleindes per mond ingeneem word, die mukosale immuniteit van ander organe kan beïnvloed.<sup>62,63</sup> Dit is ook die beginsel waarop ondersoek na terapeutiese moontlikhede van probiotika as antigeendraers vir orale immuniseringsdoeleindes berus.<sup>64</sup> Dit is belangrik om te onthou dat die mukosale immuunstelsel nie net immuunstimulerende funksies het nie, maar dat dit ook immuunonderdrukkende funksies (immuuntoleransie) het wat verhoed dat die liggaam inflammatoriese en ander response ontwikkel teen skadelose antigene vanuit die omgewing, soos in voedsel, waaraan die mukosa deurentyd blootgestel word. Daar kan nou met redelike sekerheid aanvaar word dat die natuurlike flora, sowel as probiotika, 'n rol in die ontwikkeling van beide immunogenisiteit en toleransie speel. Alhoewel verdere navorsing nodig is, wil dit tans voorkom asof die effekte van probiotika op sitokiensintese, veral wat betref die pro-inflammatoriese/anti-inflammatoriese sitokienbalans, 'n belangrike aspek vorm van die invloed van mikroflora op die mukosale immuunstelsel.<sup>65,66</sup> Probiotika help byvoorbeeld om ongewenste inflammatoriese reaksies te onderdruk deur die sintese van anti-inflammatoriese sitokiene, soos interleukien-10, en die produksie van die tolerogeniese substans, transformerende groeifaktor-beta (TGF- $\beta$ ), te bevorder.<sup>65</sup> Interleukien-10 onderdruk ongewenste inflammatoriese response deurdat dit die produksie van pro-inflammatoriese sitokiene, soos interleukien-2, interleukien-6, interleukien-12, tumornekrose faktor- $\alpha$ , interferon-gamma, sowel as immunoglobulien E, afreguleer, terwyl TGF- $\beta$  die immuunrespons teen skadelose antigene onderdruk.<sup>65</sup>

### Ander meganismes

Ander funksies wat aan probiotika toegeskryf word en wat moontlik die gasheer kan beïnvloed is die produksie van vitamien, byvoorbeeld produksie van vitamien B6 en vitamien B1<sup>21,29</sup> en van  $\beta$ -galaktosidase.<sup>8,30,67</sup> Daar is byvoorbeeld aanduidings dat genoegsame inname van  $\beta$ -galaktosidase-produuserende melksuurbakterieë voordelig kan wees vir individue met laktose intoleransie.<sup>8,30,67</sup> Verder is daar navorsingsresultate wat daarop dui dat bepaalde bakterieë die vermoë het om die vlakke van serumcholesterol en lipiede te verlaag.<sup>7,68,69,70,71</sup> Of die omvang van die gepubliseerde effekte groot genoeg is om terapieë vir die doel aangewend te kan word, moet nog onteenseglik bewys word. Voorlopige indikasies dui daarop dat melksuurbakterieë moontlik hierdie effekte kan uitoefen deur direkte assimilase van cholesterol, deur dekonjugasie van galsoute, deur onderdrukking van cholesteroltransport, deur die produksie van laedighedslipoproteïene te inhibeer en moontlik deur  $\beta$ -hidroksie- $\beta$ -metielglutariel-Koënsiem A reduktase-aktiwiteit in die lewer te verminder.<sup>7,69,70,71</sup>

### KLINIESE PROEWE OP DIE PROFILAKTIESE EN TERAPEUTIESE EFFEKTE VAN PROBIOTIKA

Aangesien probiotiese bakterieë inisieel slegs per mond ingeneem is, en nie almal bekend is met die gedissemineerde immuunrespons van die mukosale immuunstelsel nie, het die oorgrote meerderheid van proewe om die kliniese effektiwiteit van probiotika te bepaal, dan ook aanvanklik gefokus op funksies en verstourings van die gastroïntestinale kanaal. Kliniese proewe het, onder andere, aangetoon dat probiotika effektief kan wees in die behandeling van diarree van verskillende oorsprong, verbetering van intestinale motiliteit, absorpsie van voedingstowwe, voorkoming van voedselallergieë en ander immuungeassosieerde afwykings. Navorsingsresultate is onder andere beskikbaar vanaf kliniese proewe met probiotiese bakterieë in toestand van:

