Terapijska primjena i sigurnost probiotika

Vitali Čepo, Dubravka; Filipović, Ivana

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2014, 70, 651 - 668**

Journal article, Published version
Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:874289

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

Terapijska primjena i sigurnost probiotika

DUBRAVKA VITALI ČEPO, IVANA FILIPOVIĆ

Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Ante Kovačića 1, 10000 Zagreb

UVOD

Dodaci prehrani

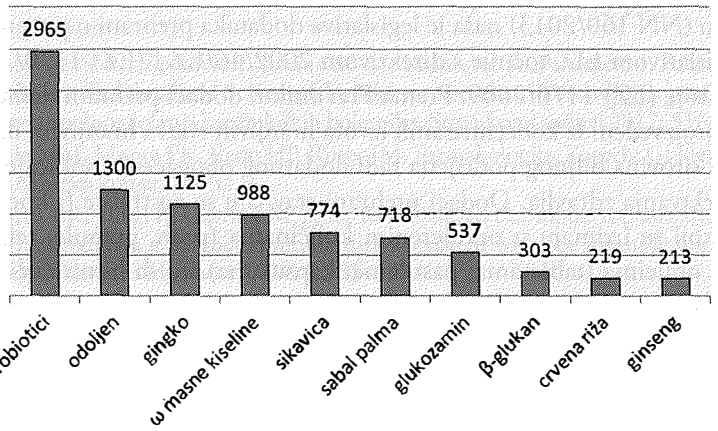
Dodaci prehrani se koriste zbog povoljnog učinka na zdravlje potrošača, povećavajući opću otpornost organizma na stresne vanjske utjecaje i pomažući u održavanju pravilnih fizioloških funkcija organizma. Važeći pravilnici kojima se regulira zakonski status dodataka prehrani proizlaze iz Zakona o hrani (NN 46/07), a zakonska regulativa dodataka prehrani pod nadležnošću je Ministarstva zdravlja. Donošenjem Pravilnika o dodacima prehrani (NN 46/2011), Pravilnika o izmjenama i dopunama pravilnika o dodacima prehrani (NN 46/2013) i Pravilnika o tvarima koje se mogu dodavati hrani i koristiti u proizvodnji hrane te tvarima čije je korištenje u hrani zabranjeno ili ograničeno (NN 160/2013) naša je legislativa dodataka prehrani u potpunosti usklađena s legislativom EU, točnije s direktivom 2002/46/EZ i (EZ) 1170/2009 i uredbom Komisije (EZ) 1170/2009. Prema Pravilniku, dodaci prehrani definiraju se kao pripravci proizvedeni iz koncentriranih izvora hranjivih tvari s hranjivim ili fiziološkim učinkom i sirovina biljnog podrijetla radi dodatnog obogaćenja uobičajene prehrane u cilju održavanja zdravlja. Dodaci prehrani stavljaju se na tržište (i konzumiraju) u oblicima koji se uzimaju u odmjerenim količinama (prah, granule, tekućine) ili u doziranim oblicima (tabletama, pastilama, kapsulama) što ih bitno razlikuje od bilo koje druge kategorije hrane. Prema našem Registru, dodaci prehrani kategoriziraju se s obzirom na namjenu u šesnaest kategorija pripravaka. Obzirom na sastav obično se svrstavaju u sedam kategorija: vitamini i minerali, neesencijalni minerali i druge tvari s fiziološkim učinkom (bor, inozitol, kolin), prirodna ulja, prirodne tvari s biljnim aktivnim tvarima koje imaju prepoznatu farmakološku aktivnost, ali čiji sastav i učinci nisu u potpunosti definirani (echinacea, češnjak itd.), prirodne tvari čiji sastav i učinci nisu definirani ali im se pripisuju pozitivni učinci na zdravlje (spirulina, klorela i sl.), enzimi s priznatim metaboličkim funkcijama, ali upitne djelotvornosti ako se uzimaju *per os* (superoksid dismutaza i sl.), aminokiseline i derivati (N-acetilcistein, S-adenozil metionin i sl.) (1).

Pojava sve većeg broja dodataka prehrani na tržištu posljedica je značajnog porasta njihove popularnosti u svim dobnim skupinama. Razlozi zbog kojih pojedinci uzimaju dodatke prehrani kompleksni su i ovise o kombinaciji socijalnih, psiholoških i

ekonomskih čimbenika, nedostatka vremena za pravilnu prehranu i usklađene obroke, te želje da se poboljša opće zdravstveno stanje i kondicija te odgodi pojava simptoma starenja ili bolesti. Općenito, postoje dva osnovna načela korištenja dodataka prehrani:

- liječenje ili prevencija nutritivnih deficita (uglavnom vitamina i minerala) – gdje je djelotvornost i korist suplementacije nedvojbeno dokazana
- smanjenje rizika od pojave bolesti (koje nisu vezane uz nutritivne deficite) i promocija optimalnog zdravlja – pri čemu stvarna djelotvornost suplementacije u velikom broju slučajeva uopće nije dokazana ili se dokazi temelje na rezultatima malobrojnih kliničkih studija, često upitne kvalitete. Upravo je u takvim slučajevima od presudne važnosti znanje i kontinuirana edukacija farmaceuta koja će omogućiti da se pacijentu da točna i provjerena informacija o pojedinom dodatku prehrani.

Prema spoznajama autora, u Hrvatskoj do danas nije provedena veća studija kojom bi se procijenila popularnost dodataka prehrani s obzirom na udio populacije koja ih uzima te s obzirom na vrstu pripravka. Manja studija, provedena 2012., temelji se na podacima o prodaji dobivenim iz 10 ljekarničkih jedinica u vremenskom razdoblju od 1.5.2012. do 31.10.2012. (2). Prema rezultatima toga istraživanja, uz iznimku vitaminsko-mineralnih preparata kao najprodavanijih, najpopularniji dodaci prehrani u RH 2012. godine bili su probiotici (slika 1.).



Slika 1. Podaci o prodaji dodataka prehrani dobivenih iz 10 ljekarničkih jedinica u Republici Hrvatskoj u vremenskom razdoblju od 1.5.2012. do 31.10.2012 (bez vitaminsko-mineralnih dodataka prehrani) (2).

S obzirom na navedenu činjenicu, upravo su probiotici odabrani kao glavna tema ovog preglednog rada čiji je osnovni cilj dati kratki pregled najnovijih spoznaja o njihovoj kvaliteti, sigurnosti primjene i učinkovitosti u različitim indikacijama.

Da bi se stekao potpuni uvid u terapijski potencijal probiotika važno je shvatiti esencijalan doprinos prirodne crijevne mikroflore brojnim fiziološkim funkcijama kao i važnu ulogu u patofiziološkim stanjima kao što su autoimune i kronične upalne bolesti.

U zdravom se ljudskom crijevu nalazi tisuće različitih vrsta, odnosno preko 10^{14} mikroorganizama s kojima koegzistiramo u dinamičkom simbiotskom odnosu. Održavanje ravnoteže toga odnosa presudna je odrednica zdravlja i bolesti. Naime, crijevni mikroorganizmi imaju ključnu ulogu u održavanju zdravlja jer djeluju kao barijera i štite od invazije patogena te imaju važne metaboličke fiinkcije (tablica 1.).

