

A probiotikumok perspektívái

Irodalmi áttekintés

Molnár Pál

Központi Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet

Érkezett: 2004. szeptember 30.

Az egészség megőrzése iránti igény az egyes országokban folyamatosan, de differenciáltan növekszik. Ezzel összefüggésben visszatérően felméréseket végeznek az egészséget döntő mértékben befolyásoló komplex tényezők, mint táplálkozás, sport, genetikai hajlam. A néhány évvel ezelőtt 3 nagy európai országban végzett lakossági felmérés figyelemre méltó különbségeket mutatott ki az emberek véleményét illetően. Ez talán elfogadható magyarázat arra vonatkozóan is, hogy a franciák viszonylag kevésbé hajlandók táplálkozási szokásaik megváltoztatására.

1. táblázat: Az egészséget döntően meghatározó tényezők %-os aránya lakossági felmérés szerint

Ország	Táplálkozás	Sport	Genetikai hajlam
Egyesült Királyság	62	15	23
Franciaország	23	52	25
Németország	59	24	17

Forrás: LFRA, 1998

Ezzel összefüggésben célszerű bemutatni annak a felmérésnek az eredményeit, amelyek a felmérést követő 5 évben várható növekedést jelezték a funkcionális élelmiszerek egyes típusaira vonatkozóan.

2. táblázat: A funkcionális élelmiszerek következő évekre feltételezett bővülése

A funkcionális élelmiszerek jellege	A megkérdezettek %-os aránya, akik a növekedést feltételezték
Probiotikumok	86
Kalciummal dúsított	84
Vitaminokkal dúsított	79
Fólsav-hozzáadás	79
Kedvező energiatartalom	74
Emlékezetjavító hatás	47

Forrás: LFRA, 1998

Az előrejelzések többnyire bekövetkeztek. Az első helyen szereplő probiotikumok gyártási és forgalmazási adatai meggyőzőek, amelyekkel az összeállított szakirodalmi elemzés részletesen foglalkozik. A 2. táblázatban foglalt felsorolás természetszerűleg nem tartalmazza azokat a funkcionális élelmiszereket, amelyek jellege sem volt akkor ismeretes (pl. fitoszterollokkal dúsított).

A továbbiakban a probiotikumok jogosultságának indoklásával és – már részben meg is valósult – perspektíváival foglalkozunk.

Az elmúlt évtizedben az egész világon az egyik kiemelt kutatási trend volt az emberi szervezetben élő jótékony mikroorganizmusok, a bélflórát alkotó probiotikumok szerepének, hatásának a vizsgálata. A velünk szimbiózisban élő közel négyszáz féle baktériumtörzs közül a különféle tejsavbaktériumok a legjelentősebbek, mert az ő jótékony hatásuk nyilvánul meg a legszélesebb körben, és hat a legközvetlenebbül az egészségünkre.

A belek és az ott élő baktériumok, azaz a bélflóra egy olyan egyensúlyi állapotban vannak, amelyet külső hatások könnyen felborítanak. Ezek közül a legjelentősebb tényezők: antibiotikumok szedése, kemoterápia, radiológiai kezelés, stressz, helytelen táplálkozás, vagy betegségek. Ilyen körülmények között néhány káros baktérium vagy gomba jobban elszaporodhat a jótékony baktériumok rovására. Az egyensúly megbomlása betegségekhez vezet, melynek jelei: az ellenálló képesség csökkenése, fáradtság, emésztési zavarok, felszívódási problémák, borproblémák (psoriasis, acne, ekcéma) és esetlegesen allergiás reakciók is kialakulhatnak.

Mivel az immunanyagok kb. 70%-át a bélflóra termeli, ennek károsodása súlyosan veszélyezteti immunrendszerünk normális működését. Amennyiben a bélflóra megsérül, probiotikus tejsavbaktériumokkal állíthatjuk helyre a normál működését.

A teljesség igénye nélkül szeretnénk ismertetni a különböző tejsavbaktériumok jótékony hatását a táplálkozásban, a profilaxisban, valamint a gyógyításban.

A tápanyagforgalomban kifejtett pozitív hatás:

- Növeli a fehérje, zsír, ásványi anyagok és vitamin felhasználását: jobb emészthetőség, oldódás, felszívódás.
- Hypochlorydriás esetekben fokozza a pepsin működését.
- A β -galactosidase tevékenységet és laktóz fermentációt intenzívebbé teszi.
- Koleszterin szint csökkenést eredményez.
- Szabadgyökök eltávolítását végzi.
- Vitaminokat termel: K, B, vitaminok, folsav.
- Egyensúlyt teremt a bélfunkciókban.

- Javuló bélmozgást eredményez.
- Növeli a tápanyagok jobb felhasználását, a biológiai elérhetőség által.

Profilaxisban kifejtett pozitív hatás:

- Javítja a bélflórát.
- Véd a fertőző baktériumok ellen.
- Meggátolja a rothasztó folyamatokat.
- Megelőzi az antibiotikumok által a bélben okozott mellékhatásokat.
- Megakadályozza a székrekedés kialakulását.
- Hozzájárul a vastagbélrák és a májsugorodás megelőzéséhez.
- Hasznos biocinokat termel.
- Növeli az antitest képzést és fokozza a falósejtek tevékenységét.
- Stimulálja az immunrendszert.
- Segít a hüvelyfertőzések megelőzésében.

Gyógyításban betöltött szerepe:

- Gátló hatás a kóros génekre pl. *Escherichia coli* baktériumok elszaporodásának megakadályozása, kedvező hatás a cukorbetegség kialakulása ellen.
- A karcinogének termelődésének gátlása, a bélben található rothasztó baktériumok enzimeit által (β -glucuronidase, azoreductase, nitroreductase, β -glucosidase, 7- α -dehidrolase).
- Májkárosodás kezelése.
- Encephalopathia kezelése.
- Fertőző hasmenés kezelése (pl. salmonella).
- Az utazók hasmenésének megelőzése.
- Antibiotikum okozta vaginitis kezelésének javítása.
- A bélgombás megbetegedések - candidiasis - kezelésének alappillére a probiotikus baktériumok rendszeres, mindennapi bevitele.

Az utóbbi években az emberi vastagbél funkciójáról megváltozott a táplálkozástudósok, orvosok és mikrobiológusok álláspontja. Felismerve a baktériumok egészségre gyakorolt hatását, ma már vastagbelet igazi emésztőszervnek tartják. Olyan sok baktérium kolonizál ugyanis benne, hogy a rezidens mikrobióta hatására a vastagbél a test metabolikusan legaktívabb helye.

A gyomor-bél rendszer különböző komponensei, azaz a mikrobióta, a táplálék és a gazdaszervezet fiziológiája között dinamikus egyensúly áll fenn. Az egyén élete során ez az ökoszisztéma időnként károsodhat vagy patogén mikroorganizmusokkal keveredhet, ami kedvezőtlen hatású.

