

## **PROBIOTICI E PREBIOTICI** **Impieghi attuali e prospettive future**

**Silvia Vertuani, Stefano Manfredini**

*Dipartimento Scienze Farmaceutiche - Università di Ferrara*

**Giovanni Braccioli**

*Polichimica - Bologna*

### **INTRODUZIONE**

I *probiotici* e *prebiotici*, costituiscono un'area di crescente interesse scientifico, nell'ambito degli alimenti funzionali o dei cosiddetti nutraceutici.

Le denominazioni sono attraenti ed immaginifiche, e l'etimologia stessa del termine lascia trasparire l'importante implicazione per la salute dell'uomo, che può derivare dal loro impiego.

Il bersaglio diretto dell'azione di questi 'ingredienti' è l'intestino, ma indirettamente è l'intero organismo il beneficiario degli effetti. La funzione è quella di promuovere la proliferazione, e l'equilibrio della composizione batterica che costituisce l'ecosistema intestinale.

Il microbiota intestinale è costituito da centinaia di specie batteriche diverse, le cui molteplici attività metaboliche influenzano lo stato di salute dell'ospite. In particolare, nel corso dell'evoluzione della specie umana, si è instaurato un importante e delicato equilibrio di mutuo vantaggio, tra l'uomo e la microflora, che rischia però, di essere compromesso da improvvisi cambiamenti.

In condizioni di stress psico-fisici, alimentari, ambientali, o in seguito all'assunzione di farmaci, si assiste ad uno sbilanciamento della microflora (disbiosi) che rende l'organismo suscettibile all'attacco di patogeni.

La dieta, attraverso opportuni interventi alimentari, costituisce uno dei principali fattori, di natura esogena, in grado di influenzare la composizione quali/quantitativa della microflora intestinale. L'approccio più comune comporta il consumo di prodotti alimentari tradizionali, quali yogurt e latte fermentato, i quali contengono essenzialmente *probiotici*, definiti come microrganismi vivi, in grado di influenzare positivamente l'ospite, migliorandone l'equilibrio microbico intestinale.<sup>1</sup>

Se pur inconsapevolmente, i probiotici e prebiotici, rientrano ormai abitualmente nelle scelte alimentari di ciascuno di noi, poiché l'idea salutistica, legata al consumo di yogurt e latte fermentato, fa ormai parte dell'immaginario collettivo.<sup>2</sup>

Più recente ed innovativo è l'uso dei *prebiotici*, intesi come ingredienti alimentari non digeribili che, a livello dell'intestino crasso, stimolano selettivamente la crescita e/o l'attività metabolica di un numero limitato di gruppi microbici, importanti per il buon funzionamento dell'organismo.<sup>3</sup> In particolare, questi ultimi sembrano poter apportare benefici all'organismo<sup>4</sup>, perché contengono anche substrati che possiedono un'azione specifica di sostegno per l'impianto e la crescita della flora batterica.

La popolazione batterica intestinale e il suo biochimismo, influenzano numerosi aspetti della fisiopatologia dell'ospite, come i processi digestivi, il metabolismo lipidico e la resistenza all'invasione di microrganismi patogeni. Inoltre sono in grado di manifestare attività benefiche su organi e tessuti, indipendentemente dalle modalità e vie di somministrazione perseguite.<sup>5</sup> Quest'ultimo effetto è spiegabile attraverso la capacità dei probiotici e prebiotici di implementare l'immunocompetenza della mucosa intestinale e di regolare la permeabilità della parete intestinale, che in situazioni patologiche può aumentare, lasciando 'passare' pericolosi patogeni nel circolo sanguigno.<sup>6</sup>

Alla luce di queste informazioni, è comprensibile il grande interesse scientifico sui probiotici e prebiotici, in quanto, oltre alle loro caratteristiche nutrizionali, presentano un notevole potenziale terapeutico e profilattico in diversi ambiti applicativi.