Tablica 1. Osnovne funkcije crijevne mikroflore

Metaboličke funkcije	Strukturalne i histološke funkcije	Protektivne funkcije
Proizvodnja vitamina	Razvoj imunološkog sustava	Aktivacija urođenog i adaptivnog imuniteta
Biotransformacija žučnih soli	Regulacija rasta i diferencijacije crijevnog epitela	Otpor kolonizaciji patogena
Biosinteza aminokiselina	Razvoj crijevnih resica i kripti	
Fermentacija neprobavljivih sastavnica i mukusa	Makrovaskularizacija crijevnih resica	
Produkcija kratkolančanih masnih kiselina (izvor energije, apsorpcija soli i vode)	Razvoj imunološkog sustava	
	Ojačavanje mukozne barijere	

Crijevni epitel, na površini između crijevne mikroflore i limfatičnog tkiva, ima najvažniju ulogu u formiranju mukoznog imunog odgovora. Sposobnost imunološkog sustava da se adaptira na prirodnu crijevnu mikrofloru u ranom postnatalnom periodu od iznimne je važnosti jer omogućuje kasniju homeostazu i obostrano korisnu koegzistenciju domaćina i crijevne mikroflore te omogućuje produkciju usmjerenog i kontroliranog imunološkog odgovora na strane i benigne antigene prisutne u crijevnoj biomasi. Poremećaj regulacije imunog odgovora najvažniji je imunopatološki mehanizam u razvoju upalnih bolesti crijeva. Na temelju dugogodišnjih istraživanja danas se pretpostavlja da je razvoj spomenutih bolesti posljedica nereguliranog imunog odgovora na prirodne komponente crijevne mikroflore kod osjetljivih pojedinaca (3).

Pri porodu, prolaskom novorođenčeta kroz porođajni kanal, u do tada sterilnom lumenu crijeva počinje se razvijati bogat i dinamičan ekosustav te se prve bakterije pojavljuju u fecesu već nakon nekoliko sati. U početku crijevo koloniziraju fakultativni anaerobi (enterokoki, streptokoki, stafilokoki) te se postupno, zbog pojačanog udisanja O_2 stvaraju uvjeti za kolonizaciju striktnim anaerobima, uglavnom rodovima *Bacteroides, Bifidobacterium* i *Clostridium.* U prvim mjesecima života brojni vanjski čimbenici, kao što su način poroda, način prehrane, čimbenici okoliša ili izloženost antibioticima, mogu bitno utjecati na sastav crijevne mikroflore. Vaginalno rođena djeca razvijaju mikrofloru sličnu vaginalnoj mikroflori majki; dojena djeca razvijaju uniformniju i stabilniju crijevnu mikrofloru s većom prevalencijom bifidobakterija u odnosu na djecu hranjenu dojenačkim mliječnim pripravcima. Nadalje,

okoliš u trenutku poroda, higijenske mjere i izloženost antibioticima bitno utječu na sastav crijevne mikroflore kod novorođenčadi (4).

Brojna istraživanja u zadnjih 20-tak godina upućuju na činjenicu da značajne promjene u sastavu crijevne mikroflore, odnosno pojava crijevne disbioze, vjerojatno pridonose nastanku i razvoju upalnih (upalne bolesti crijeva), alergijskih i metaboličkih oboljenja (dijabetes, pretilost). Primjerice, smanjen broj bifidobakterija i povećan broj *S. aureus i E. coli* karakterističan je za crijevnu mikrofloru osoba s alergijama. Slične poveznice, između pojave dijabetesa tip I i sastava crijevne mikroflore dokazane su animalnim studijama. Zbog ovakvih spoznaja o povezanosti crijevne mikroflore i zdravlja u posljednjih 20-tak godina značajno raste interes za istraživanjem mogućnosti pozitivnog djelovanja na crijevnu mikrofloru i to primjenom živih bakterija (probiotika) ili neprobavljivih supstrata (prebiotika) s ciljem prevencije ili liječenja nekih bolesti.

PROBIOTICI

Prema najnovijoj definiciji FAO/WHO (engl. *Food and Agriculture organization of the United Nations/World Health Organization)* ekspertne skupine, probiotici se definiraju kao živi mikroorganizmi koji primijenjeni u adekvatnoj dozi pokazuju pozitivne učinke na zdravlje (5). Da bismo određen soj mikroorganizma mogli svrstati u probiotik, on mora zadovoljavati nekoliko bitnih kriterija: mora preživjeti fiziološke uvjete probavnog sustava i doći do mjesta djelovanja u crijevu (dakle, mora biti otporan na djelovanje kiseline u želucu te djelovanje probavnih enzima i žučnih soli); mora ostati stabilan tijekom procesa proizvodnje te u matriksu dodatka prehrani/funkcionalne namirnice tijekom roka trajanja proizvoda; moraju postojati dokazi o njegovim pozitivnim učincima na zdravlje te ne smije biti patogen. Najčešći izvori za izolaciju probiotika su fermentirani mliječni proizvodi (izvori bakterija mliječnog vrenja kao što su rodovi *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*), probavni sustav čovjeka (neki probiotički sojevi izolirani su iz stolice zdrave djece), probavni sustav životinja (pčele, ribe, pojedine vrste rakova) i fermentirana hrana (meso, voće, masline). Popis najčešće korištenih probiotika prikazan je u tablici 2.

Probiotike nalazimo na tržištu kao sastavnice različitih funkcionalnih namirnica (većinom fermentiranih mliječnih proizvoda) ili kao dodatke prehrani. U idealnom slučaju, dodatak prehrani s probioticima za oralnu upotrebu trebao bi sadržavati bakterije/plijesni koje mogu preživjeti prolaz kroz kiseli medij želuca ili bi farmaceutski oblik trebao biti takav da tijekom prolaska kroz želudac pruža viabilnim organizmima u preparatu adekvatnu zaštitu, a u lumenu crijeva pokazuje adekvatnu raspadljivost. S obzirom da su pojedini terapeutski učinci kao i njihov intenzitet u većini slučajeva ovisni o soju, preparati bi trebali sadržavati one probiotike za koje je većim brojem istraživanja dokazana učinkovitost. Stvarni sastav preparata treba odgovarati deklariranom sastavu, radi sigurnosti primjene, a proizvođač treba garantirati odsustvo potencijalno patogenih mikroorganizama u proizvodu. Vrlo važan aspekt kvalitete probiotičkih

Tablica 2. Primjeri najčešće korištenih probiotika

Laktobacili	Gram-pozitivni koki	Bifidobakterije	Plijesni
L. acidophilus	*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*	*B. bifidum*	*Saccharomyces boulardi*
L. casei	*Streptococcus salivarus* subsp. *Thermophilus*	*B. adolescentis*	*Saccharomyces cerevisiae*
L. delbrueckii subsp. *bulgaricus*	*Enterococcus faecium*	*B. animalis*	
L. reuteri	*Streptococcus diacetylactis*	*B. infantis*	
L. brevis	*Sterptococcus intermedius*	*B. longum*	
L. cellobiosus		*B. thermophilum*	
L. curvatus			
L. fermentum			
L. plantarum			
L. gasseri			
L. rhamnosus			

dodataka prehrani je i broj viabilnih mikroorganizama u preparatu. Za većinu indikacija preporučene doze se, ovisno o vrsti i soju probiotika, kreću od $1–20\times10^9$ živih organizama dnevno. Osobitu pažnju treba obratiti na adekvatno skladištenje preparata – većina preparata sadrži liofilizirane kulture probiotika koje se mogu skladištiti na sobnoj temperaturi, zaštićene od svjetla i vlage. Rok trajanja nekih preparata može se bitno produljiti ako se preparat skladišti na + 4 °C što mora biti navedeno na deklaraciji.