Glenn Gibson a probiotikumot mint a gazdaszervezetre a bél mikrobiológiai egyensúlyának javítása révén kedvezően ható élő

mikrobiológiai táplálékot definiálja. Ez a definíció hangsúlyozza, hogy a probiotikum életképes mikroorganizmusokból áll. A probiotikumok közvetlenül hathatnak a gyomorpépre, a mikroflórára, az enterocitákra és az immun-kompetens sejtekre. Közvetett hatásuk is lehet, az ökoszisztéma vagy a helyi immunrendszer módosítása révén.

A **probiotikumok** az életet könnyebbé tehetik a bélrendellenességekkel küzdő ember számára. Kétfajta probiotikum hatékonyságát tanulmányozták olyan önkénteseknél Írországbán, Spanyolországban és Finnországban, akik gyulladással járó vastagbél betegségekben (IBD) szenvedtek, mint a Crohn féle betegség vagy a fekélyes colitis.

Probiotikumok élő mikrobás élelmiszer alkotórészek, amelyeknek előnyös hatása van az egészségre a bél mikroflórára gyakorolt hatásuk következtében.

Prebiotikumok olyan élelmiszer alkotórészek, amelyek előnyösek az egészségre mivel stimulálják specifikus, előnyös hatású mikroorganizmusok szaporodását a vastagbélben.

Szinbiotikumok olyan alkotórészek, amelyek kombináltják a prebiotikumokat és probiotikumokat.

A legtöbb probiotikum tejsavtermelő baktérium, a leggyakrabban használt típusok a *Lactobacillus* vagy *Bifidobacterium* nemzetségbe tartozó fajok. Az újabb probiotikumok közé egyéb mikroorganizmusok is tartoznak, pl. élesztők (pl. *Saccharomyces boulardii*) és *Bacillus* fajok.

Hagyományosan a probiotikumokat joghurtokban és egyéb erjesztett élelmiszerekben kínálták a fogyasztóknak, újabban azonban a probiotikumok egyéb hordozóit is kifejlesztették, beleértve a tablettákat, kapszulákat és folyadék-szuszpenziókat is.

A tejiparból származó probiotikumokról a bélben előfordulóakra azért tevődött át a hangsúly, mert a túlélési kapacitás a nemzetségek, sőt törzsek között is eltérő lehet. A tejipari probiotikumok pl. *Lactococcus*, *Streptococcus* és termofil tejsavbaktériumok a gyomor- és bélrendszeren áthaladva károsodnak, míg más, bélrendszerből származóak, pl. a *Bifidobacterium*, *L. plantarum* vagy a *L. acidophilus* a vékonybélben és esetenként a vastagbélben is nagy koncentrációban jutnak át.

Háromféle megközelítés jelent meg a kereskedelemben ennek a célnak az elérésére: a probiotikus, a prebiotikus vagy szinbiotikus. Ezek közül az elsőt, a mikrobiálisan kiegészített táplálkozást a probiotikumok étrendbe iktatása jellemzi. A *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* fajták alkotják a fejlett országokban használt probiotikus kultúrák jelentős részét, mivel ezeket izolálták az egészséges emberi gyomor- és bélrendszer minden részéről.

Az olyan probiotikumokat, mint a *Lactobacillus acidophilus*, és a bifidobaktériumok, több éve reklámozzák élelmiszerekben, egészségjavító hatásuk miatt. Ezek a hatások azonban nagymértékben anekdotikusak voltak és csak ritkán támasztotta alá jól vezetett humán klinikai vizsgálatból eredő bizonyíték, melyet a tudományos irodalom közölt.

Az Európai Unió Bizottsága a kutatási és technológia-fejlesztési keretprogramjában számos kutatást támogat annak érdekében, hogy tudományos adatok sokasága álljon rendelkezésre a probiotikus baktériumok témakörében.

A jelenleg is folyó kutatások szerint valószínűsíthető, hogy néhány tejsav-baktériumfaj képes:

- csökkenteni olyan mikrobiális enzimek aktivitását, amelyek prokarcinogén anyagokat képesek karcinogén vegyületekké alakítani (pl. α -glükuronidáz, α -glükozidáz, nitroreduktáz, ureáz),
- növelni a szervezet rezisztenciáját a fertőzésekkel szemben (különösen a hasmenést okozó fertőzésekkel szemben),
- erősíteni a bélflóra aktivitását számos allergiát kiváltó tényezővel szemben,
- enyhíteni a gyulladással járó bélbetegségek tüneteit, így javul a betegek életminősége.

Az eredmények nagyon biztatók, de még sok vizsgálatra van szükség megerősítésükre. Az alábbi hatások tekintetében viszont már most egyetértenek a kutatók. Ezek a mikroorganizmusok:

- serkentik az immunfolyamatokat,
- csökkentik a patogén baktériumok aktivitását a bélrendszerben.

A probiotikus hatásmechanizmusok

Bár a probiotikumokról úgy gondolják, hogy egészségjavító vagy -megőrző hatásúak, még nem teljesen tisztázott ennek a mechanizmusa. Több elképzelés született azonban, így például az, hogy a rendelkezésre álló tápanyagért és kolonizációs helyért versenyben vannak az opportunista patogénnel, a kolonizációs rezisztencia útján antimikrobiális anyagokat, pl. bakteriocineket vagy emésztő enzimeket termelnek; szerves savak, pl. ecetsav, tejsav termelésével csökkentik a vastagbél pH-ját; nem-specifikusan serkentik az immunrendszert; csökkentik a transzlokációt.

A probiotikus baktériumokat hagyományosan felhasználják a fermentációra. Az újabb vizsgálatok semmi jelentősebb kockázatot nem mutattak ki. Ennél azonban döntőbb bizonyítékokra van szükség humán vizsgálatokból. Fontos, hogy a probiotikumok túlélésével kapcsolatos problémákat megoldották.

A tejsav-baktériumok általában gram-pozitív, nem spóráképző, nem mozgékony pálcikák vagy gömb alakú baktériumok G-C (Guanin+citozin) DNS tartalmuk rendszerint 35 és 51 mol % között van. Levegőtűrőek vagy anaerobok, és szigorúan fermentatívak. A glukózt elsősorban tejsavvá erjesztik (homofermentatív út), vagy ekvimoláris mennyiségben keletkezik tejsav, szén-dioxid és etanol és/vagy ecetsav (heterofermentatív út). Jelenleg a *Lactobacillus* nemzetség 56 faja ismert.

A Bifidobaktériumokat általában gram-pozitív, nem spóráképző, nem mozgékony, kataláz-negatív anaerob baktériumként írják le. A G+C DNS tartalom 55 és 67 % között van. Cukorhasznosító mikroorganizmusok, 3:2 molarányban ecetsavat és tejsavat termelnek szén-dioxid fejlődés nélkül, kivétel ezalól a glukonátok lebontása. A fermentáció kulcs-enzime a fruktóz-6-foszfát foszfoketoláz, taxonómiai jellemzőként szolgál a nemzetség azonosításában, de nem teszi lehetővé a fajták megkülönböztetését. Jelenleg a Bifidobaktérium nemzetség 29 faja ismert, amelyek közül 10 emberi eredetű.