Inoltre, le attenzioni della ricerca in questo ambito, sono già tese ad indagare gli effetti derivanti dalla combinazione di probiotici e prebiotici, che viene designata con il termine di *sinbiotici*. Questi nuovi alimenti risulterebbero vantaggiosi in quanto, oltre a stimolare selettivamente la crescita e/o il metabolismo di gruppi microbici utili per la salute dell'ospite, determinerebbero nel tratto intestinale, un aumento della sopravvivenza e della colonizzazione dei microrganismi probiotici presenti nel prodotto.<sup>7</sup> Tuttavia, a causa della loro recente comparsa sul mercato alimentare, gli effetti del consumo di prodotti sinbiotici sull'ecosistema intestinale richiedono ulteriori indagini.

**Tabella 1. Esempi di comuni probiotici, prebiotici e sinbiotici\***

PROBIOTICI		PREBIOTICI		SINBIOTICI
<b>Lactobacilli</b>	<i>L. acidophilus</i>	<b>FOS</b>	Inulina Oligofruzzosio Neozucchero	Bifidobacteria + FOS
	<i>L. casei</i>			Lactobacilli +  Lattitolo
	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>			
	<i>L. reuteri</i>	<b>GOS</b>	Lattulosio	Bifidobacteria + GOS
	<i>L. brevis</i>		Lattitolo	
	<i>L. cellobiosus</i>			
	<i>L. curvatus</i>			
	<i>L. fermentum</i>			
	<i>L. plantarum</i>			
<b>Gram-positive cocci</b>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>			
	<i>Streptococcus</i> <i>salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>			
	<i>Enterococcus</i> <i>faecium</i>			
	<i>S. diaacetylactis</i>			
	<i>S. intermedius</i>			
<b>Bifidobacteria</b>	<i>B. bifidum</i>			
	<i>B. adolescentis</i>			
	<i>B. animalis</i>			
	<i>B. infantis</i>			
	<i>B. longum</i>			
<i>B. thermophilum</i>				

\* alcuni sono in fase di valutazione. FOS: fruttooligosaccaridi. GOS: galattooligosaccaridi

## PROBIOTICI

Il presupposto alla base dell'attività di un probiotico, è la resistenza all'attacco degli acidi a livello dello stomaco, che consente al *pool* batterico di conservare la vitalità, *conditio sine qua non* per l'azione a livello intestinale.

Attualmente i probiotici vengono prevalentemente consumati come latticini, quali yogurt e latte fermentato, o attraverso l'assunzione di preparati liofilizzati impiegati nella preparazione di capsule, tavolette, sciroppi. Le preparazioni probiotiche presenti sul mercato, contengono miscele prevalentemente costituite dai generi *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. bulgaris*) *Bifidobacterium* (*B. bifidum*) e *Streptococcus* (*S. termophilus*), in quanto sono componenti importanti per la microflora intestinale e sono i generi relativamente più sicuri.

Il notevole interesse rivolto a questo argomento, è confermato dalla vastissima letteratura scientifica a supporto<sup>8</sup>, derivante dall'esplorazione delle potenzialità terapeutiche dei probiotici in contesti terapeutici diversificati, e che verranno di seguito presi in considerazione.

### • *Proprietà detossificanti*

L'intestino è un organo centrale nel processo di detossificazione dell'organismo, che si esplica attraverso la duplice funzione di barriera, sia meccanica che immunologica.

Alla fine del XIX secolo era popolare la teoria dell'*autointossicazione*, che identificava nei batteri intestinali i responsabili dell'insorgere di malattie, a causa del rilascio di sostanze dannose per l'organismo.<sup>9</sup>

I probiotici vengono considerati agenti detossificanti in grado di contrastare la generazione delle tossine suddette attraverso una duplice attività:

a) degradazione di pericolose amine cancerogene;

b) diminuzione dell'attività di enzimi cancerogeni, quali  $\beta$ -glucuronidasi, azoreduttasi e nitroreduzioni.<sup>10</sup>

### • *Miglioramento dell'intolleranza al lattosio*

L'intolleranza al lattosio è un problema che colpisce circa il 70% della popolazione mondiale; esso è determinato da una bassa attività  $\beta$ -galattosidasi a livello della mucosa intestinale, che rende il lattosio non digeribile.