Kao što je prethodno spomenuto, probiotici pokazuju brojne pozitivne učinke na zdravlje čovjeka, a do danas poznati mehnaizmi kojima ostvaruju dio učinaka mogu se svesti na tri osnovna načela:

- modulacija prirodne crijevne mikroflore
- ojačavanje barijerne funkcije crijevne mukoze
- imunomodulacija

Prvi prepoznati mehanizam djelovanja probiotika je njihova sposobnost da u probavnom traktu, na različite načine, inhibiraju rast patogenih bakterija; bilo kompeticijom za nutrijente, kompeticijom za vezna mjesta, inhibicijom adhezije ili svojim baktericidnim djelovanjem (produkcija kratkolančanaih masnih kiselina čime se stvara nepovoljno pH okruženje za rast patogena, produkcija baktericidinih surfaktanata itd). Ojačavanje barijerne funkcije crijevne mukoze ostvaruje se produkcijom bakterijskih proteina koji dodatno učvršćuju međustanične čvrste spojeve crijevnog epitela, djelovanjem na specifične signalne puteve, što dovodi do zadebljanja protektivnog sloja mukusa ili do pojačane produkcije bakteriocidnih defenzina u Panethovim stanicama. Imunomodulacijsko djelovanje probiotika ostvaruje se na razini crijevnog limfoidnog tkiva GALT (engl. *Gut-Associated Lymphoid Tissue*) u kojem je sadržano

preko 70 % od ukupnog broja imunih stanica u organizmu. Neki probiotici vezuju se za specifične receptore PRR (engl. *Pattern Recognition Receptor*) na površini epitelnih stanica crijeva, dendritičnih stanica i makrofaga i aktiviraju imuni odgovor; točnije dovode do aktivacije stanica imunološkog sustava na razini lamine proprie što u konačnici dovodi do produkcije pro- ili antiinflamatornih citokina. Učinci različitih probiotika razlikuju se s obzirom na vrstu citokina te mogu biti lokalni (npr. produkcija IgA) ili sustavni. Uz navedene učinke, probiotički sojevi mogu proizvoditi enzime (npr. β-galaktozidaza) koji imaju povoljan učinak na probavne funkcije pacijenta (6).

Sigurnost primjene probiotika

Spoznaje o sigurnosti primjene određenih rodova probiotika, temelje se na njihovoj dugogodišnjoj primjeni, najviše u obliku fermentiranih mliječnih proizvoda, ali i na novijim opsežnim opservacijskim studijama (7). Stoga, laktobacile, bifidobakterije, laktokoke i plijesni FDA klasificira kao GRAS (engl. *Generally Recognized As Safe*).

Usprkos tome, postoje izvješća o malobrojnim slučajevima gdje je primjena ovih probiotika uzrokovala pojavu infekcija; svi takvi slučajevi dogodili su se kod teško imunokompromitiranih pacijenata. No, važno je napomenuti da se neki probiotički rodovi, primarno određene vrste enterokoka i enterobakterija, ne ubrajaju u GRAS kategoriju te se stoga uz njihovu primjenu vežu različiti teoretski rizici. Tri su osnovna mehanizma kojima bi probiotici mogli ispoljavati nepovoljne učinke na zdravlje:

- mogućnost translokacije iz područja gastroitestinalnog lumena što dovodi do infekcije
- proizvodnja toksičnih metabolita
- transfer gena koji kodiraju rezistenciju na antibiotike

Translokacija nekih probiotičkih sojeva iz gastrointestinalnog lumena može dovesti do pojave bakterijemije, endokarditisa ili apscesa. Ovakve infekcije događale su se vrlo rijetko kod karakterističnih grupa pacijenata; najčešće pacijenata sa sindromom kratkog crijeva, pacijenata s centralnim venskim kateterom ili teško imunokompromitiranih pacijenata.

Jedan od mogućih rizika vezanih uz primjenu probiotika je produkcija toksičnih metabolita. Primjerice suplementacija laktobacilima kod djece sa sindromom kratkog crijeva može dovesti do pojave acidoze, obzirom da je mikroflora kod takvih pacijenata neuobičajeno bogata laktobacilima te se uz suplementaciju probiotikom stvaraju velike dodatne količine mliječne kiseline. Posljedice acidoze su hiperventilacija i encefalopatija. Bitno je napomenuti da ovakvi učinci nisu zamijećeni kod zdrave djece.

Vrlo važan aspekt sigurnosti primjene probiotika odnosi se na njihovu sposobnost da budu vektori u transferu gena koji kodiraju rezistenciju na antibiotike. Naime, probavni trakt bakterija je važan rezervoar gena otpornosti što može biti posljedica direktnog kontakta s antibiotikom ili interakcije s drugim vektorima u hrani. Novijim *in vitro* i animalnim studijama dokazano je da probiotici u crijevnoj mikroflori mogu djelovati kao vektori prijenosa gena antibiotske rezistencije u oba smjera, kao

donori i kao akceptori. Eksperimentalni podaci upućuju na vrlo nisku frekvenciju prijenosa s probiotika na crijevnu mikrofloru ali teorijska mogućnost postoji. Upravo zbog toga, najnovije su preporuke da se u kliničkoj praksi koriste oni probiotički sojevi za koje je dokazano da nisu nositelji gena rezistencije. Time se bitno otežava mogućnost korištenja onih probiotičkih sojeva koji su prirodno nositelji čimbenika virulencije i/ili rezistencije na antibiotike, a već imaju primjenu u kliničkoj praksi – enterokoka ili *E. coli*.

Terapijska primjena probiotika

Moguće indikacije za terapiju probioticima:

- prevencija i liječenje dijareje (akutna, putnička, inducirana antibioticima, posljedica laktoza intolerancije)
- liječenje upalnih bolesti crijeva (sindrom iritabilnog crijeva, ulcerozni kolitis i Chronova bolest)
- doprinos eradikaciji *Helicobacter pylori* i ublažavanje simptoma terapije
- prevencija i ublažavanje simptoma alergijskih stanja
- pojačavanje imuniteta
- prevencija i liječenje vaginalnih infekcija

Probiotici i alergije

Razlozi povećane učestalosti alergija u posljednjih dva desetljeća nisu u potpunosti razjašnjeni. Prema nekim autorima (teorija higijene), razvoju alergija bitno pridonosi činjenica da su djeca, u razdoblju dojenaštva i ranog djetinjstva, u smanjenom kontaktu s mikrobnim agensima što dovodi do usporenog sazrijevanja imunološkog sustava, odgođenom stvaranju ravnoteže Th1 i Th2 vezane imunosti kao i do promjene sastava crijevne mikroflore što rezultira pojačanim stvaranjem Th2 citokina i sprječava/usporava pomak prema aktivaciji Th1 odgovora (6).

Upravo se stoga razmatra ideja da bi upotreba probiotika u perinatalnom periodu i ranom djetinjstvu, zahvaljujući njihovoj imunomodulatornoj aktivnosti kao i utjecaju na sastav crijevne mikroflore, mogla pridonijeti smanjenoj incidenciji ili ublažavanju simptoma pojedinih alergijskih bolesti.

Do danas je provedeno nekoliko velikih randomiziranih placebo-kontroliranih kliničkih studija koje su se bavile istraživanjem učinkovitosti suplementacije majki i novorođenčadi probiotičkim sojevima radi primarne prevencije atopijskog ekcema kod djece. Naime, ekcemi, a osobito atopijski dermatitis karakterizira povišeni IgE i Th2 odgovor, a nekoliko studija na animalnim modelima ali i na ljudima pokazalo je da suplementacija nekim probioticima suprimira produkciju IgE i potencira Th1/Th2 imunitet, te bi stoga mogla biti učinkovita u prevenciji i liječenju atopijskog dermatitisa. Prevencija atopije u ranijoj dobi smanjuje rizik od pojave respiratornih alergija kod starije djece.