A leggyakoribb probiotikumok a *Lactobacillus* (pl. *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. johnsonii*, *L. reuterii*) és Bifidobaktérium nemzetséghez tartoznak (utóbi pl. a *B. bifidum*, *B. longum*, *B. breve*).

Kedvező terápiás hatások étel-miszer-allergiában

Az egészséges bélben az immunrendszer egyensúlyt tud teremteni a védő nyálkahártya immunitás és a diétás antigénekkal szembeni tolerancia között. Ételmiszer-allergiában ez az egyensúly felborul és az immunrendszer az étel-miszer-antigénekre gyulladós választ ad, melyet a 2. típusú T-helper (Th2) sejtek aktivitásnövekedése és a velejáró citokineknek az 1. típusú (Th1) T-helper sejtekhez képesti felszaporodása jelez. Bár a pontos mechanizmust még csak feltételezik, a bél mikrobióta ellensúlyozza a Th2 aktivitást és elősegíti az orális toleranciát. Ezért feltételezik, hogy a probiotikus beavatkozás enyhítheti az étel-miszerallergia tüneteit azáltal, hogy a bélflóra kedvező módosítása révén modulálja az immunválaszt.

Ezt a hipotézist vizsgálták a turkui egyetemen és annak központi kórházában, a *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus paracasei* F19, és a *Bifidobacterium lactis* Bb12 probiotikus törzsek bevonásával. Fokozatos megközelítéssel, a törzseket először egészséges felnőtteken, majd egészséges gyermekeken tesztelték, mielőtt végül étel-miszerallergiás gyermekek táplálék-kiegészítésére alkalmazták volna. Az elővizsgálatok során az alanyok az összes probiotikumot jól tűrték. Igazolták, hogy a törzsek túlélnek a tápcsatornát és átmenetileg kolonizálnak a vastagbélben. A wageningeni egyetemen, Hollandiában kifejlesztett új molekuláris

eszközökkel kimutatták, hogy a probiotikumok nem okoztak komolyabb zavart a bél mikrobióta populációdinamikájában.

Ezeket a bátorító eredményeket követően terápiás vizsgálatokat végeztek ötvenkét 2-6 hónapos csecsemővel, akik súlyos élelmiszer-allergiában szenvedtek, tüneteik súlyos atópiás ekcéma formájában jelentkeztek. A vizsgált immunológiai indikátorok: az ELISPOT esszé (melynek alapja a GALT limfociták érési ciklusa és annak mérése a perifériás vérben), fagocitózis (Fcγ receptorok és komplement receptor expresszálódás és aktivitás), citokinek (TNFα, IL-4, IL10, IFNγ), NK-sejtek és T-helper sejtek.

Az élelmiszer-allergiás gyermekek probiotikus kezelésének klinikai vizsgálata kimutatta, hogy a probiotikus beavatkozás lényegesen javította az atópiás ekcémát a kontroll csoporthoz képest. Mindkét probiotikus törzs egyaránt hatékony volt, bár hatásmechanizmusuk kissé különbözött. A klinikai tünetek csökkenése együtt járt a keringő CD4 koncentrációcsökkenésével és a b-1 növekedési faktor emelkedésével, ami a T-sejt funkciókat elnyomó hatás jele. Így a probiotikumok olyan mechanizmussal enyhítik az élelmiszer-allergiát, amely helyreállítja a Th1/Th2 sejt egyensúlyt, leszabályozza a gyulladással való választ és megszünteti az allergiás tüneteket.

Igazolták azt a korábbi tapasztalatot, mely szerint a probiotikumok felhasználhatók az élelmiszer-allergia kiegészítő kezelésére, és új hatásmechanizmust állapítottak meg. A probiotikumok másik klinikailag igazolt egészségjavító hatása az irritábilis bél szindróma kezelése és a bél kolonizációja probiotikumokkal- mondta Saxelin.

A gyermekekkel végzett vizsgálat eredményein felbátorodva, kisebb vizsgálatot indítottak a *Lactobacillus paracasei* F19 hatásának tanulmányozására tej túlérzékenységben szenvedő felnőttekkel, az ARLA-val (Svédország) együtt. Megállapították, hogy a *Lactobacillus paracasei* F19-cel előállított tejtermékek biztonságosak, mind az egészséges, mind a tejre hiperszenzitív egyének jól tolerálják, de a törzs immunomoduláns hatásának vizsgálatához hosszabb időtartamú vizsgálatra van szükség, nagyobb számú kísérleti alannyal.

Mostanáig az élelmiszer-allergia egyetlen kezelési lehetősége az volt, ha a támadó élelmiszert kihagyták az étrendből. Tudományos bizonyíték van azonban arra, hogy a probiotikumok alkalmasak az élelmiszer-allergia kezelésére. Az újszülöttekkel végzett vizsgálatok eredményei igazolják, hogy a probiotikumok alkalmazhatók a humán allergiás tünetek enyhítésére és új utat jelenthetnek az élelmiszer-allergiák kezelésében, különösen újszülötteknél, ahol a mikrobióta még fejlődik.

A gyulladásoos bélbetegségek kezelése

A gyulladásoos bélbetegség (IBD) több gyógyíthatatlan, immun eredetű, ismeretlen kóroktanú betegséget jelöl, melyek krónikusan visszatérő (súlyosbodó) bélgyulladást okoznak. A gyulladásoos bélbetegség két fő klinikai formája a Crohn betegség és a colitis ulcerosa, mindkettő jelentősen rontja a páciensek életminőségét és fokozza a bélrák kockázatát. A genetikai hajlamon kívül környezeti tényezőket, a bél mikrobióta összetételét és aktivitását is felelőssé teszik a betegséért. Ezért vetették fel, hogy a probiotikumok segíthetnek a gyulladásoos bélbetegség enyhítésében azáltal, hogy kedvezően modulálják a bél mikrobiótát.

A *Lactobacillus salivarius* UCC118 klinikai vizsgálatát elősegítendő, a gyulladásoos bélbetegség kezelésére és megelőzésére két in vivo egér modellel vizsgálatot végeztek ebben a betegség-csoportban. Az IL-10 knock-out egérben a probiotikum fogyasztása (kb. 10⁹ CFU =telepképző egység/nap adag, tej kiegészítőben) jelentősen csökkentette a gyulladást a vakbélben és vastagbélben, a placebo tejet kapó egerekhez képest. A gyulladás és a rák előfordulásának csökkentése együtt jár. Érdekes módon a vakbél és vastagbél rákkal kapcsolódva legnagyobb számban enterococcusokat mutattak ki, és ezek az organizmusok kisebb számban voltak jelen a probiotikummal táplált állatok bél mikroflórájában, hasonlóan a clostridium és coliform baktériumokhoz. (Az enterococcusok és clostridiumok csökkenését figyelték meg az UCC118-at fogyasztó önkéntes, egészséges felnőtteknél is.) Feltételezték, hogy a *L. salivarius* UCC118 etetése kedvezően módosította az egerek bél mikrobiótáját, s ennek eredményeképpen csökkent a gyulladás és rák előfordulási gyakorisága.