1. Akute virale diarree wat veral in babas en kleuters voorkom en wat in die ontwikkelende lande geassosieer word met 'n hoë morbiditeit en mortaliteitsyfer. Verskeie publikasies beskryf probiotiese bakterieë van die genus *Lactobacillus* as effektief in die behandeling van akute virale diarree en volgens voorlopige aanduidings wil dit voorkom asof van die effekte deur, onder andere, verhoogde IgA en die produksie van antivirusteenliggame bemiddel word.<sup>41,72,73,74,75</sup>
2. Akute bakteriële diarree waar die effektiwiteit van probiotika 'n redelik uitgemaakte saak is – 'n stelling wat deur die resultate van talle proewe in diere sowel as in mense ondersteun word.<sup>1,4,8,9,29,30,41,77,78,79,80,81</sup>
3. *Clostridium difficile* diarree/*C difficile* colitis: probiotika blyk effektief te wees in talle gevalle van herhalende *C difficile* infeksies waar dit maagkrampe en diarree verminder, maar skynbaar ook die vatbaarheid verlaag.<sup>4,49,76,82,83</sup>
4. Antibiotika-geassosieerde en radioterapie-geïnduseerde diarree. Dit is algemeen bekend dat antibiotika die normale intestinale mikroflora kan onderdruk en vervangingsterapie is jare reeds in gebruik.<sup>4,41,30,76</sup> Dit wil nou ook voorkom asof dieselfde geld vir radioterapie en dat probiotika tot voordeel kan wees.<sup>76,84,85</sup>
5. Reisigersdiarree. Ten minste twee kliniese proewe ondersteun die gevolgtrekkings van voorheen gepubliseerde kort kommunikasies dat probiotika die voorkoms van gastroïntestinale ongemak en infeksies van reisigersdiarree kan verminder.<sup>86,87</sup>
6. Diarree geassosieer met verwerwe immuunonderdrukking: 56% van lyers het vermindering van die diarree getoon in kliniese proewe.<sup>41</sup>
7. Niespesifieke chroniese diarree: daar is aanduidings dat melk-gebaseerde probiotiese preparate, en 'n bepaalde ensiem wat deur melksuurbakterieë produseer word, met sukses gebruik kan word in babas en jong kinders met chroniese diarree.<sup>88,89</sup> Dit moet egter, soos voorheen genoem, onthou word dat die natuurlike gastroïntestinale mikroflora en dus ook die probiotikabehoefte van die baba verskil van dié van die volwassene.
8. Osmotiese diarree. Osmotiese diarree, abdominale pyn en oormatige produksie van gas is van die simptome geassosieer met laktose-intoleransie. Laktose-intoleransie word gekenmerk deur 'n tekort aan die ensiem  $\beta$ -galaktosidase wat aanleiding gee tot die onvermoë om laktose te metaboliseer. Daar is sterk aanduidings dat terapie met  $\beta$ -galaktosidase-produuserende probiotiese bakterieë met sukses gebruik kan word.<sup>4,8,30,41,90,91</sup>

9. Funksionele abdominale opgeblaasheid. Matige, sukses is behaal met die gebruik van probiotika.<sup>92</sup>
10. Verbetering van gastroïntestinale motiliteit en verligting van konstipasie. Dit wil voorkom asof die produksie van organiese sure soos melksuur, asynsuur en bottersuur nie slegs peristaltiese bewegings stimuleer nie maar ook die konsistensie van die feses verbeter wat help in die voorkoming van hardlywigheid.<sup>92,93,94,95,96,97</sup>
11. Inflammatoriese afwyking van die gastroïntestinale kanaal. Talle proewe is reeds met wisselende sukses gedoen op die terapeutiese effekte van probiotika in gastroïntestinale afwykings soos Crohn se siekte, ulseratiewe kolitis, irriteerbare dermsindroom en ander.<sup>98</sup> Die rasionaal waarom probiotika tot nut kan wees in inflammatoriese toestande is gedeeltelik geleë in die feit dat gebrekkige immunologiese toleransie of gebrekkige afgradering van die anti-inflammatoriese meganismes 'n rol mag speel in hierdie tipe van afwykings en die feit dat probiotika tolerogeniese en anti-inflammatoriese eienskappe kan induiseer.

Talle proewe wat betref die gebruik van probiotika in voedselallergieë is reeds gedoen. Gebrekkige kolonisering met voordelige mikroörganismes gedurende die ontwikkelingsjare kan moontlik bydra tot die abnormale beelde van mukosale mikroflora soos gesien in sommige van die bogenoemde gastroïntestinale aandoenings. Dit mag inderdaad ook van toepassing wees in sekere gevalle van voedselallergieë. Die oorsaak van voedselallergieë is nog steeds 'n ietwat omstrede onderwerp en 'n aantal faktore word beskryf as bydraend, insluitende 'n genetiese predisposisie, dieet, hiperpermeabiliteit van die gastroïntestinale mukosa, inflammatoriese neigings van die intestinale epiteliem, oorbodigheid na humorale immuniteit in pasgeborenes, vertraagde ontwikkeling van die algemene mukosale immuunstelsel en 'n gebrekkige blootstelling aan bakterieë en virusse gedurende die vroeë kinderjare, wat aanleiding mag gee tot 'n gebrekkige ontwikkeling van die sellulêre immuunstelsel. Die laaste faktor staan bekend as die "Higiëne Hipotese" en kan direk met twee van die voriges verbind word in die sin dat dit eerstens die balans tussen die ontwikkeling van humorale en sellulêre immuniteit kan versteur en tweedens dat 'n verminderde blootstelling aan voordelige bakterieë in die vroeë lewensjare, veral bifidumbakterieë, kan lei tot gebrekkige ontwikkeling van die mukosale immuunstelsel.<sup>45,99,100,101</sup> Resultate van proewe op die gebruik van probiotiese bakterieë in voedselallergieë toon 'n redelike mate van sukses.<sup>42,43,44,45,102,103</sup> Die meganismes waardeur probiotika bydra tot die afgradering van voedselallergieë word toegeskryf aan 'n aantal kenmerke van probiotika wat fokus op hulle bydrae tot die volwassenheid en integriteit van die intestinale mukosa en mukosale immuunstelsel, en wat aansluiting vind by die faktore wat as onderliggend aan die ontwikkeling van voedselallergieë beskryf word. Dit sluit onder andere in a) die bydra van probiotiese mikroörganismes tot die maturasie van die mukosale immuunstelsel,<sup>36,45,100</sup> b) 'n rol in die ontwikkeling van Peyerse plake en M-selle,<sup>100</sup> c) verlaagde produksie van allergiegeassosieerde IgE teenliggame in assosiasie met verhoogde produksie van sekretoriese IgA teenliggame wat met toleransie vereenselwig word,<sup>45,103</sup> sowel as d) stimulering van selbemiddelde immuniteit en toleransie.<sup>36,100</sup>