Dvostruko slijepa, randomizirana studija Marschana i suradnika (8) provedena na 1223 trudnice pokazala je da suplementacija trudnica probiotikom (Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 53103) 5×10^9 CFU, L. rhamnosus LC705 5×10^9 CFU, Bifidobacterium breve Bb99 2×10^8 CFU i Propionibacterium freudenreichii ssp. Shermanii JS 2×10^9 CFU u kapsuli) jedan mjesec prije poroda i još šest mjeseci nakon poroda smanjuje pojavnost ekcema u novorođenčadi s genetskom predispozicijom za alergije i to na način da probiotici kod novorođenčadi induciraju blagu upalu koja štiti od pojave ekcema. U dvostruko slijepoj randomiziranoj placebo-kontroliranoj studiji Wickensa i suradnika (9) koja je obuhvatila 512 trudnica, dokazano je da suplementacija majke s *L. rhamnosus* HN001 od 35. tjedna trudnoće do 6. mjeseca života dojenčeta te dojenčadi od 6. mjeseca do druge godine života smanjuje incidenciju ekcema, ali ne i atopije. Suplementacija s *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* soj HN019 nije pokazala nikakav značajan učinak. Učinkovitom u smanjenju incidencije atopijskog dermatitisa kod djece se pokazala suplementacija s *L. reuteri* ATCC 55730 (1×10^8 CFU) od 36. tjedna trudnoće do prve godine života dojenčeta (10) kao i suplementacija majki 2–4 tjedna prije poroda te djece do 6. mjeseca života kombinacijom sojeva (*Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103), *L. rhamnosus* LC705 (DSM 7061), *Bifidobacterium breve* Bb99 (DSM 13692) i *Propionibacterium freudenreichii ssp. shermanii* JS (DSM 7076)) zajedno s prebiotičkim galakto-oligosaharidima. Rezultati posljednje studije provedene na 1223 trudnice/dojenčeta s predispozicijom za alergijsku bolest pokazali su značajno smanjenu incidenciju ekcema, a posebno atopijskog ekcema. Utvrđena je negativna korelacija između stupnja kolonizacije crijeva probiotikom i incidencije ekcema što upućuje da modulacija sastava crijevne mikroflore dojenčeta je mehanizam kojim se može utjecati na smanjenje incidencije ekcema kod dojenčadi s genetskom predispozicijom (11).

Korištenje probiotika kao adjuvantne terapije u ublažavanju simptoma atopijskog dermatitisa kod djece također je predmet brojnih kliničkih studija. U tom su smislu najviše istraživani probiotički sojevi rodova *Lactobacillus* i *Bifidobacterium.* Tako su se u nekim recentnijim studijama učinkovitima pokazali *Lactobacillus* GG; *Bifidobacterium* Bb-12; kombinacija *L. rhamnosus* 19070-2 i *L.reuteri* DSM 122460; kombinacija *L. rhamnosus* i *B. lactis*; kombinacija *B.bifidum*, *B. lactis* i *L. acidophilus*; te *L. fermentum* VRI-033PCC (1). Rezultati meta analize učinkovitosti probiotičke suplementacije u terapiji atopijskog dermatitisa upućuju na vjerojatnost da suplementacija probiotika može u nekim slučajevima ublažiti simptome atopijskog dermatitisa, osobito u teškim i srednje teškim slučajevima, ali da su rezultati do sada provedenih kliničkih studija nekonzistentni te se naglašava da trenutno postoje jači dokazi o ulozi probiotika u primarnoj prevenciji nego u terapiji atopijskog dermatitisa (12). Prema drugim autorima, rezultati do danas provedenih kliničkih studija ne mogu dokazati učinkovitost suplementacije probioticima u terapiji atopijskog dermatitisa (13). Upravo stoga, postoji potreba za dodatnim istraživanjima još uvijek nedovoljno poznatih mehanizama djelovanja probiotika, mogućih interakcija, soj-

ovisne djelotvornosti te režima doziranja da bi se stekao bolji uvid i u eventualne rizike korištenja u ranoj dojenačkoj dobi, a osobito kod nedonoščadi ili imunokompromitirane djece (14).

Učinkovitost probiotika u prevenciji i terapiji atopije kod dojenčadi i djece najviše je istraživana dok je malo kliničkih studija koje su se bavile proučavanjem učinkovitosti u ublažavanju nekih drugih alergijskih stanja. Prema rezultatima meta-analize iz 2010. kojom je obuhvaćen veći broj do tada provedenih randomiziranih kliničkih studija, terapija probioticima mogla bi biti korisna za ublažavanje simptoma alergijskog rinitisa kod odraslih i školske djece, ali dokazi još uvijek nisu dostatni da bi se preporučila njihova upotreba u kliničkoj praksi za tu indikaciju (15).

Probiotici i dijareja

Probiotici se već duži niz godina preporučuju kao adjuvantna terapija za ublažavanje intenziteta i trajanja dijareje, kod odraslih i kod djece. Terapijski učinak probiotici ostvaruju različitim mehanizmima – smanjenjem gastrointestinalnog pH, stimulacijom rasta bakterija mliječnog vrenja, direktnim antagonističkim učinkom protiv patogenih bakterija, kompeticijom s patogenima za vezna i receptorska mjesta, imunomodulatornom aktivnošću i kompeticijom za limitirajuće nutrijente (16).

Do sada je najviše dokaza o učinkovitosti probiotičke terapije kod dijareje uzrokovane rotavirusom; u tom su smislu najviše istraživani različiti sojevi rodova *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* i *Enterococcus*. Učinkovitost je dokazana brojnim kliničkim studijama te potvrđena u nekoliko velikih meta-analiza. Sadašnje je stajalište da je upotreba probiotika kao dopune rehidracijskoj terapiji kod akutne infektivne dijareje sigurna i učinkovita te da značajno skraćuje trajnje simptoma i smanjuje broj stolica (17). Učinkovitost je osobito izražena kod djece, a daljnja istraživanja su potrebna da bi se utvrdili najučinkovitiji režimi doziranja za ciljane grupe pacijenata.

Vrlo je česta pojava i dijareja uzrokovana rastom patogenih bakterija (npr. *Clostridium difficile*) koja se može javiti kao nuspojava antibiotske terapije. Nakon preliminarnih *in vitro* istraživanja koja su pokazala da neki probiotici mogu zaustaviti rast patogenih bakterija, proveden je niz kliničkih studija koje istražuju učinkovitost pojedinih prebiotičkih sojeva u prevenciji ili ublažavanju gastrointestinalnih simptoma uzrokovanih antibiotskom terapijom. Iako dokazi o učinkovitosti nisu toliko čvrsti, kao u slučaju virusom uzrokovanih crijevnih infekcija, rezultati nekoliko meta-analiza upućuju da lactobacili i *Saccharomyces boulardii* imaju, u tom smislu, najjači terapeutski potencijal. U meta analizi 6 kliničkih studija, pokazano je da *Saccharomyces boulardii* bitno smanjuje rizik od pojave simptoma uzrokovanih *C. difficile*, ali da je to bio i jedini učinkoviti, od ispitivanih probiotika (18). Johnston i suradnici (19) na temelju 16 većih kliničkih studija zaključuju da je primjena probiotika (*Bacillus spp, Bifidobacterium spp, Lactobacillus spp, Lactococcus, Leuconostoc cremonis, Saccharomyces spp, i Streptococcus spp*; pojedinačno ili u kombinacijama) u prevenciji antibioticima uzrokovane dijareje u pedijatrijskoj praksi opravdana pri čemu naglašavaju važnost

doze (visoke doze >5 milijuna CFU (engl. *Colony Forming Units*)/dne su mnogo učinkovitije od niskih doza <5 milijuna CFU/dne) i soja korištenog probiotika te smatraju da su potrebna daljnja istraživanja u tom pravcu. Najnovija meta analiza 23 randomizirane kliničke studije potvrdila je da su probiotici sigurni i učinkoviti u prevenciji dijareje uzrokovane *C. difficile* (20).