A probiotikum etetés jelentős előnyét észlelték CD45RBxxIBD egér modellkísérlet során, melyeket tejtermékbe kevert *L. salivarius* UCC118 és *Bifidobacterium longum infantis* UCC35624 mikroorganizmussal etettek. A probiotikumok szignifikánsan enyhítették a betegség súlyosságát, egy hathetes időszak alatt kisebb volt a súlyvesztés, javult a vastagbél patológiája és jelentősen javult az egerek megjelenése. Ezzel szemben az összes kontroll egérben krónikus sorvadás alakult ki, mely a probiotikumot nem tartalmazó tejtermékekkel etetett egereknél is tapasztalható volt.

A sikeres egér modellkísérletek után a *Lactobacillus salivarius* UCC118 hatását humán kísérletben, aktív bélgyulladásoos betegekben vizsgálták az ír University College Cork-ban. Kimutatták, hogy a fermentált tej hordozóban kb. 10¹⁰ CFU/nap koncentrációban adagolt törzs áthaladt az IBD páciensek gyomor- és bélrendszerén és kb. 5,4*10⁵ CFU/g nedves széklet koncentrációban volt kimutatható. Ezek kívül a vastagbél biopsziás mintavétele, amelyet a Finnországban a kuopioi kórházban végeztek, kimutatta, hogy a törzs kolonizált mind az egészséges, mind a gyulladt

vastagbél nyálkahártyán, az egész vastagbélben. A *L. salivarius* UCC118-at húsz olyan betegnek adták, akiknek súlyosbodó Crohn betegsége volt. hat hetes időszak alatt nem mindegyik betegnél jelentkezett klinikai javulás, a betegek azonban úgy találták, hogy a probiotikum javította az életminőségüket és a legtöbb esetben inkább a probiotikus kezelést akarták tovább folytatni a szteroidokhoz való visszatérés helyett. Bebizonyosodott, hogy a *L. salivarius* UCC118 veszélytelen, és nem súlyosbította a Crohn betegség klinikai paramétereit. Ez azt jelenti, hogy a törzs használható az átmeneti javulás meghosszabbítására IBD betegekben, ami a probiotikumok alkalmazásának realistább célja ebben a betegségben. anélkül, hogy a visszaesés első jelére kizárnák a betegeket a kísérletből. Jelenleg is folyik a *L. salivarius* UCC118 hatékonyságvizsgálata Crohn betegségben szenvedők átmeneti javulásának fenntartása céljából a University College Cork-ban.

A fertőzésekkel szembeni ellenállóképesség fokozása

A csecsemők bél mikroflórája a bél védekezőrendszerének egyik fontos eszköze, nyilvánvaló célpontja a funkcionális élelmiszerek fejlesztésének. Igazolták, hogy a bél mikroflóra összetétel minőségi különbségei befolyásolják a baktériumgazda immunológiai homeosztázisát, ezáltal csökkentve a megbetegedés kockázatát.

A bélflóra probiotikumokkal történő módosítása, a specifikus nem-patogén baktériumok dominanciájának növelése, a bél miliő módosítása ésszerű alternatíva a bélfertőzések és más gyulladós betegségek megelőzésére vagy terápiás kezelésére. A legjobban dokumentált terápiás alkalmazás a csecsemőkori rotavírusos hasmenés megelőzése és kezelése.

Számos vizsgálat mutatott rá arra, hogy a probiotikus baktériumok fogyasztása hatékonyan csökkenti az akut hasmenés előfordulását és időtartamát.

Törzs-specifikus molekuláris azonosítási technikákkal igazolták, hogy a *B. lactis* Bb12 túlélte a bélen való áthaladást és a kezelt csoport 80%-ának székletében kimutatható volt. Fontos az is, hogy mind hagyományos mikrobiológiai tenyésztéses módszerekkel, mind az új, a bél mikrobióta teljesebb leírását biztosító molekuláris módszerekkel kimutatták, hogy a *B. lactis* Bb12 nem zavarja meg a domináns baktériumpopulációs csoportokat a bél mikrobiótájában. A probiotikum csak kevéssé befolyásolja a hasmenés előfordulását. A rotavírus okozta hasmenés száma viszonylag alacsony volt (kb. 10%) és egyenlően oszlott meg a csoportok között. Úgy találták, bár nem szignifikáns szinten ($P=0,07$) hogy a *B. lactis* BB-12 csökkentheti a hasmenés időtartamát, amely átlagosan egy nappal rövidebb volt a kezelt csoportban (2,7 nap) mint a kontroll csoportban (3,6 nap).

PCR alapú technikákat fejlesztettek ki több specifikus probiotikus baktérium hatásmechanizmusának értékelésére. A probiotikus baktériumoknak a teljes bélflórára gyakorolt hatását új analitikai módszerekkel (pl. DGGE) értékelik. Ezek a technikák igen fontosak Grenow szerint a probiotikus baktériumok és a bélflóra jövőbeli vizsgálataihoz is.

A *Helicobacter pylori*-val való aktív fertőzöttség sok gyomorfekély kiváltója, amely erősen kapcsolatba hozható a gyomorrákkal, és az életkor előrehaladásával fokozódik. Több állatmodell és humán kísérlet utalt arra, hogy a probiotikumok hozzájárulhatnak a *H. Pylori* fertőzés szabályozásához.

Az immunrendszer serkentése

Egészséges és beteg emberek esetén is megfigyelték, hogy a megevett tejsav-baktériumok és bifidobaktériumok immunomoduláló hatásúak. E hatás mechanizmusa nem ismert, de feltételezik a megevett baktériumok kis hányadának transzlokációját az M sejtek útján a bél nyirokszövet Peyer foltjaiba, ami nem specifikusan aktiválja a fagocitákat, ezáltal fokozott nyirok immunválaszhoz vezet.

Egyre több a bizonyíték arra, hogy a probiotikumok képesek a gazdaszervezet immunrendszerét modulálni, mind helyi nyálkahártya immunrendszer szinten, mind szisztémásan. Ha a probiotikumokat az immunfunkció támogatása és ezáltal a gazdaszervezet jobb védelme érdekében adják, a cél a nemspecifikus immunitás fokozása anélkül, hogy egy potenciálisan káros, gyulladást megelőző immunválaszt váltanának ki.