Dit wil tans voorkom asof daar wêreldwyd 'n toename in allergiese toestande is en asof hierdie toename in allergiese toestande direk gekoppel mag wees aan die afname in vroeë infeksies en 'n vertraagde ontwikkeling van die gastroïntestinale mikroflora.<sup>104</sup> Die oorsaaklike verwantskap tussen gebrekkige mikroflora-bevolking en inflammatoriese, sowel as nontolerogeniese reaksies, is voorheen bespreek. Daar is tans aanduidings

dat perinatale terapie met die korrekte lactobacilli tot 'n vermindering in die ontwikkeling van atopiese ekseem gedurende die eerste twee lewensjare kan lei, maar verdere proewe is nodig om dit te bevestig.<sup>104</sup> Geweldig baie navorsing is egter nog nodig om te bevestig of die neem van probiotika deur die moeder die gastroïntestinale mikroflora van die neonaat kan beïnvloed, en indien wel tot watter mate en langs watter roete.

Ten spyte van die feit dat die meeste kliniese proewe met probiotika steeds direkte betrekking op die gastroïntestinale kanaal het, was daar oor die laaste dekade of twee 'n drastiese toename in kliniese proewe oor die effekte van probiotiese bakterieë op ander stelsels. Die rol van probiotika in die voorkoming en behandeling van *Candida albicans* het veral aandag geniet en daar kan met redelike sekerheid gesê word dat probiotika effektief is in die meeste gevalle van *C. albicans* oorgroeiing.<sup>21,23,24,28,34</sup> Beperkte hoeveelhede *C. albicans* kan onder normale gesonde toestande op, of in, areas soos die neus, die vel, die slymvliese van die gastroïntestinale en urogenitale kanaal, sowel as ander plekke, aangetref word, maar oorgroeiing met die organisme gee aanleiding tot onaangename simptome (sproei, doekuitslag, ens) en mag in bepaalde gevalle tot ernstige probleme lei.<sup>105</sup> Een van die oorsake van *C. albicans* oorgroeiing is 'n versteuring van die normale mikroflora as gevolg van uitgebreide breëspektrum antibiotikaterapie. Alhoewel ander effekte van probiotika waarskynlik ook kan bydra tot die stryd teen die fungus, word die produksie van waterstofperoksied en kompeterende inhibisie deur probiotiese bakterieë veral impliseer in die effektiwiteit teen *C. albicans*.<sup>7,8,21,24,30,50,105</sup>

Daar is aanduidings dat probiotika ook effektief kan wees in ander gevalle van urogenitale infeksies. Dit wil ook voorkom asof die sukses van probiotikaterapie in gevalle van urogenitale infeksies onafhanklik is van die toedieningsroete en dat dit lokaal of per mond toegedien kan word.<sup>106</sup> Laasgenoemde spreek vanself wanneer die immuunondersteunende rol van probiotika en die gedissemineerde immuunrespons van die algemene mukosale immuunstelsel in gedagte gehou word. 'n Kort oorsig oor die voordele/of nie van die gebruik van probiotika vir urogenitale infeksies kan gevind word in 'n publikasie van Reid en Devillard.<sup>107</sup>

Daar is voorheen melding gemaak van die ouderdomsafhanklike veranderinge in natuurlike mikroflora. Volgens die resultate van proewe om die effektiwiteit van bioterapie met probiotika in veroudering te toets, wil dit voorkom asof die ouderdom-geassosieerde verstoeurings van die mikrobiotiese omgewing tot 'n groot mate herstel kan word en dat die immuunstelsel bevoordeel word.<sup>18,108,109</sup> Meer proewe is egter nodig om die implikasies hiervan te verstaan – veral wat betref die gewenstheid van nonselektiewe immuunstimulering in veroudering.

Ander voordele, gebaseer op kliniese proewe, vir die profilaktiese en terapeutiese gebruik van probiotika is ook beskryf, maar die meeste daarvan kan teruggevoer word na die effek van probiotika op die immuunstelsel.