I lactobacilli presentano una elevata attività  $\beta$ -galattosidasi, responsabile della conversione del lattosio, presente nello yogurt e nel latte, in glucosio e galattosio.

In uno studio clinico, soggetti intolleranti al lattosio, dopo aver assunto yogurt contenenti elevata quantità di probiotici, hanno manifestato una significativa riduzione della sintomatologia provocata dall'intolleranza.<sup>11, 12</sup>

### • *Immunomodulazione*

Uno sviluppo interessante dei probiotici negli ultimi anni, ha riguardato le loro capacità di influenzare vari meccanismi della risposta immunitaria, quali l'immunità umorale, cellulo-mediata e non specifica.<sup>13 14</sup>

Per quanto riguarda la risposta di tipo umorale, numerosi studi scientifici evidenziano che un trattamento con probiotici del tipo *L. Casei* e *L. acidophilus* determinano un innalzamento della produzione di IgA, che migliora la funzione di barriera dell'intestino.

Un aspetto interessante della modulazione del sistema immunitario da parte dei probiotici, è la loro capacità di influenzare la risposta mediata dalle cellule T nell'epitelio intestinale, attraverso la produzione di citochine. Inoltre è stato evidenziato che i lactobacilli sono in grado di stimolare l'attività dei macrofagi verso differenti specie di batteri.<sup>15</sup> Presumibilmente l'effetto è determinato dall'assorbimento attraverso le pareti intestinali di un antigene solubile o dalla traslocazione di lactobacilli nel flusso sanguigno.

L'azione immunomodulatoria dei probiotici spiega anche la diminuzione della sintomatologia associata ad allergie alimentari (dermatite atopica)<sup>16</sup>, nelle quali si assiste ad un aumento della permeabilità intestinale agli allergeni, provocato dallo stato infiammatorio cronico della mucosa.

### • **Artrite reumatoide**

L'artrite reumatoide è una malattia autoimmune, a carattere infiammatorio che colpisce le articolazioni ed altri organi interni.

L'eziologia non è ancora stata del tutto chiarita, ma ci sono studi che la indicano come conseguenza di infezioni intestinali<sup>17</sup> o dell'azione di allergeni alimentari. In queste circostanze la mucosa intestinale risulta danneggiata, ne consegue un'aumentata permeabilità con il passaggio di anticorpi che aggrediscono le strutture dell'organismo stesso ed innescano un processo infiammatorio.

L'integrazione della dieta di pazienti affetti da artrite reumatoide con probiotici, ha mostrato un miglioramento del quadro clinico<sup>18</sup>, ed inoltre l'effetto è imputabile ad una diminuzione dell'attività enzimatica delle ureasi, responsabili del danneggiamento dell'epitelio intestinale.<sup>19</sup>

### • **Attività ipocolesterolemizzante**

L'attività ipocolesterolemizzante dei probiotici è oggetto di controversie, in quanto esistono studi recenti che confermano la capacità ipocolesterolemizzante dei probiotici<sup>20,21</sup>, ma altri studi non supportano queste affermazioni, in quanto non hanno evidenziato alcun effetto significativo.<sup>8</sup>

### • **Attività antiinfettiva 'naturale'**

Un'importante applicazione dei probiotici avviene nell'ambito della prevenzione delle infezioni opportunistiche, conseguenti a terapie antibiotiche. Una parte considerevole della microflora intestinale viene distrutta dagli antibiotici, instaurandosi così condizioni favorevoli allo sviluppo di organismi patogeni quali *Candida albicans* e *Clostridium difficile*, che possono portare ad infezioni, sepsi, coliti e diarrea.

Numerosi studi confermano che l'assunzione di probiotici, in concomitanza ad una terapia antibiotica, è in grado di ridurre l'incidenza di infezioni opportunistiche e di ripristinare, in tempi più rapidi, l'assetto fisiologico della microflora intestinale.