A *Lactobacillus casei*-vel kezelt gyermekek esetén csökkent a hasmenés időtartama és fokozódott a szisztémás antitest kiválasztó sejtválasz. A joghurt fogyasztás is stimulálja a vérsejtekben a citokin termelést.

Tökéletesebb laktóz anyagcsere

A Föld lakosságának több mint fele laktóz intoleranciában szenved. A laktóz intolerancia tüneteit néhány probiotikum jól enyhítette. A laktázhiányos betegek vizsgálata, a fermentált tejtermékek és a tej fogyasztás összehasonlítása kimutatta, hogy a joghurtfogyasztás javítja a laktóz emészthetőségét. Ezt a termék emelt laktáz aktivitása okozza.

Hasmenés

Több vizsgálatban kimutatták, hogy a probiotikumokat sikeresen alkalmazták antibiotikumok okozta hasmenés esetén. Jelentős pozitív eredményeket értek el *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus* fajok és

egyres bifidobaktériumok alkalmazásával. A *Bifidobacterium longum* tartalmú joghurt fogyasztása enyhítette az Eriromycin által indukált hasmenést.

Rákellenes tulajdonságok

A legtöbb, daganat-és rákellenes aktivitást vizsgáló kísérletet állatmodellel végezték. Csak kevés szignifikáns tudományos bizonyíték támasztja alá azonban az ilyen hatást embereken. Az állatmodell kísérletekben azt találták, hogy a *Bifidobacterium longum* liofilizált tenyészetének adagolása csökkentette a 2-amino-3-metil-imidazol[4,5-t]kinilon rákkeltő hatását. A probiotikumok egyes törzsei szabályozhatják a bél mikrobiális enzimaktivitását. Ez a jelenség elnyomja azoknak a bakteriális enzimeknek az aktivitását, amelyek a karcinogén vegyületek prekursorait aktív karcinogénekké alakítják. Egészséges alanyokkal végzett vizsgálatok kimutatták, hogy az *L. acidophilus* orális szedése jelentősen csökkentette a β -glukuronidáz, nitroreduktáz és azoreduktáz aktivitást.

Technológiai kiválasztási feltételek

A probiotikus mikroorganizmusokat fagyasztva besűrített vagy fagyasztva szárított formában szerelik ki. Ehhez a probiotikus mikroorganizmusnak olcsó (tej vagy savó alapú) táptalajon nagy sejtsűrűségig kell tudnia szaporodni, túrnie kell a tenyészet koncentrációját előállítását (szakaszos vagy rátáplálásos, pH szabályozott fermentáció) a begyűjtést (membrán mikroszűrés) és a fagyasztást vagy fagyasztva szárítást (fagyállóság). Emellett a tenyészet tartsa meg életképességét és orvostudomány által bizonyított tulajdonságait a végső felhasználást megelőző tárolási időtartam során. Továbbá robusztusnak kell lennie a biotermék előállítás során is. Ez lehet az alacsony pH vagy zavaró bakteriofág tűrése a fermentált élelmiszer gyártása során (pl. erjesztett tejek, joghurt, sajt), tartósítószer tűrése és a kenőmargarin gyártás során fellépő magasabb nyírás tűrése (biomargarin), valamint kompatibilisnek kell lennie az élelmiszer gyártása során alkalmazott starter kultúrákkal és más mikrobiális segédanyagokkal (pl. fermentált élelmiszerek és speciális sütőipari margarink).

A probiotikumok technológiája

A probiotikus baktériumok túlélése és az életképes sejtszám függ a törzstől és a gyártótól. A tudomány kitüntetett figyelmet fordított a probiotikus törzsek korrekt azonosítására. A probiotikus termékek iránti bizalom megtartása érdekében fontos, hogy kimutassák a baktériumok jó túlélését a fogyasztói termékekben az eltarthatósági idő során. Emellett minden tejterméknél fontos a kellemes íz és vonzó állag, függetlenül a

termék egészséges voltától. Az utóbbi tíz évben egyre jobban megértették, hogyan kell a probiotikus organizmusokkal bánni a kultúrárt tartalmazó tejtermékekben. A probiotikus tenyészetek előállítására általában véve hasonló más tejsavbaktériumok gyártásához. Egyes törzsek azonban érzékenyebbek a környezeti stresszre (pl. alacsony pH-ra vagy oxigénre). Figyelembe kell venni a probiotikus jellemzők esetleges megváltozását; a törzseknek éveken át meg kell őrizniük tulajdonságaikat. Ez szisztematikus munkával és az ismételt, szukcesszív tenyésztés elkerülésével érhető el.

Sok probiotikus törzs lassan szaporodik tejben. Ez összhangban van a korábbi közleményekkel, mely szerint a *Lactobacillus GG* nem erjeszti a laktózt és a *L. johnsonii* La1 4 aminósavat (alanin, szerin, izoleucin és cisztein), négy nukleozidot (adenozin, citidin, guanozin és uridin) valamint vasforrást (vas-szulfát) igényel ahhoz, hogy tejben jól szaporodjon. Glükóz, élesztő kivonat vagy tejfehérje frakciók hozzáadása fokozza a legtöbb törzs szaporodását, igazolva, hogy lehet olyan gyártási paramétereket találni, melyek lehetővé teszik egy probiotikus törzs önmagában való felhasználását probiotikus termékek gyártására. A probiotikus törzsek gyártásának jobb módja egy *S. thermophilus* vagy joghurt tenyészet mint segéd kultúra együttes használata. Az *S. thermophilus* tenyészet minden probiotikus törzs számára jó túlélést biztosított. Joghurt kultúrával kombinálva egyes törzsek esetében a probiotikus baktériumok száma csökkent az eltarthatósági idő során. Bizonyos probiotikus törzs és joghurt kultúra kombinációkban azonban nem csökkent a probiotikus baktériumszám. Ez azt igazolja, hogy minden probiotikus kultúra esetében fontos egy optimális segédkultúra kiválasztása mellyel a törzs jó túlélése érhető el a friss fermentált termékekben, a teljes eltarthatósági időszak során. Az e vizsgálat során kiválasztott probiotikus törzsek a segédkultúrákkal minden kombinációban kitűnő ízű terméket adtak. Általában ipari méretben nem fordul elő az YC280 joghurttenyészet enyhe viszkozitás-csökkenése, utósavasodása és szinerézise a probiotikus törzs hozzáadásának hatására.

Világos, hogy az étrend, a betegség, stressz vagy gyógyszereszedés ronthatja a gazdaszervezet közérzetét és feltételezik, hogy e tünetek némelyikét a bél mikroflóra normális egyensúlyának megzavarása okozza. A probiotikum alapú funkcionális élelmiszerek tervezésekor ismerni kell a standard mikrobiótát és funkcióját, és figyelembe kell venni annak válaszát az étrendre, a gazdaszervezet élettartamára és genetikus hátterére. A mikrobák kimutatására és azonosítására szolgáló molekuláris technikák alkalmazása áttörést jelentett a mikrobiális ökoszisztémák és funkciójuk elemzésében. Ki kell emelni, hogy ezeket a molekuláris módszereket sikerrel alkalmazták, és további lehetőségeket kínálnak a probiotikus baktériumok és a gyomor-és bélrendszer standard mikrobiótájának vizsgálatára.