## MOONTLIKE NEWE-EFFEKTE VAN TERAPIE MET PROBIOTIKA

Dit wil oor die algemeen voorkom asof die korrekte inname van goedgekeurde probiotiese bakterieë feitlik geen nuwe-effekte het nie, maar enkeles is wel gerapporteer. Alhoewel daar in teorie vier tipes risiko's verbonde kan wees aan die inname van lewende, gewoonlik geliofiliseerde bakterieë, naamlik ontoepaslike immuunstimulering, infeksies, geenoordrag en onaantwoordbare metaboliese aktiwiteite, lyk dit asof infeksie die enigste nuwe-effek is wat nog gerapporteer is en die meeste daarvan met die

gebruik van fungusbevattende preparate.<sup>110</sup> Dertig gevalle van fungemie in krities-siek pasiënte, wat in intensiewesorgeenhede met *Saccharomyces boulardii* behandel is, is gerapporteer en twee gevalle van infeksies met *Lactobacillus rhamnosus*.<sup>111,112,113,114</sup> In beide situasies is die probiotika nie, soos tradisioneel gedoen word, in die kapsulevorm gebruik nie, maar is dit in onverpakte vorm toegedien. Twee ander gevalle van infeksies met *L. rhamnosus* is ook aangemeld, een in 'n geval van endokarditis in 'n man met mitraalklepregurgitasie wat probiotika gekou het nadat 'n tand getrek is, en een in 'n ouer dame met nieinsulienafhanklike diabetes.<sup>110</sup> Alhoewel resultate uit bogenoemde studies nie deur dié van ander intensiewesorgeenhede bevestig word nie, is dit tog raadsaam om met omsigtigheid te werk te gaan wanneer probiotiese terapie, veral gisbevattende preparate, in krities-siek pasiënte wat immuun-gekompromiseerd is, of wat verhoogde gastroïntestinale deurlaatbaarheid het, oorweeg word. Om bogenoemde in perspektief te sien, is dit nodig om te meld dat Finse navorsers, in meer as 8,000 bloedkulture van individue op verskillende *Lactobacillus* spesies, geen infeksie waargeneem het wat terug verwys kon word na die toegedienende probiotika nie.<sup>110</sup> Die leser word na 'n oorsigsartikel van Borriello et al<sup>115</sup> verwys vir 'n redelik onlangse oorsig oor die veiligheid van lactobacilli- en bifidobakterië-bevattende probiotika, waarin tereg gesê word dat, ten spyte van die lae voorkoms van patogenisiteit, alle monsters van verdagte bioterapie-gekoppelde infeksies na verwysingsentrums gestuur moet word vir molekulêre karakterisering. Patogenisiteit is egter nie die enigste rede waarom 'n produk nie noodwendig terapeuties gebruik moet word nie en dit is belangrik dat die effektiwiteit in ag geneem moet word. Vir laasgenoemde is daar duidelike riglyne en wetgewing nodig – gebaseer op beskikbare sowel as verdere intensiewe navorsing.

#### BEHEER VAN DIE PRODUKSIE EN VERSPREIDING VAN PROBIOTIESE PREPARATE

Die definisie van probiotika, soos reeds genoem, bepaal dat dit uit preparate wat lewende mikroorganismes bevat wat natuurlik in die gesonde gastroïntestinale kanaal van die mens voorkom, moet bestaan. Met die snelle uitbreiding in die mark vir probiotikapreparate het die Wêreldgesondheidsorganisasie dit wys gevind om sekere basiese kriteria vir die bereiding van sulke preparate voor te skryf. Die "Joint Food and Agriculture Organisation of the United Nations/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food",<sup>2</sup> skryf byvoorbeeld voor dat sulke bakteriëe geen patogeniese of virulente eienskappe moet hê nie, dat hulle nie in staat moet wees om weerstand teen antibiotika of ander geneesmiddels aan patogene oor te dra nie en dat hulle ook nie op 'n passiewe wyse 'n bron moet wees van antibiotika-weerstandbiedendheid nie. Hierdie riglyne, alhoewel van groot belang, is egter nie genoeg om te verseker dat ongewenste produkte nie aan die algemene publiek beskikbaar gestel word nie – 'n funksie wat deur individuele lande beheer moet word. Alhoewel baie lande reeds besig is met plaaslike wetgewing en registrasieverestes, is dit dringend nodig dat dit so gou moontlik deurgevoer word. In Suid-Afrika word probiotika as voedingsaanvulling beskou en daar word aanbeveel dat die goedkeuring van die Voedseldirektoraat verkry word voordat die produk bemark word. Registrasie by die Komplementêre Medisyneraad is ook officieel aanbeveel, maar vind nie as sodanig plaas nie. Daar is dus, soos met talle ander gesondheidspreparate, geen wet wat vereis dat slegs geregistreerde produkte op die rakke verskyn nie.

#### SAMEVATTING

Daar is tans geen twyfel dat probiotika terapeutiese en profylaktiese voordele inhou nie. Die primêre doel van probiotika is om ondersteunend of aanvullend tot die normale mikroflora op te tree. Om hierdie rede behoort daar ooreenstemming te wees tussen die lewende organismes wat in probiotiese preparate gebruik word en die natuurlike mikroflora van die mens. Daar is egter nog talle vrae wat deur verdere navorsing beantwoord moet word. Dit is ook essensieel dat strenger maatreëls en beheer wat betref die produksie, registrasie en beskikbaarheid daargestel moet word. Ongelukkig is daar tans slegs 'n klein persentasie van medici wat 'n genoegsame kennis van die homeostatiese rol van die normale mikroflora, en by implikasie van probiotika, het om die potensieële terapeutiese waarde van bioterapie in te sien en om dit met die nodige kennis en omsigtigheid toe te pas. Die daarstel van riglyne en standaarde vir die produksie van probiotikapreparate deur die Wêreldgesondheidsorganisasie is 'n groot stap vorentoe om die veiligheid van die verbruiker, in 'n mark wat vinnige kommersiële groei toon, te beskerm en talle lande is tans besig met die daarstel van riglyne vir registrasie.