Probiotici quali i lattobacilli producono sostanze ad attività antibiotico-simile, che *in vitro* hanno mostrato attività verso microrganismi patogeni.

Numerosi lavori riportano l'attività antimicrobica dei probiotici contro la *Candida albicans*, grazie all'azione di sostanze tossiche per il lievito rilasciate dai lattobacilli, quali l'acido lattico e il perossido di idrogeno.<sup>22</sup> Tuttavia, è necessario rilevare che per quanto attiene l'uso dei probiotici nelle infezioni gastrointestinali, esistono dati contrastanti.<sup>23</sup> L'efficacia è stata dimostrata nel ridurre la severità e la durata della diarree di origine virale nei bambini, ma non esistono evidenze convincenti per quelle batteriche.<sup>24</sup> Un nuovo ambito terapeutico, nel quale i probiotici stanno destando notevole interesse, riguarda il trattamento delle infezioni uro-genitali.<sup>25</sup> Uno studio recente, riporta la prima evidenza clinica di remissione totale di infezioni del tratto uro-genitale, in seguito all'assunzione orale di probiotici.<sup>26</sup> L'aspetto significativo è che nonostante l'assunzione avvenga per via orale, dopo una settimana di trattamento, è possibile isolare a livello della mucosa vaginale, i ceppi di probiotici (*Lactobacillus rhamnosus* GR-1 e *Lactobacillus fermentum* RC-14) impiegati per la terapia.

### • **Patologie intestinali**

Uno nuovo e promettente sviluppo nell'ambito dei probiotici, è la recente scoperta che il loro impiego possa influenzare positivamente il decorso di patologie infiammatorie ed infettive dell'intestino,<sup>15</sup> e di quelle disfunzioni correlate al malfunzionamento della barriera intestinale, o alla modificazione dell'assetto immunitario di questo apparato. E' stato ipotizzato che il meccanismo coinvolto includa: i) riduzione del pH intestinale attraverso la stimolazione della

produzione di acido lattico, da parte della microflora intestinale; ii) effetti diretti di antagonismo su microrganismi patogeni; iii) immunostimolazione.<sup>7</sup>

### **Attività chemopreventiva**

I dati scientifici disponibili sino ad ora, a questo proposito, riguardano la riduzione del rischio di sviluppo del cancro al colon, che è una delle più importanti cause di mortalità. Gli esperimenti sono stati condotti su modelli animali, nei quali la somministrazione di lattobacilli e bifidobatteri, dopo il trattamento con cancerogeni chimici, ha evidenziato la diminuzione di *marker* tumorali specifici.<sup>27</sup> Una possibile spiegazione degli effetti preventivi sullo sviluppo di tumori, è data dalla capacità dei lattobacilli di sopprimere la crescita di quelle specie batteriche, che convertono i pro-cancerogeni in cancerogeni. Questa proprietà, determina la riduzione della concentrazione di sostanze cancerogene nell'intestino.

Inoltre i lattobacilli sequestrano, a livello intestinale, composti potenzialmente mutageni, evitando così che questi vengano assorbiti.<sup>8</sup>

Sull'uomo non esistono ancora evidenze sperimentali dirette, ma i presupposti per considerare i prebiotici potenzialmente utili nella prevenzione delle patologie neoplastiche, incoraggiano il proseguimento delle ricerche.

### **Tecnologia e utilizzazione**

In commercio esistono diversi derivati del latte, contenenti ceppi probiotici selezionati.

Dal momento che sono prodotti di rapida degradabilità e contenenti microrganismi vivi, sono importanti le modalità di conservazione e di assunzione. Vanno consumati il più possibile freschi di produzione, e appena tolti dal frigorifero, per garantire la massima concentrazione di batteri vitali. Per ovviare a questi 'inconvenienti', le ricerche più recenti hanno consentito di selezionare ceppi probiotici di eccellente qualità, scelti per la loro stabilità e sicurezza, e disponibili come liofilizzati, utili per la preparazione di formulati, le cui proprietà variano in funzione del *know-how* dei diversi produttori.