Dijareja i neugodini gastrointestinalni simptomi česta su pojava kod laktoza-intolerancije, gdje zbog niskih koncentracija intestinalne laktaze, laktoza djeluje kao osmotski aktivan neprobavljiv šećer i uzrokuje gastrointestinalne smetnje. Neki mikroorganizmi, kao što su laktobacili, imaju sposobnost produkcije mikrobne laktaze, pa se javila ideja da bi probiotici na taj način mogli ublažiti simptome laktoza-intolerancije. Levri i suradnici (21) na temelju 90-tak provedenih kliničkih studija zaključuju da općenito, suplementacija probioticima ne poboljšava značajno simptome laktoza--intolerancije, ali da postoje indicije da bi pojedini sojevi ili kombinacije sojeva u točno određenim režimima doziranja mogli biti učinkoviti. Neke novije studije upućuju da terapija određenim vrstama probiotika (*Lactobacillus reuteri, Bifidobacterium longum i Bifidobacterium animalis*) rezultira umjerenim ublažavanjem gastrointestinalnih simptoma, bilo da se uzimaju u obliku kapsula ili jogurta, ali da su učinci daleko slabiji u usporedbi s terapijom laktazom (22,23).

Probiotici i upalne bolesti crijeva

U poslijednjih petanestak godina intenzivno se istražuje učinkovitost terapije probioticima kod upalnih bolesti crijeva, obzirom na sposobnost probiotičkih sojeva da razgrađuju enteričke antigene, normaliziraju crijevnu mikrofloru, pojačavaju barijerni učinak crijevne mukoze i smanjuju sekreciju proupalnih modulatora imunog odogovra (NF-κB, TNF, IL-1 itd). Na temelju do danas provedenih istraživanja, smatra se da terapija probioticima ima velik potencijal za ublažavanje simptoma i sprječavanje remisije ulceroznog kolitisa. S druge strane, rezultati studija koje su istraživale terapijske učinke suplementacije probioticima kod Crohnove bolesti, nisu obećavajući.

U slučaju ulceroznog kolitisa značajno poboljšanje simptoma i produljenje remisije bolesti, ekvivalentno učincima konvencionalne terapije postignuto je suplementacijom s *E.coli Nissle 1917* (24, 25) i terapijom s *L. rhamnosus GG* (26), a učinkovitima su se pokazale i kombinacije različitih sojeva bifidobakterija (27, 28). Različiti probiotici kao što su bifidobakterije, laktobacili, VSL#3 (kombinacija 7 sojeva laktobacila i bifidobakterija i *S. boulardii*) primjenjeni u kombinaciji s konvencionalnom terapijom također značajno ublažavaju upalu, sprječavaju aktivaciju bolesti i produljuju remisiju (1).

Kao što je prethodno napomenuto, kliničke studije o učinkovitosti probiotika u terapiji Crohnove bolesti do danas nisu dale ohrabrujuće rezultate. Vrlo mali broj studija provedenih do danas dao je pozitivne rezultate; jedna od njih je preliminarna studija Guslandia i suradnika (29) koja je utvrdila učinkovitost *S. boulardii* u smanjenju stopa remisije bolesti kada se primjenjuje u kombinaciji s mesalazinom. Meta-

analizom sedam randomiziranih placebo-kontroliranih studija utvrđeno je da se suplementacijom probioticima ne ostvaruju značajni učinci kod pacijenata s Crohnovom bolešću (30). Meta analizom iz 2009. (31) obuhvaćene su kliničke studije u kojima je testirana učinkovitost laktobacila te je utvrđeno da su, općenito, probiotici roda Lactobacillus neučinkoviti u tretmanu Crohnove bolesti te da terapija određenim sojevima može dodatno pogoršati simptome bolesti. Također je utvrđeno da soj *L. rhamnosus GG* pokazuje blage pozitivne učinke dok je dok je *L. johnsonii* bio u potpunosti neučinkovit.

S obzirom da postoje naznake učinkovitosti određenih sojeva kod određenih grupa pacijenata potrebna su daljnja istraživanja da bi se sa sigurnošću definirala uloga i potencijal probiotika u prevenciji i terapiji Crohnove bolesti.

Sindrom iritablilnog crijeva

Sindrom iritabilnog crijeva vrlo je čest te zahvaća oko 10–12 % populacije razvijenih zemalja svijeta, a karakterizira ga abdominalna bol i neugoda u kombinaciji s različitim poremećajima defekacije. Na bolest utječu psihosociološki čimbenici, promjene motiliteta crijeva, neravnoteža neurotransmitera u crijevu i infekcije. Učinkovitost probiotika u ublažavanju simptoma iritabilnog kolona istražuje se već dvadesetak godina, a trenutno je stajalište da probiotici ublažavaju smetnje pacijenata ali su stupanj učinkovitosti i najaktivniji sojevi još uvijek nepoznati. Značajno poboljšanje simptoma kod 50 % pacijenata uočeno je nakon 12 tjedana terapije sa *L. acidophilus* (32); poboljšanje simptoma i nestanak abdominalne boli primjećeno je kod svih pacijenata nakon 4 tjedna (33) odnosno 6 mjeseci terapije s *L. plantarum* 299v (34). Vrlo učinkovitom se pokazala i šestomjesečna terapija kombiniranim preparatima (*L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* Lc705, *Propionibacterium freudenreichii ssp. shermanii* JS i *B. breve* Bb99) (35) kao i 4 tjedna terapija s *B. bifidum* MIMBb75 (36) i *S. boulardii* (37).

Probiotici u terapiji urogenitalnih infekcija

Vaginalnu mikrofloru čini oko 50 vrsta mikroorganizma, među kojima je najzastupljeniji rod *Lactobacillus*, a najčešće vrste su *L. iners*, *L crispatus*, *L. gasseri* i *L. jensenii*. Od ostalih mikroorganizama u sastavu vaginalne mikroflore često nalazimo i neke vrste karakteristične za crijevnu mikrofloru kao što su *E. coli* i vrste roda *Streptococcus* kao i neke druge potencijalno patogene mikroorganizme iz rodova *Bacterioides, Prevotella i Gardnerella* koje povezujemo s pojavom bakterijske vaginoze (BV), gljivičnog vaginitisa ili infekcije urinarnog trakta (IUT). U zdravoj vaginalnoj mikroflori prevladavaju laktobacili koji, iako ne sprječavaju u potpunosti kolonizaciju vaginalne mukoze drugim organizmima ipak štite i djeluju preventivno na pojavu infekcija. Naime, zbog sposobnosti sinteze mliječne kiseline, različitih bakteriocina i vodikovog peroksida, oni posjeduju izražena mikrobicidna svojstva. Na sposobnost laktobacila da koloniziraju vaginalnu mukozu utječe niz čimbenika kao što su estrogen (koji