#### VERWYSINGS

- Hughes, D.B., Hoover, D.G. (1991). Bifidobacteria: their potential for use in American dairy products. *Food Technol*, 1991:April:74-83.
- Report of the Joint FAO/WHO Expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina, 1-4 October 2001.
- Johannsen, E. History of probiotics. *SA Fam Pract*, 2003:45:62-63.
- Naidu, A.S., Bidlack, W.R., Clemens, R.A. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1999:38:13-126.
- Reid, G., Jass, J., Sebulsy, M.T., McCormick, J.K. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev*, 2003:16(4):658-72.
- Prevot, M.B. New regulatory trends for probiotics. *J Clin Gastroenterol* 2004:38 (suppl 2):261-263).
- Fuller, R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol*, 1989:66:365-378.
- Fuller, R. Probiotics in medicine. *Gut*, 1991:32:439-442.
- Gorbach, S.L. Lactic acid bacteria and human health. *Ann Med*, 1990:22:37-41.
- Kirjavainen, P.V., Gibson, G.R. Healthy gut microflora and allergy: factors influencing development of the microbiota. *The Finnish Medical Society Duodecim Ann Med*, 1999:31:288-292.
- Bourlioux, P., Koletzko, B., Gaurner, F., Braesco, V. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: Report on the Danone Symposium: The intelligent intestine". Paris, June 14, 2002. *Am J Clin Nutr*, 2003:78(4):675-683.
- Rasic, J. (1989). The role of dairy foods containing bifidobacteria and acidophilus bacteria in nutrition and health. In *Fermented Milks: Current Research*. Association International des Fabricants de Yogurts, Paris, France.
- Bruzzese, E., Canani, R.B., De Marco G.D., Guarino, A. Microflora in inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol*, 2004:38(Suppl 2):S91-S93.
- Coppa, G.V., Bruni, S., Morelli, L., Soldi, S., Gabrielli, O. The first probiotics in humans. Human milk oligosaccharides. *J Clin Gastroenterol*, 2004:38(Suppl 2):S80-S83.
- Mutai, M., Tanaka, R. Ecology of bifidobacterium in the human intestinal flora. *Microflora*, 1987:6:33-41.
- Andrieux, C., Membre, J.M., Cayuela, C. Metabolic characteristics of the faecal microflora in humans from three age groups. *Scand J Gastroenterol*, 2002:37:792-798.