A gyomor- és bélrendszer molekuláris ökológiája

A molekuláris módszerek fő előnye, hogy nincs szükség a mikroorganizmusok szaporítására a kimutatás előtt, s így a mikrobiális diverzitás és összetétel pontosabb képét adják. A tenyésztéses kultúrák hátránya fokozódik, amikor anaerob környezetet kell vizsgálni. Ez különösen igaz a gyomor-bélrendszer környezetére, ahol az előforduló mikrobák nagy része szigorúan anaerob és gyakran nem spóráképző.

A módszerek tökéletesedtek a probiotikumok kimutatására a gyomor- és bélrendszerben, ma sokkal fejlettebb technikák vannak a probiotikus baktériumok hatásmechanizmusának vizsgálatára, mint pár évvel ezelőtt. Más módszereket, pl. a tapadási teszteket kimerítően vizsgáltak és tökéletesítették az új probiotikus baktériumok szűrése és értékelése céljából. A projekt beigazolta, hogy bármely probiotikus baktérium élelmiszer-vagy gyógyszeripari felhasználásához fontos az ipari előállíthatóság kiértékelése és finom optimalizálása.

A közös riboszomális RNS (rRNS) szekvenálása ideális eszköz a mikroorganizmusok osztályozására és kimutatására, valamint evolúciós kapcsolatuk értékelésére. A 16S rRNS molekula kezelhető mérete miatt (kb. 1,5 kb) a 16S szekvenciák részletes adatbázisa készült el. Egy humán székletmintából a 16S rRNS 500 bp fragmentumainak 284 klónját szekvenálták és megállapították, hogy a klónok 95 %-a három filogenetikai (törzsfelődési) csoportba, a *Bacterioides*, *Clostridium coccooides* és *Clostridium leptum* csoportba tartozik. Ezeknek a klónoknak azonban csak 24 %-a felelt meg az adatbázisban leírt fajtáknak; hasonló eredményt kaptak 15 teljes szekvencia analízisével is. Ez arra utal, hogy a mikrobiológiai sokféleséget még nem ismerjük elég alaposan. Ha teljesebb leírás készül, jobban meg tudjuk majd ítélni a probiotikumok hatását a gyomor-bélrendszeri mikrobiális közösségekre.

Hámszöveti tapadás

A hámszöveti sejtekhez és/vagy nyálkához való tapadás elősegíti a tejsavbaktériumok és bifidobaktériumok kolonizálódását számos állati és emberi gazdaszervezet emésztőrendszerében. Általában véve, a tapadás gazdaszervezetspecifikus, csak azok a törzsek kolonizálhatnak a csíramentes állatokban, melyek az adott gazdaszervezetből származnak. A probiotikus mikroorganizmusok gazdaszervezeti hámszövethez való tapadása kétféle mechanizmussal írható le: nem specifikus (melyet az elektrosztatikus felületi töltés és hidrofób kölcsönhatás segít elő) és specifikus (ligand-receptor kölcsönhatás, melyet az exocelluláris poliszacharid, lipoteichonsav és/vagy fehérjék segítenek elő).

Kimutatták, hogy a potenciálisan probiotikus *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* fajták tapadása az emberi gyomor-bélrendszeri sejtvonalakhoz szintén törzsfüggő. Ezen kívül egyes törzsek bizonyos sejtvonalakkal szemben különböző tapadási kapacitást mutathatnak, így szövet-specifikusak.

Egyébként szerint minden embernek megvan a saját baktériumkészlete, mely egyedülálló flórát alkot, és bármely kívülről jövő baktérium nem tud könnyen megtelepedni ebben a flórában. A fogyasztott probiotikumok különbözhetnek az eredetileg jelenlevő egyéb baktériumoktól és a legtöbb esetben nem telepednek meg állandóan. A fogyasztott probiotikumok azonban bizonyos ideig szaporodhatnak a bélben, és kedvező környezetet teremthetnek az ott levő hasznos baktériumok szaporodásához. Ez azt jelenti, hogy szükséges lehet az állandó probiotikum-fogyasztás.

A probiotikus baktériumok megtapadását a kedvező élettani hatás alapfeltételének tekintik. A megtapadó törzsek „in vitro” kiválasztásához széles körben alkalmaztak emberi bél hámsejt vonalakat, pl. CaCo-2 vagy HT-29 sejteket. A bélnyálkához való tapadást kisebb mértékben tanulmányozták. Nincsenek azonban még szabványos feltételek az in vitro tapadási vizsgálatokhoz. Ennek következtében a különböző laboratóriumokban azonos törzsekkel kapott eredmények nagy szórást mutatnak. A szabványosítás hiánya nehezíti az adatok értelmezését és a hatékony tapadást illetően nézetkülönbség alakulhat ki. Dr. Goldin szerint sok közlemény számol be a bélnyálkahártyához tapadó probiotikumokról. Arról azonban nem születtek jó tanulmányok, hogyan szorítanak le más organizmusokat, bár vannak olyan humán és állatkísérletek, melyek azt mutatják, hogy a probiotikumok megváltoztathatják a bélflóra összetételét.

Tudományosan megközelítve, egy bizonyos törzs/fajta in vitro tapadásának molekuláris mechanizmusát és a gazdaszervezet-mikroba kölcsönhatás okozta változást még tovább kell vizsgálni.

Technikai szempontból, ami az ipari partnerek számára különösen érdekes, a CaCo-2 sejtek és a bélnyálka felhasználható a különböző probiotikus törzsek „in vitro” tapadásának összehasonlítására. A kísérleti körülményeknek azonban a tapadó törzs és a nem tapadó kontroll között összehasonlítható adatokat kell biztosítaniuk. Ezekből az „in vitro” modellekből kapott eredmények azonban inkább csak jelzik, hogy az adott vizsgálati körülmények között egy probiotikus törzs tapad-e, nem szolgáltatnak abszolút megbízható értéket.

Az utóbbi években a probiotikus organizmusok bélsejtekhez való tapadásvizsgálatával kapott eredmények szórása szükségessé tette a modellek validálását és újradefiniálását. Ez azután más, realisabb képet ad majd az „in vitro” tapadásról és korlátairól. A végső bizonyíték azonban,

hogy egy probiotikus törzs tapad-e az emberi bélrendszer nyálkájához, csak „in situ” elemzésből eredhet.