potiče prijanjanje laktobacilusa na mukozu vagine), vaginalni pH, sadržaj glikogena itd. Upravo se zbog tih razloga sastav vaginalne flore bitno razlikuje kod žena u pre- i postmenopauzi. Primjerice, sniženje koncentracije estrogena u postmenopauzi dovodi do smanjenja broja laktobacila u vaginalnoj flori te pojave većeg broja patogenih mikroorganizama čime se povećava vjerojatnost pojave BV ili IUT. Antimikrobna terapija urogenitalnih infekcija nije uvijek učinkovita zbog pojave bakterijske ili gljivične rezistencije, rekurentnih infekcija ili neugodnih nuspojava te se javlja potreba za pronalaženjem novih terpaijskih mogućnosti. Smatra se da su najvažniji uzroci ponovne pojave infekcija, rezistentnost bakterijskih biofilmova, povratak patogenih mikroorganizama iz izvorišta (probavni sustav, seksualni partner), ali i oslabljene obrambene funkcije organizma koja može biti posljedica poremećenog sastava vaginalne mikroflore. Upravo se stoga vaginalna primjena probiotika roda *Lactobacillus* nameće kao logična alternativna terapija koja bi pridonijela normalizaciji sastava vaginalne flore te posljedično i prevenciji odnosno liječenju urogenitalnih infekcija. Iako je do danas proveden veći broji kliničkih studija učinkovitosti lokalne primjene probiotika u prevenciji i liječenju urogenitalnih infekcija, rezultati su nekonzistentni. Najveći je problem slaba kvaliteta studija: u samo dvije studije validirana je strategija doziranja i kvantitativno je određena kolonizacija vaginalne flore laktobacilima, dok je samo u jednoj studiji praćena stabilnost probiotičkog preparata do završetka studije (38). Neke novije studije ipak upućuju na značajan potencijal probiotika u ovakvim indikacijama; dvostruko-slijepom randomiziranom placebo-kontroliranom studijom koja je obuhvatila 120 žena dokazana je učinkovitost dvotjedne lokalne terapije s *Lactobacillus rhamnosus, L acidophilus* i *Streptococcus thermophilus* (8×10^9 CFU) u profilaksi bakterijske vaginoze s vidljivm učinkom tijekom slijedećih 11 mjeseci (39). Također, u studiji Marconea i suradnika (40) na 50 žena s dijagnozom bakterijske vaginoze dokazano je da vaginalna primjena 40 mg *Lactobacillus rhamnosus* jedanput tjedno uz terapiju metronidazolom i tijekom slijedećih 6 mjeseci bitno pridonosi stabilizaciji vaginalne flore i smanjuje ponovnu pojavu BV. Razlozi vrlo varijabilnih rezultata kliničkih studija su prvenstveno mali broj pacijenata uključenih u studije, relativno velik postotak pacijenata koji odustaju od terapije (osobito ako se radi o dugotrajnijoj primjeni), različiti algoritmi doziranja (broj jedinica po dozi, doziranje jedanput dnevno ili jedanput tjedno, trajanje suplementacije) te mogućnosti soj-specifičnih učinaka. Naime, učinkovitost primijenjenog probiotika bitno ovisi o njegovoj sposobnosti adhezije na vaginalnu mukozu, ali i jačini baktericidnog učinka koji se ostvaruje bilo produkcijom vodikovog peroksida ili različitih bakteriocina koji direktno inhibiraju rast određenih patogena. Dok na sposobnost adhezije, osim soja mikroorganizma utječu i brojni endogeni čimbenici, sposobnost produkcije bakteriocina je uglavnom soj-ovisna. Primjerice, stabilni mutant *Lactobacillus salivarus UCC118* koji nema sposobnost produkcije specifičnog bakteriocina nije bio djelotvoran u obrani protiv infekcije listerijom dok divlji tip jest, iz čega proizlazi da bi produkcija bakteriocina mogla biti primarni medijator antiinfektivnog djelovanja probiotika (41). Potrebna su daljnja istraživanja da bi se optimirao sastav i jačina probiotičkih preparata te razvili

optimalni režimi doziranja koji će osigurati postizanje maksimalne učinkovitosti probiotika u terapiji i prevenciji urogenitalnih oboljenja.

Kao što je prethodno spomenuto, velik problem terapije urogenitalnih infekcija probioticima je vaginalna primjena što velikom broju pacijentica predstavlja problem ako se radi o dugotrajnijem režimu doziranja. Upravo se stoga prije desetak godina javlja ideja o oralnoj primjeni laktobacila za repopulaciju vaginalne flore koja se temelji na pretpostavci da ukoliko patogeni mikroorganizmi mogu migrirati iz crijeva i prouzročiti urogenitalne infekcije, onda bi prema vaginalnoj sluznici mogli migrirati i probiotici gdje bi ostvarili očekivani terapijski učinak (42). Osim jednostavnije aplikacije, dodatna prednost oralne primjene je i u tome što se takvom primjenom teoretski smanjuje transfer gljivica i patogenih bakterija iz probavnog trakta u vaginalno područje što bi potencijalno smanjilo rizik od pojave vaginalne infekcije (43). Da bi se ostvarili takvi učinci potrebne su vrlo visoke doze probiotika (>10^9 CFU), a vrijeme potrebno za pojavu probiotika u sastavu vaginalne flore je bitno produženo u odnosu na lokalnu primjenu te ovisi o viabilnosti korištenog soja nakon što prođe gastrointestinalni sustav. Iako je dokazano da oralna aplikacija *L. rhamnosus* GR-1 and *L. fermentum* RC-14 u dozi većoj od 10^9 CFU tijekom 14 dana razultira kolonizacijom vaginalne flore (44) potrebna su daljnja klinička istraživanja kojima će se realno procijeniti terapeutski potencijal oralne terapije probioticima u prevenciji i liječenju urogenitalnih infekcija.

Probiotici u eradikaciji *Helicobacter pylori*

Sve je veći broj kliničkih istraživanja koji upućuju na učinkovitost primjene probiotika u liječenju gastrointestinalnih infekcija kao alternative ili pomoćne terapije koja se preporuča uz standardnu antibiotsku terapiju. Iako je terapija bazirana na antibioticima vrlo učinkovita u eradikaciji *Helicobacter pylori*, ona je skupa i može dovesti do pojave rezistencije na antibiotik i ima brojne nuspojave. Zahvaljujući svom bakteriocidnom i bakteriostatskom učinku prama *H. pylori*. probiotici mogu pridonijeti smanjenju kolonizacije probavnog trakta i poboljšanju učinkovitost antibiotske terapije te mogu ublažiti njene nuspojave. Najistraživaniji sojevi u tom smislu su laktobacili i bifidobakterije, koji se primjenjuju ili kao sastavni dio fermentiranih mliječnih proizvoda ili u obliku standardiziranih liofiliziranih ekstrakata (dodaci prehrani). Istraživanja pokazuju da redovita konzumacija fermentiranih mliječnih proizvoda (3–4 tjedna) u količini 180–200 mL dnevno sa sadržajem različitih sojeva rodova *Lactobacillus* (*L.* La1, *L. johnsonii*) i *Bifidobacterium*, značajno smanjuje kolonizaciju probavnog trakta s *H. pylori* te ublažava simptome gastritisa kod simptomatičnih pacijenata. Neki sojevi mogu pojačati učinkovitost standardne tripl- ili kvadripl-terapije te smanjiti nuspojave takve terapije čime se povećava suradljivost pacijenata tijekom terapije; npr. konzumacija mliječnih proizvoda s *L. casei-DN-1140001* (45), suplementa s mješavinom sojeva laktobacila i bifidobakterija (46), suplementa s mješavinom različitih laktobacila, *B. longum* i *S. thermophilus* (47) ili konzumacija simbiotika sa *S.*

boulardii (48, 49). Broj kliničkih istraživanja u stalnom je porastu, a prema novijem preglednom radu Patela i suradnika (50) rezultati većine do sada provedenih studija upućuje na činjenicu da probiotici ublažavaju simptome infekcije (gastritis) i smanjuju kolonizaciju probavnog sustava tom bakterijom. Ipak, ni jedna studija nije pokazala da konzumacija probiotika može dovesti do potpune eradikacije *H. pylori* iz probavnog trakta te se oni i dalje preporučuju isključivo kao pomoćna terapija.

Ostali terapijski učinci probiotika

Uz najčešće, prethodno spomenute indikacije, učinkovitost probiotika se istražuje i za tretiranje i prevenciju drugih patoloških stanja kao što su kardiovaskularne bolesti, osteoporoza, konstipacija, karcinom kolona, reumatoidni artritis i dr. (1). Iako su preliminarni rezultati kliničkih istraživanja za većinu spomenutih indikacija obećavajući potreban je veći broj kontroliranih kliničkih studija da bi se mogli izvesti zaključci o učinkovitosti pojedinih probiotičkih sojeva i dati utemeljene smjernice za adekvatnu terapiju.