17. Hebuterne, X. Gut changes attributed to ageing effects on intestinal microflora. *Curr Op Clin Nutr Metab Care*, 2003:6:49-54.
18. Del Piano, M., Ballare, M., Montini, F., Orsello, M., Garello, E., Ferrari, P., Masini, C., Strozzi, G.P., Sforza, F. Clinical experience with probiotics in the elderly on total enteral nutrition. *J Clin Gastroenterol*, 2004:38(Supp 2):S111-S114.
19. Reid, G., Bruce, A.W. Urogenital infections in women: Can probiotics help? *Postgrad Med J*, 2003:79:428-432.
20. Jeavons, H.S. Prevention and treatment of vulvovaginal candidiasis using exogenous probiotic Lactobacillus. *JOGNN*, 2003:32(3):287-296.
21. Wilks, M., Wiggins, R., Whiley, A. Identification and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production of vaginal Lactobacilli from pregnant women at high risk of preterm birth and relation with outcome. *J Clin Microbiol*, 2004:42(2):713-717.
22. Bezkorovainy, A. Ecology of Bifidobacteria. In Bezkorovainy, A., Miller-Catchpole, R., (eds.). *Biochemistry and physiology of bifidobacteria*. 1989; CRC Press Inc, Boca Raton, Florida, USA, Chap 2, p29-72.
23. Wilson, J. Managing recurrent bacterial vaginosis. *Sex Transm Infect*, 2004:80:8-11.
24. Bruce, A.W., Chadwick, P., Hassan, A. Recurrent urethritis in women. *Can Med Assoc J*, 1973:108:973.25.
25. Chan, R.C., Bruce, A.W., Reid, G. Adherence of cervical, vaginal and distal urethral normal microbial flora to human uroepithelial cells and the inhibition of adherence of Gram-negative uropathogens by competitive exclusion. *J Urol*, 1984:131:596-601.
26. Johannsen, E. Urogenital infections and probiotics. *SAJOG*, 2005:11:12-13.
27. Elmer, G.W., Surawicz, C.M., McFarland, L.V. Biotherapeutic agents. A neglected modality for the treatment and prevention of selected intestinal and vaginal infections. *JAMA*, 1996:275(11): 870-876.
28. De Vrese, M., Schrezenmeier, J. Probiotics and non-intestinal infectious conditions. *Br J Nutr*, 2002:88(Suppl.1):S59-S66.
29. Hawkins, S.M. Bifidobacteria in dairy products. *Cult Dairy Prod J*, 1993:27:16-20.
30. Koop-Hoolihan, L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics. *J Am Diet Assoc*, 2001:101(No 2):229-238, 241.
31. Bengmark, S. Gut microbial ecology in critical illness: Is there a role for prebiotics, probiotics and synbiotics. *Curr Op Crit Care*, 2002:8(2):145-151.
32. Tuohy, K.M., Probert, H.M., Smejkal, C.W., Gibson, G.R. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *DDT*, 2003:8(15):692-700.
33. Mater, D.D.G., Corthier, G. Response of lactic acid bacteria to the digestive environment. *J Clin Gastroenterol*, 2004:38(Supp 2):S64-S66.
34. Farmularo, G., Perluigi, M., Coccia, R., Mastroiacovo, P., De Simone, C. Microecology, bacterial vaginosis and probiotics: Perspectives for bacteriotherapy. *Med Hypotheses*, 2001:56(4):421-430.
35. Yaeshima, T. Benefits of bifidobacteria to human health. *Bulletin of the International Dairy Foundation*, No 313:36-42.
36. Isolauri, E., Sutas, Y., Kankaanpaa, P., Arvilommi, H., Salminen, S. Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr*, 2001:73(suppl ):444S-450S.
37. Isolauri, E. Probiotics in human disease. *Am J Clin Nutr*, 2001:73(suppl):1142S-146S.
38. Johannsen, E., Viljoen, M. Probiotics and the immune system. *SAJNM*, 2001:5:66
39. Johannsen, E., Horn, C. Probiotic bacteria and the prevention/inhibition of cancer. *SAJNM*, 2001:2:38.
40. Isolauri, E., Salminen, S. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1996:70:347-358.
41. Rolfe, R.D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. Symposium: Probiotic Bacteria: Implications for human health. *J Nutr*, 2000:30(suppl) 396S-402S.
42. Majamaa, H., Isolauri, E. Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 1997:99:179-185.
43. Isolauri, E., Arvola, T., Sutas, Y. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exper Allergy*, 2000:30:1604-1610.
44. Kalliomaki, M., Salminen, S., Arvilommi, H., Kero, P., Koskinen, P., Isolauri, E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet*, 2001:357:1076-1079.
45. Laiho, K., Hoppu, U., Ouwehand, A.C., Salminen, S., Isolauri, E. Probiotics: on-going research on atopic individuals. *Brit J Nutr*, 2002:88(suppl 1):S19-S27.
46. Kao, C.T., Frazier, W.C. Effect of lactic acid bacteria on growth of *Staphylococcus aureus*. *Appl Microbiol*, 1996:14:251-255.
47. Goepfert, J.M., Hicks, R. Effect of volatile fatty acids on *Salmonella typhimurium*. *J Bacteriol*, 1969:97:956-958.
48. Midolo, P.D., Lambert, J.R., Hull, R. In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* NCTC 11637 by organic acids and lactic acid bacteria. *J Appl Bacteriol*, 1995:79(4):475-479.
49. Gorbach, S.I., Chang, T., Goldin, B. Successful treatment of relapsing *Clostridium difficile* colitis with Lactobacillus GG. *Lancet*, 1987:26:1519.
50. Urdaci, C., Bressollier, P., Pinchuk, I. *Bacillus clausii* probiotic strains: antimicrobial and immunomodulatory activities. *J Clin Gastroenterol*, 2004:38(suppl2):S86-S90.
51. Kuznetsov, V.F. Intestinal dysbacteriosis in yersiniosis patients and the possibility of its correction with biopreparations. *Ter Arh*, 1994:66:17-18.
52. Klebanoff, S.J., Clem, W.H., Lueble, R.G. The peroxidase-thiocyanate-hydrogen peroxide antibacterial system. *Biochim Biophys Acta*, 1966:117(1):63-72.
53. Dahiya, R.S., Speck, M.L. Hydrogen peroxide formation by lactobacilli and its effect on *Staphylococcus aureus*. *J Dairy Sci*, 1968:51(10):1068-1072.
54. Chan, R.C., Bruce, A.W., Reid, G. Adherence of cervical, vaginal and distal urethral normal microbial flora to human uroepithelial cells and the inhibition of adherence of Gram-negative uropathogens by competitive exclusion. *J Urol*, 1984:131:596-601.
55. Reid, G., Tieszer, C., Lam, D. Influence of lactobacilli on the adhesion of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* to fibres and epithelial cells. *J Ind Microbiol*, 1995:15:248-253.
56. Wilcox, M.D. Coaggregation of oral lactobacilli with streptococci from the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol*, 1993:8:319-321.
57. Erickson, K.L., Hubbard, N.E. Probiotic immunomodulation in health and disease. Symposium: Probiotic bacteria: Implications for human health. *J Nutr*, 2000:(Suppl): 403S-409S.
58. Matsuzaki, T., Chin, J. Modulating immune responses with probiotic bacteria. *Immunol Cell Biol*, 2000:78:67-73.
59. Fang, H. Modulation of humoral immune response through probiotic intake. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2000:29:47-52.
60. Pelto, L., Isolauri, E., Lilius, E., Nuutila, J., Salminen, S. Probiotic bacteria down-regulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects. *Clin Exp Allergy*, 1998:28:1474-1479.
61. Miettinen, M., Matikainen, S., Vuopio-Varkila, J., Pirnonen, J., Varkila, K., Kurimoto, M., Julkunen, I. Lactobacilli and streptococci induce interleukin-12 (IL-12), IL-18 and gamma-interferon production in human peripheral blood mononuclear cells. *Infect Immun*, 1998:66:6058-6062.
62. Toy, L.S., Mayer, L. Basic and clinical overview of the mucosal immune system. *Semin Gastrointest Dis*, 1996:7:2-11.
63. Urdaci, M.C., Bressollier, P., Pinchuk, I. *Bacillus Clausii* probiotic strains: Antimicrobial and immunomodulatory functions. *J Clin Gastroenterol*, 2004:38(2):S86-S90.
64. Pouwels, P.H., Leer, R.J., Shaw, M., Heijne den Bak-Glashouwer, M.J., Tielen, F.D., Smit, E., Martinez, B., Jore, J., Conway, P.L. Lactic acid bacteria as antigen delivery vehicles for oral immunisation purposes. *Int J Food Microbiol*, 1998:41:155-167.
65. Miraglia del Giudice, M., De Luca, M.G. The role of probiotics in the clinical management of food allergy and atopic