Lehet-e a probiotikumoknak kockázata? Az elméleti kockázatok négy csoportra oszthatók. a) fertőzések és transzlokációk, b) túlzott immunmoduláns hatás; c) nemkívánatos metabolikus hatás; d) genetikai információ átvitele a gazdaszervezetbe vagy mikroflórájába. Mostanáig azonban még egyik elméleti kockázat sem jelentkezett.

Feldolgozott szakirodalom:

- Aiba, Y., Suzuki, N., Kabir, A. M., Tatrangi, A. and Koga, Y. (1998) Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model. *Am. J. Gastroenterol.* **93**, 2097-2101
- Arvola, T, Laiho, K., Torkkeli, S., Mykkänen, H., Salminen, S., Maunula, L. and Isolauri, E. (1999) Prophylactic *Lactobacillus GC* reduces antibiotic-associated diarrhea in children with respiratory infections: a randomised study. *Pediatrics* **104**, e64
- Attwood, Rosangela A., Gibson, Glenn, R.: Aspects of probiotic use in preventative medicine
- Bernet. M-F., Brassart, D., Neescl, J. R. and Servin, A.L. (1993) *Applied and Environmental Microbiology* **59** 4121-4128
- Cacsand, R., Abdelali, H. and Narbonne, J. F. (1994) Inhibitory effect of dairy products on the mutagenicities of chemicals and dietary mutants. *J. Dairy Res.* **61**: 545-552
- Charteres, W. P. (1996) Invited paper. In First Plenary Meeting. EU AAIR Concerted Action Project No 0572. Brussels: International Life Sciences Institute Europe
- Charteris, William P., Kelly, Phillip M., Morelli, Lorenzo, Collins, J. Kevin (1998) *International Journal of Dairy Technology*, Vol **51**, No 4.
- Coconnie., M. H., Lievin, V., Henrory, E. and Servin, A. L. (1998) Antagonistic activity against *Helicobacter* infection in vitro and vivo by the human *Lactobacillus acidophilus* strain LB. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 4573-4580
- Cohavy, O., Bruckner, D., Gordon, L.K., Misr R., Wei, B., Eggena, M.E., Targan, S.R., Braun (2000) Colonic bacteria express an ulcerative colitis pANCA-related protein epitope. *Infect Immun.* **68**: 1542-1548
- Colonabel, J. F., Cortot, A., Neut. C. (1987) Yogurt with *Bifidobacterium longum* reduces erythromycin-induced gastrointestinal effects. *Lancet* **2**: 43.
- De Vuyst, L., and Vandamme, E. J. (1994) Antimicrobial potential of lactic acid bacteria. In. 'Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria' (Eds. De Vuyst. L. and Vandamme, E. J), Blackie Academic and Professional, Glasgow, pp. 91-142
- Donnet-Hughes, A., Rochart, F., Serrant, P., Aeschlimann, J. M. and Schiffrin. E. J. (1999) Modulation of nonspecific mechanisms of defence by lactic acid bacteria: effective dose. *J. Dairy Sci.* **82**, 863-869
- Dunne, C., Murphy L., Flynn, S., O'Mahon L., O'Halloran, S., Feeney, M., Morrissey, D., Thornton, G., Fitzgerald. G., Daly C., Kiely, E. Quigley, E. M., O'Sullivan, G. C., Shanahan. F. and Collins, J. K. (1999) Probiotics from myth to reality. Demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials. *Anton Van Leeuwenhoek* **76**, 279-292
- Ell M-F., Brassart, U., Neescl. J.R. and Servin, A.L. (1994) *Gut* **35** 483-489
- Fuller, R. (1989) Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* **66**: 365-378
- Fuller, R. (1991) *Gut* **32** (439-442) or 'bacteriotherapeutic agents' (McFarland, L.V. and Elmer, G. W. (1995) *International Journal of Microbiology and Therapy* **23** 46-73
- Fuller, R. (1992) History and development of probiotics. In 'Probiotics the Scientific Basis' (Ed. Fuller, R.) Chapman & Hall, London, pp. 1-7.
- Fuller, R. (1992) in *Probiotics: The Scientific Basis*, pp. 1-8. Fuller R., ed London: Chapman & Hall
- Gaboriau-Routhiau, V. and Morcau, M. C. (1996) Gut flora allows recovery of oral tolerance (to ovalbumin in mice after transient breakdown mediated by cholera toxin of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. *Pediatr. Res.* **39**, 625-629

- Gibson, Glenn R. Probiotics and Prebiotics: Gut Microflora Management for Improved Health. 2000
- Goldin, B. R. and Gorbach, S. L. (1984) Alterations of the intestinal microflora by diet, oral antibiotics and Lactobacillus: decreased production of free amines from aromatic nitro compounds, azo dyes and glucorinides *J. Nat. Cancer Institute* **73**: 689-695
- Goldin, B. R., and Gorbach, S. L. (1989) US Patent 4,839,281
- Gorbach, S. L., Barza, M., Giuliano, M. and Jacobus, N. V. (1988) Colonization resistance of the human intestinal microflora: testing the hypothesis in human volunteers. *Eur. J. Clin. Microb. Int Dis.* **7**: 98-102
- Guandalini S., Pentsabene, L., Zikri, M. A., Dias, J. A., Casali, L. G., Hoekstra, H., Kolacek, S., Massar, K., Micitic-Turk, D., Papadopoulou, A., de Sousa, J. S., Sandhu, B., Szajewska, H. and Weizman, Z. (2000) Lactobacillus GG administration in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: a multicenter European trial. *J. Pediatr. Gastroenterol Nutr.* **30**, 54-60
- Halpern, G. M., Vruwink, K. G., van de Water, J., Keen, CIL. and Gershwin, M. E. (1993) *International Journal of Immunotherapy* **7**, 205-210
- Hirtzmann, M. and Reuter, G. (1963) *Medizinische Klinik (München)* **58**, 1408-1411 (in German)
- Kabir, A. M., Aiba, Y., Takagi, A., Kamiya, S., Miwa T. and Koga, Y. (1997) Prevention of Helicobacter pylori infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model. *Gut* **41**, 49-55
- Kaila, M., Isolauri, E., Soppi, E. and Virtanen, V. (1992) Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhoea by a human Lactobacillus strain. *Pediatrics Research* **32**: 141-144.
- Kilic, A., Yavlova, S. I., Ma, W-I. and Tao, L. (1996) *Applied and Environmental Microbiology* **62** 2111-2116
- Kirjavainen, P. V., Apostolou, E., Salminen, S. J. and Isolauri, E. (1999) New aspects of probiotics a novel approach in the management of food allergy. *Allergy* **54**, 909-915
- Klaenhammer, T. R. (1982) *Journal of Dairy Science* **65**: 1339-1349
- Klont, R. and Mannion, P.: *On Probiotic Opportunity The World of Food Ingredients* (2000) 34-45
- Lerche, M. and Reuter, G. (1962) *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasiten, Infektionskrankheiten und Hygiene Abt 1* 185 446-481 (in German)
- Link-Amster, H., Rochat, F., Saudan, K. Y. Mignot, O. and Aeschlimann, J. M., (1994) *REMS Immunology and Medical Microbiology* **10**, 55-64
- Ma, Y., Oh-n, J.D., Li, Z., Bentley, L, G McElree, C., Pressman, S., Targan, S.R, Fischel Ghodsian N., Rotter, J. I. and Yang, I. L. (1999) A genome-wide search identifies potential new susceptibility loci for Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* **5**, 277-278
- Majama, H., Isolauri, E., Saxelin, M. and Vesikari, T. (1995) *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* **20**, 333-338
- Majama, H. and Isolauri, E. (1997) Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* **99**, 179-185
- Marteau P. (2000) Inflammatory bowel disease. *Endoscopy* **32**: 131-137.
- Marteau, B., de Vrese, M., Cellier, C. and Schrezenmeir, J. (2000) Protection from gastrointestinal diseases using probiotics. *Am. J. Clin. Nutr.*
- Marteau, P., Flourie, B., Pochart, P., Chastang, C., Desjeux, J. F. and Rambaud, J. C. (1990) Effect of the microbial lactase activity in yogurt on the intestinal absorption of lactose: An in vivo study in lactase-deficient humans. *Br. J. Nutr.* **64**: 71-79.
- Martenu, P., Vaerman, J. P., Bord, J. P., Brassart, D., Pochart, P., Desjeux, J. F. and Rambaud, J. C. (1997) Effects of intrajejunal perfusion and chronic ingestion of Lactobacillus johnsonii strain LA1 on serum concentrations and jejunal secretions of immunoglobulins and serum proteins in healthy humans. *Gastroenterol. Clin. Biol.* **21**: 293-298.
- Michetti, P., Dorta, G., Wiesel, P. H., Brassart, D., Verdu, E., Herranz, M., Felley, C., Porta, N., Rouvet, M., Blum, A. L. and Corthesy-Theulaz, I. (1999) Effect of whey-based culture supernatant of Lactobacillus acidophilus (johnsonii) La 1 on Helicobacter pylori infection in humans. *Digestion* **60**. 203-209
- Molin, G., Jeppson, B., Johansson, M. L., Ahrné S., Noback, S., Stachl, M. and Bengmark, S. (1993) *Journal of Applied Bacteriology* **74**, 314-323