ZAKLJUČAK

Probiotici se definiraju kao živi mikroorganizmi koji primijenjeni u adekvatnoj dozi pokazuju pozitivne učinke na zdravlje te se trenutno ubrajaju u najpopularnije dodatke prehrani. Najčešće korišteni probiotici su različite vrste/sojevi rodova *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* neke plijesni (*Saccharomyces boulardii, S. cerevisiae*) i neki gram pozitivni koki. Prema dosadašnjim spoznajama, primjena probiotika je sigurna, a eventualni rizici vezuju se uglavnom uz primjenu određenih vrsta probiotičkih enterobakterija kod imunokompromitiranih bolesnika. Moguće indikacije za terapiju probioticima su brojne, a najviše je dokaza za učinkovitost probiotika u prevenciji i liječenju dijareje (i to osobito dijareje uzrokovane rotavirusom), ublažavanju simptoma ulceroznog kolitisa i sindroma iritabilnog crijeva, korištenja probiotika kao pomoćne terapije u eradikaciji *H. pylori*, prevenciji i ublažavanju simptoma alergijskih stanja (osobito suplementacija trudnica i dojenčadi za ublažavanje simptoma i smanjenje incidencije atopijskog dermatitisa kod dojenčadi s genetskom predispozicijom) te prevenciji i liječenju vaginalnih infekcija. Učinkovitost probiotika se istražuje i za tretiranje i prevenciju drugih patoloških stanja kao što su Crohnova bolest, kardiovaskularne bolesti, osteoporoza, konstipacija, karcinom kolona, reumatoidni artritis i dr. ali trenutni dokazi nisu dostatni da bi se preporučila njihova upotreba i u tim indikacijama. Vrlo je važno naglasiti da su pojedini terapijski učinci probiotika, kao i njihov intenzitet, u velikom broju slučajeva soj-ovisni pa bi preparati, u idealnom slučaju, trebali sadržavati one probiotike za koje je većim brojem istraživanja dokazana učinkovitost. Osim toga u svakodnevnoj farmaceutskoj praksi bitno je obratiti pažnju na kvalitetu pojedinog dodatka prehrani (sastav preparata, broj viabilnih mikroorganizama u preparatu – poželjno $1–20\times10^9$, garancija odsustva potencijalno patogenih mikroorganizama) te adekvatno skladištenje preparata.

Clinical efficiency and safety of probiotics

by D. Vitali Čepo, I. Filipović

Abstract

Probiotics are currently among the most popular dietary supplements and are defined as living microorganisms that, administered in adequate doses, show positive health effects. The most commonly used probiotics are different species/strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, some yeasts (*Saccharomyces boulardii, S. cerevisiae*) and some gram-positive cocci. According to available data, the use of probiotics is safe, and certain theoretical risks are mainly associated with the use of particular types of probiotic enterobacteria in immunocompromised patients.

Possible therapeutic indications for probiotic supplementation are numerous, and their efficiency has been proved for the prevention and treatment of diarrhoea (especially diarrhoea caused by rotavirus); for alleviating the symptoms of ulcerative colitis and irritable bowel syndrome; for using them as an adjunctive therapy in *H. pylori* eradication; for prevention and alleviating the symptoms of allergic conditions (especially supplementation of pregnant women and infants to relieve symptoms and reduce the incidence of atopic dermatitis in infants with a genetic predisposition); and for the prevention and treatment of vaginal infections. Efficacy of probiotics has also been investigated for the prevention and treatment of other pathological conditions such as Cohn's disease, cardiovascular disease, osteoporosis, constipation, colon cancer, rheumatoid arthritis, etc., but the current evidence is insufficient to recommend their use in these indications.

It is important to point out that many of the therapeutic effects of probiotics are strain – dependent and that, ideally, probiotic dietary supplements should contain the probiotic strains with proven efficiency in certain indication in larger number of studies. In addition, in everyday pharmaceutical practice, it is important to pay attention to the quality of available probiotic supplements (the composition of the preparation, the number of viable microorganisms in preparation – preferably $1–20\times10^9$, the absence of potentially pathogenic microorganisms guaranteed by manufacturer) and adequate storage conditions.

Literatura – References

1. Mason P. Dietary supplements, 4th ed., London, UK: Pharmaceutical Press, 2012.
2. Filipović I. Učinkovitost, kvaliteta i sigurnost primjene odabranih dodataka prehrani. diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, 2013.
3. Koboziev I, Karlsson F, Grisham MB. () Gut-associated lymphoid tissue, T cell trafficking, and chronic intestinal inflammation. Ann N Y Acad Sci. 2010; 1207: 86–93.
4. Cho I. Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. Nat Rev Genet. 2012; 13:260–270.
5. FAO/WHO, 2002. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Available at: ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf

6. Zucotti GV, Meneghin F, Raimondi C, Dilillo D, Agostoni C, Riva E, Giovannini M. Probiotics in clinical practise: an overview. J Int Med Res. 2008; 36:1–54.
7. Salminen S, von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, Fondén R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland SE, Mattila-Sandholm T. Demonstration of safety of probiotics – a review. Int J Food Microbiol. 1998; 44: 93– 106.
8. Marschan E, Kuitunen M, Kukkonen K, Poussa T, Sarnesto A, Haahtela T. Probiotics in infancy induce protective immune profiles that are characteristic for chronic low-grade inflammation. Clin Exp Allergy. 2008; 38: 611–618.
9. Wickens K, Black PN, Stanley TV, Mitchell E, Fitzharris P, Tannock GW; Probiotic Study Group. A differential effect of 2 probiotics in the prevention of eczema and atopy: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. J Allergy Clin Immunol. 2008; 122(4): 788–794.
10. Abrahamsson TR, Jakobsson T, Böttcher MF, Fredrikson M, Jenmalm MC, Björkstén B, et al. Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a doubleblind, randomized, placebo-controlled trial. J Allergy Clin Immunol. 2007; 119(5): 1174–1180.
11. Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Poussa T, Tuure T, Kuitunen M. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial Food All Anaph Derm Drug All. 2007; 119 (1): 192–198.
12. Michail SK, Stolfi A, Johnson T, Onady GM. Efficacy of probiotics in the treatment of pediatric atopic dermatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. Ann Aller Asthma Imm. 2008; 101(5): 508–516.
13. Boyle RJ, Bath-Hextall FJ, Leonardi-Bee J, Murrell DF, Tang MLK. Probiotics for the treatment of eczema: a systematic review. Clin Exp Aller. 2009; 39: 1117–1127.
14. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang MLK. Am J Clin Nutr. Probiotic use in clinical practice: What are the risks? 2006; 83(6):1256–1264.
15. Das RR, Singh M, Shafiq N. Probiotics in treatment of allergic rhinitis. World Aller Org J. 2010; 3(9):239–244.
16. Rolfe RD. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. J Nutr. 2000; 130: 396–402.
17. Allen SJ, Martinez EG, Gregorio GV, Dans LF. Probiotics for treating acute infectious diarrhoea. Cochrane Database Syst Rev. 2010; 10(11).
18. McFarland LV. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of Clostridium difficile disease. Am J Gastroenterol. 2006; 101(4):812–822.
19. Johnston BC, Goldenberg JZ, Vandvik PO, Sun X, Guyatt GH. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. Cochrane Database Syst Rev. 2011; 9(11).
20. Goldenberg JZ, Ma SS, Saxton JD, Martzen MR, Vandvik PO, Thorlund K, Guyatt GH, Johnston BC. Probiotics for the prevention of Clostridium difficile-associated diarrhea in adults and children. Cochrane Database Syst Rev. 2013; 31(5).
21. Levri KM, Ketvertis K, Deramo M, Merenstein JH, D'Amico F. Do probiotics reduce adult lactose intolerance? A systematic review. J Fam Pract. 2005; 54(7): 613–620.
22. He T, Priebe MG, Zhong Y, Huang C, Harmsen HJ, Raangs GC, Antoine JM, Welling GW, Vonk RJ. Effects of yogurt and bifidobacteria supplementation on the colonic microbiota in lactose-intolerant subjects. J Appl Microbiol. 2008; 104(2): 595–604.
23. Ojetti V, Gigante G, Gabrielli M, Ainora ME, Mannocci A, Lauritano EC, Gasbarrini G, Gasbarrini A. The effect of oral supplementation with *Lactobacillus reuteri* or tilactase

in lactose intolerant patients: randomized trial. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2010; 14(3):163–170.