- dermatitis. *J Clin Gastroenterol*, 2004;38(Supp 2):S84-S85.
66. Rautava, S., Kalliomaki, M., Isolauri, E. Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the Infant. *JACI*, 2002;109-121.
  67. Jiang, T., Mustapham, A., Savaiano, D.A. Improvement of lactose digestion in humans by ingestion of unfermented milk containing *Bifidobacterium longum*. *J Dairy Sci*, 1996;79:750-757.
  68. Gilliland, S.E. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol*, 1985;49:377-381.
  69. Gilliland, S.E., Speck, M.L. Deconjugation of bile acids by intestinal lactobacilli. *Appl Env Microbiol*, 1977;33:15-18.
  70. Laroia, S., Martin, J.H. Bifidobacteria as possible dietary adjuncts in cultured dairy products. *Cult Dairy Prod J*, 1990;25:18-22.
  71. Teitelbaum, J.E., Walker, W.A. Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. *Ann Rev Nutr*, 2002;22:107-138.
  72. Heyman, M. Effect of lactic acid bacteria on diarrheal diseases. *J Am Coll Nutr*, 2000;19(2):137S-146S.
  73. Isolauri, E., Juntunen, M., Rautanen, T., Sillanaukee, P., Koivula, T. A human *Lactobacillus* strain (*Lactobacillus casei* sp strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children. *Pediatrics*, 1991;88:90-97.
  74. Majamaa, H., Isolauri, E., Saxelin, M., Vesikari, T. Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis. *J Pediatr Nutr*, 1995;20:333-338.
  75. Perdigon, G., Nader de Macias, M.E., Alvarez, S., Medici, M., Oliver, G., Pesce de Ruiz Holgado, A. Immunopotentiating activity of lactic bacteria administered by oral route. Favourable effect in infantile diarrheas. *Medicina*, (B Aires) 1986;46:751-754.
  76. Heyman, M., Menard, S. Review. Probiotic microorganisms: how they affect intestinal pathophysiology. *CMLS* (Cellular and Molecular Life Sciences), 2002;59:1151-1165.
  77. Alm, L. The effect of *Lactobacillus acidophilus* administration upon the survival of Salmonella in randomly selected human carriers. *Prog Food Nutr Sci*, 1983;7:13-17.
  78. Brunser, O., Araya, M., Espinoza, J. Effect of an acidified milk on diarrhoea and the carrier state in infants of low socio-economic stratum. *Acta Paediatr Scand*, 1989;78:259-264.
  79. Raza, S., Graham, S.M., Allen, S.J., Sultana, S., Cuevas, L., Hart, C.A. Lactobacillus GG promotes recovery from acute non-bloody diarrhea in Pakistan. *Pediatr Infect Dis J*, 1995;14:107-111.
  80. Saavedra, J.M. Clinical applications of probiotic agents. *Am J Clin Nutr*, 2001;73(suppl):1147S-1151S.
  81. Kaila, M., Isolauri, E., Soppi, E., Virtanen, E., Laine, S., Avriilommi, H. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatr Res*, 1992;32:141-144.
  82. Biller, J.A., Katz, A.J., Flores, A.F., Buie, T.M., Gorbach, S.L. Treatment of recurrent *Clostridium difficile* colitis with *Lactobacillus GG*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1995;21:224-226.
  83. Pochapin, M. The effect of probiotics on *Clostridium difficile* diarrhea. *Am J Gastroenterol*, 2000;95:S11-S13.
  84. Salminen, E., Elomaa, I., Minkkinen, J., Vapaatalo, H., Salminen, S. Preservation of intestinal integrity during radiotherapy using *Lactobacillus acidophilus* cultures. *Clin Radiol*, 1988;39:434-437.
  85. Urbanczek, H. Results of a double-blind randomised study to evaluate the efficacy and safety of *Antibiohilus* in patients with radiation-induced diarrhoea. *Eur J Gastroenterol Hepatologica*, 2001;13:391-396.
  86. Oksanen, P.J., Salminen, S., Saxelin, M., Hamalainen, P. Prevention of travellers' diarrhoea by *Lactobacillus GG*. *Ann Med*. 1990;22:53-56.
  87. Hilton, E., Kolakowski, P., Singer, C., Smith, M. Efficacy of *Lactobacillus GG* as a diarrhoeal preventive in travellers. *J Travel Medicine*, 1997;4:41-43.
  88. Roggero, P., Volpe, C., Ceccatelli, M.P., Lambri, A., Giuliani, M.G., Donattini, T., Garavaglia, M.C., De Vincentiis, A. Crystalline lactulose and oral preparations of microorganisms for the treatment of chronic aspecific diarrhoea in children. A controlled clinical study. *Minerva Pediatr*, 1990;42:147-150.
  89. Boudraa, G., Touhami, M., Pochart, P., Sultana, R., Mary, J.Y., Desjeux, J.F. Effect of feeding yogurt versus milk in children with persistent diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1990;11:509-513.