- Morelli, L., et al (1991) EU FLAIR Shard Cost Project Na AGRF-MI-0053 Contract No 103 84
- Nighswonger, B. D., Brashears, M. M. and Gilliland, S. E. (1996) *Journal of Dairy Science* **79** 212-219
- Orholm, M., Fonager, K. and Sorensen, H.D. (1999) Risk of ulcerative colitis and Crohn's disease among offspring of patients with chronic inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroentero* **94**, 3236-3238
- Pedone, C. A., Bentabeu, A. O., Postaire, E. R., Bouley, C. F. and Reinert, P. (1999) The effect of supplementation with milk fermented by *Lactobacillus casei* (strain DN-114001) on acute diarrhea in children attending day care centres. *Int. J. Clin Pract.* **53**: 179-184
- Pelto, L., Isolauri, E., Lilius, E. M., Nuutila, J. and Salminen, S. (1998) Probiotic bacteria down regulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitivity subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects. *Clin. Exp. Allergy* **28**, 1474-1479
- Perdigon, G., Vintini, E., Alvarez, S., Medina, M., and Medici, M. (1999) Study of the possible mechanisms involved in the mucosal immune system activation by lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* **82**, 1108-1114
- Pohl, C., Hombach, A. and Kruis, W. (2000) Chronic inflammatory bowel disease and cancer. *Hepatogastroenterol.* **47**, 57-70
- Saavedra, J. M., Baumau, N. A., Oung, I., Permau, J. A. and Yolken R. H. (1994) Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhea and shedding of rotavirus. *Lancet* **344**, 1046-1049
- Sanders, M. E. (1993) Summary of the conclusions from a consensus panel of experts on health attributes on lactic cultures: significance to fluid milk products containing cultures. *J. Dairy Sci.* **76**: 1819-1928.
- Savage, D. C. (1977): Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Ann. Rev. Microbiology.* **31**: 107
- Saxelin, M., Rautelin H., Salminen, S. and Makela, P. (1996) The safety of commercial products with viable *Lactobacillus* strains. *Infect, Dis. Clinical Practice* **5**: 331-335
- Schiffirin, E. J., Brassart, D., Servin, A. L., Rochat, F., and Donnet-Hughes, A. (1997) Immune modulation of blood leukocytes in humans by lactic acid bacteria. criteria for strain selection. *Am. J. Clin. Nutr.* **66**, 515S-520S
- Schiffirin, E. J., Rochat, F., Link-Amster, H., Aeschlimann, J. M. and Donnet-Hughes, A. (1995) Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* **78**, 491-497
- Schultz, M. and Sartor, R. B. (2001) Probiotic and inflammatory bowel diseases. *Am Gastroenterol* **95**, S19-S21
- Shah, N. P., Lankaputhra, W. E. V, Britz, M. L., and Kyle, W. S. A., (1995) *International Dairy Journal* **5**: 515-521
- Shornikova, A.V., Casas, I. A., Mykkanen, H., Salo, E, and Vesikari, T. (1997) Bacteriotherapy with *Lactobacillus reuteri* in rotavirus gastroenteritis. *Pediatr. Infect Dis. J.* **16**, 1103-1107
- Solis Peryra, B. and Lemmoier. D. (1993) *Nutrition Research* **13**, 1127
- Solis-Pereira and Lemonnier, D. (1996) Induction of human cytokines by bacteria used in dairy foods. *Nutr. Re,* **13**: 1127-1140.
- Spanhaak, S., Havenaar, R. and Schaafsma, G. (1998) The effect of consumption of milk fermented by *Lactobacillus casei* strain Shirota on intestinal microflora and immune parameters in humans. *European J. Clin, Nutr.* **52**: 899-907
- Sudo, N., Sawamura, S., Tanaka, K., Aihya, Y., Kubo, C. and Koga, Y. (1997) The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *J. Immunol.* **159**, 1739-1745
- Vaughan, E. E., Heilig. H. G. H. J., Zoetendal E. G., Satokari, R., Collins, J. K., Akkermans, A. D. L. and de Vos, W. M. (2000) Molecular approaches to study probiotic bacteria. *Trends Food Sci Technol.*
- Vaughan, E. E., Schut, F., Heilig G. H. J., Zoetendal, E. G., de Vos, W. M. and Akkermans, A. D. L. (2000) A molecular view of the intestinal ecosystem. *Current Issues in Intestinal Microbiol.* **1**, 1-12
- Williams, M. P and Pounder, R. E. (1999) *Helicobacter pylori*: from the benign to the malignant. *Am J. Gastroenterol.* **94**: S11-S16