24. Kruis W, Fric P, Pokrotnieks J, Lukás M, Fixa B, Kascák M, Kamm MA, Weismueller J, Beglinger C, Stolte M, Wolff C, Schulze J. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic Escherichia coli Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. Gut. 2004;53(11):1617–1623.
25. Sartor RB. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. Gastroenterology. 2004;126(6):1620–1633.
26. Zocco MA, dal Verme LZ, Cremonini F, Piscaglia AC, Nista EC, Candelli M, Novi M, Rigante D, Cazzato IA, Ojetti V, Armuzzi A, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Efficacy of Lactobacillus GG in maintaining remission of ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther. 2006;23(11):1567–1574.
27. Kato K, Mizuno S, Umesaki Y, Ishii Y, Sugitani M, Imaoka A, Otsuka M, Hasunuma O, Kurihara R, Iwasaki A, Arakawa Y. Randomized placebo-controlled trial assessing the effect of bifidobacteria-fermented milk on active ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther. 2004; 20(10): 113 –1141.
28. Ishikawa H, Akedo I, Umesaki Y, Tanaka R, Imaoka A, Otani T. Randomized controlled trial of the effect of bifidobacteria-fermented milk on ulcerative colitis. J Am Coll Nutr. 2003; 22(1): 56–63.
29. Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M. Saccharomyces boulardii in maintenance treatment of Crohn's disease. Dig Dis Sci. 2000; 45:1462–1464.
30. Doherty GA, Bennett GC, Cheifetz AS, Moss AC. Meta-analysis: targeting the intestinal microbiota in prophylaxis for post-operative Crohn's disease. Aliment Pharm Ther. 2010; 31(8):802–809.
31. Shen J, Ran HZ, Yin MH, Zhou TX, Xiao DS. Meta-analysis: the effect and adverse events of Lactobacilli versus placebo in maintenance therapy for Crohn disease. Intern Med J. 2009; 39(2):103–109.
32. Halpern GM, Prindiville T, Blankenburg M, Hsia T, Gershwin ME. Treatment of irritable bowel syndrome with Lacteol Fort: a randomized, double-blind, cross-over trial. Am J Gastroenterol. 1996; 91(8):1579–1585.
33. Niedzielin K, Kordecki H, Birkenfeld B. A controlled, double-blind, randomized study on the efficacy of Lactobacillus plantarum 299V in patients with irritable bowel syndrome. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2001; 13(10): 1143–1147.
34. Nobaek S, Johansson ML, Molin G, Ahrné S, Jeppsson B. Alteration of intestinal microflora is associated with reduction in abdominal bloating and pain in patients with irritable bowel syndrome. Am J Gastroenterol. 2000; 95(5): 1231–1238.
35. Kajander K, Korpela R. Clinical studies on alleviating the symptoms of irritable bowel syndrome. Asia Pac J Clin Nutr. 2006; 15(4): 576–580.
36. Guglielmetti S, Mora D, Gschwender M, Popp K. Randomised clinical trial: Bifidobacterium bifidum MIMBb75 significantly alleviates irritable bowel syndrome and improves quality of life-a double-blind, placebo-controlled study. Aliment Pharmacol Ther. 2011; 33(10): 1123–1132.
37. Choi CH, Jo SY, Park HJ, Chang SK, Byeon JS, Myung SJ.A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial of *Saccharomyces boulardii* in irritable bowel syndrome: effect on quality of life. J Clin Gastroenterol. 2011; 45(8): 679–683.
38. Barrons R, Tassone D. Use of Lactobacillus probiotics for bacterial genitourinary infections in women: A review. Clin Ther. 2008; 30(3): 453–468.

39. Wang Y, Reifer C, Miller LE. Efficacy of vaginal probiotic capsules for recurrent bacterial vaginosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. Am J Obst Gyn. 2010; 203(2);1–6.

40. Marcone V, Roccab G, Lichtnerc M, Calzolaria E. Long-term vaginal administration of Lactobacillus rhamnosus as a complementary approach to management of bacterial vaginosis. Int J Gyn Obst. 2010 (3): 223–226.

41. Corr SC, Li Y, Riedel CU, O'Toole PW, Hill C, Gahan CGM. Bacteriocin production as a mechanism for the antiinfective activity of Lactobacillus salivarius UCC118. P Natl Acad Sci USA. 2007: 104(18): 7617–7621.

42. Reid G, Bruce AW, Fraser N, Heinemann C, Owen J, Henning B. Oral probiotics can resolve urogenital infections. FEMS Immunol Med Microbiol. 2001; 30(1): 49–52.

43. Reid G, Charbonneau D, Erb J, Kochanowski B, Beuerman D, Poehner R, Bruce AW. Oral use of Lactobacillus rhamnosus GR-1 and L. fermentum RC-14 significantly alters vaginal flora: randomized, placebo-controlled trial in 64 healthy women. FEMS Immunol Med Microbiol. 2003; 35(2): 131–134.

44. Gardiner GE, Heinemann C, Baroja ML. Oral administration of the probiotic combination *Lactobacillusrhamnosus* GR-1 and *L. fermentum* RC-14 for human intestinal applications. Int Dair J.2002; 12, (2–3): 191–196.

45. Sýkora J, Valečková K, Amlerová, J, Siala K, Dědek, P, Watkins S, Varvařovská J, Stožický F, Pazdiora P, Schwarz J. Effects of a Specially Designed Fermented Milk Product Containing Probiotic Lactobacillus casei DN-114 001 and the Eradication of H. pylori in Children: A Prospective Randomized Double-Blind Study. J Clin Gastroenterol. 2005; 39(8): 692–698.

46. Sheu BS, Cheng HC, Kao AW, Wang ST, Yang YJ, Yang HB, Wu JJ. Pretreatment with Lactobacillus – and Bifidobacterium-containing yogurt can improve the efficacy of quadruple therapy in eradicating residual Helicobacter pylori infection after failed triple therapy. Am J Clin Nutr. 2006;83(4): 864–869.

47. Kim MN, Kim N, Lee SH, Park YS, Hwang JH, Kim JW, Jeong SH, Lee DH, Kim JS, Jung HC, Song IS. The effects of probiotics on PPI-triple therapy for Helicobacter pylori eradication. Helicobacter. 2008;13(4): 261–268.

48. Gotteland M, Poliak L, Cruchet S, Brunser O. Effect of regular ingestion of Saccharomyces boulardii plus inulin or Lactobacillus acidophilus LB in children colonized by Helicobacter pylori. Acta Paediatr. 2005; 94(12):1747–1751.

49. Song MJ, Park DI, Park JH, Kim HJ, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI. The effect of probiotics and mucoprotective agents on PPI-based triple therapy for eradication of Helicobacter pylori. Helicobacter. 2010; 15(3): 206–213.

50. Patel A, Shah N, Prajapati JB. Clinical appliance of probiotics in the treatment of Helicobacter pylori infection – A brief review. J Microbiol Immunol Infect. 2013; doi: 10.1016/j.jmii.2013.03.010.

Primljeno 3. lipnja 2014.