  90. Jiang, T., Mustapham, A., Savaiano, D.A. Improvement of lactose digestion in humans by ingestion of unfermented milk containing *Bifidobacterium longum*. *J Dairy Sci*, 1996;79:750-757.
  91. Goldin, B.R. Health benefits of probiotics. *Br J Nutr*, 1998;80(suppl2):S203-S207.
  92. Di Stefano, M., Miceli, E., Armellini, E., Missanelli, A., Corazza, G.R. Probiotics and functional abdominal bloating. *J Clin Gastroenterol*, 2004;38(Supp2):S102-S103.
  93. Alm, L. et al. The effect of acidophilus milk in the treatment of constipation in hospitalised geriatric patients. 1983 XV Symp. Seed. Nutr Found.
  94. Yaeshima, T. Benefits of bifidobacteria to human health. *Bulletin of the International Dairy Foundation*, No 313:36-42.
  95. Bennet, A., Elley, K.G. Intestinal pH and propulsion: an explanation of diarrhoea in lactase deficiency and laxation by lactulose. *J Pharm Pharmacol*, 1976;28:192-195.
  96. Seki, M. The effect of *Bifidobacterium* cultured milk on the 'regularity' among an aged group. *Nutr Foodstuff*, 1978;31:379-387.
  97. Reid, K. Gastrointestinal health. The role of pro- and prebiotics in standard foods. *Austr Fam Phys*, 2004;33(4):253-256.
  98. Cong, Y., Konrad, A., Iqbal, N., Elson, C.O. Probiotics and immune regulation of inflammatory bowel diseases. *Current Drug Targets - Inflammation & Allergy*. 2(2):145-54, 2003, Jun.
  99. Davey, P. (ed.). (2002). *Medicine at a Glance*. Blackwell Science Publishers, p401.
  100. Plummer, N., Wood, C. The neonatal immune system and risk of allergy: a delicate balance act, positively influenced by probiotics and fatty acids. *Townsend letters for Doctors and Patients* 2002;Feb/March:105.
  101. Nurse, B. T helper cells, the hygiene hypothesis and immune changes in immunotherapy. *Curr Aller Clin Immunol*, 2002;15:48-61.
  102. Kirjavainen, P.V., Apostolou, E., Salminen, S.J., Isolauri, E. New aspect of probiotics – a novel approach in the management of food allergy. *Allergy*, 1999;54:909-915.
  103. Paganelli, S., Ciuffreda, N., Verna, N., Cavalucci, E., Paolini, F., Ramonda, S., Di Gioacchino, M. Probiotics and food allergic diseases. *Allergy*, 2002;57(suppl ):97-99.
  104. Kalliomaki, M., Isolauri, E. Role of intestinal flora in the development of allergy. *Curr Op Aller & Clin Immunol*, 2003;3(1):15-20.
  105. Johannsen, E. Urogenital infections and probiotics. *SAJOG*, 2005;11:12-13.
  106. Morelli, L., Zonenenschain, D., Del Piano, M., Cognein, P. Utilization of the intestinal tract as a delivery system for urogenital probiotics. *J Clin Gastroenterol*, 2004;38(Supp 2):S107-S110.
  107. Read, G., Devillard, E. Probiotics for mother and child. *J Clin Gastroenterol*, 2004;38(Supp 2):S94-101.
  108. Hopkins, M.J., MacFarlane, G.T. Changes in predominant bacterial population in human faeces with age and with *Clostridium difficile* infection. *J Med Microbiol*, 2002;51:448-454.
  109. Gill, H.S., Rutherford, K.J. Dietary probiotic supplementation enhances natural killer cell activity in the elderly: an investigation of age-related immunological changes. *J Clin Immunol*, 2001;4:264-271.
  110. Marteau, P., Seksik, P. Tolerance of probiotics and prebiotics. *J Clin Gastroenterol*, 2004;38(Supp 2):S67-S69.
  111. Hennequin, C., Kauffmann-Lacroix, C., Jobert, A. Possible role of catheters in *Saccharomyces boulardii* fungemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2000;19:16-20.
  112. Riquelme, A.J., Calvo, M.A., Guzman, A.M. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia after *Saccharomyces boulardii* treatment

- in immunocompromised patients. *J Clin Gastroenterol*, 2003;3(6):41-44.
113. Rautio, M., Jousimies-Somer, H., Kauma, H. Liver abscess due to a *Lactobacillus rhamnosus* strain GG. *Clin Infect Dis*, 1999;28:1159-1160.
114. Mackay, A., Taylor, M., Kibbler, C. *Lactobacillus* endocarditis caused by a probiotic organism. *Clin Microbiol Infect*, 1999;5:290-292.
115. Borriello, S.P., Hammes, W.P., Holzapfel, W., Marteau, P., Schrezenmeir, J., Vaara, M., Valtone, V. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clin Infect Dis*, 2003;36(6):775-80.