In particolare, le tecniche di formulazione e la tipologia dei ceppi selezionati, hanno consentito in alcuni casi, la conservazione del liofilizzato fino a due anni, anche a temperatura ambiente.

Infine, l'impiego di queste tecnologie hanno consentito di ottenere fermenti resistenti ai succhi gastrici e biliari, permettendo così l'assunzione di dosaggi più ridotti, con consistenti vantaggi economici per l'utilizzatore.

### **Sicurezza**

L'impiego, da lungo tempo, di specie batteriche per uso alimentare, nella preparazione di yogurt e latticini, è ormai generalmente riconosciuto come sicuro,<sup>28</sup> tanto che gli studi sono ora rivolti a valutarne i molteplici effetti benefici sulla salute.<sup>29</sup>

E' vero però che l'attenzione per la sicurezza deve essere costantemente rivolta ai ceppi di nuova generazione, derivanti da modificazioni genetiche. Un recente studio, finalizzato a valutare la sicurezza di impiego di alcuni nuovi ceppi di lattobacilli, potenzialmente utilizzabili come probiotici, ne ha evidenziato la non patogenicità e la sicurezza per l'uso umano.<sup>30</sup>

### **PREBIOTICI**

Il termine prebiotico sta ad indicare un gran numero di sostanze organiche, ma in particolare gli oligosaccaridi fermentescibili, che sono in grado di favorire la crescita della flora microbica intestinale, in quanto fungono da substrato nutritivo dei microrganismi endogeni.

Il loro meccanismo d'azione è quello di favorire la crescita di microrganismi probiotici, quali ad es. i bifidobatteri, che normalmente costituiscono la microflora intestinale.

I soli prebiotici per i quali siano disponibili dati significativi, riguardano i fruttani del tipo inulina.<sup>31</sup> Questi includono l'**inulina**, sia naturale sia quella ottenuta per idrolisi enzimatica e i fruttoligosaccaridi di sintesi. L'inulina è definita come un carboidrato costituito quasi esclusivamente da unità  $\beta$ -(2-1)fruttosil-fruttosio.

Esistono piante in grado di produrre inulina, che appartengono alle famiglie delle Mono- e Dicotiledoni, quali *Liliaceae*, *Graminaceae* e *Compositae*. Tuttavia, a livello industriale per l'ottenimento di inulina viene utilizzata solo la pianta della cicoria (*Chicorium intybus*).

Dal punto di vista dietetico le sorgenti alimentari più significative, per l'approvvigionamento di inulina, sono rappresentate da cicoria, cipolla, carciofi, porri, banane, aglio e in misura minore dai cereali. In molti paesi europei l'inulina, che si ottiene da cicoria, e l'oligofruttosio, sono già ufficialmente riconosciuti come ingredienti alimentari naturali, e negli Stati Uniti, sono generalmente accreditati come ingredienti sicuri.

I fruttani inulino-simili trovano vari impieghi nell'industria alimentare, ad esempio come sostituti di zuccheri e grassi, come addensanti, agenti stabilizzanti e lievitanti.

#### *Il destino dei prebiotici nell'intestino.*

I fruttani del tipo inulinico resistono alla digestione nel tratto gastrointestinale più alto, e non vengono assorbiti. Per queste loro caratteristiche è stato proposto di chiamarli *colonic food*, nel senso che sono alimenti che a livello del colon fungono da substrato per i batteri endogeni, e cedono all'organismo ospite, energia e substrati metabolici. I fruttani di tipo inulinico sono fermentati dai batteri intestinali e i prodotti finali di fermentazione sono acido lattico e acidi carbossilici a corta catena. E' proprio questa fermentazione che porta alla stimolazione selettiva della crescita della popolazione di bifidobatteri.

L'idea che l'integrazione dell'alimentazione con prebiotici, porti ad un generale miglioramento dello stato psico-fisico dell'organismo è ampiamente diffusa, ma dal punto di vista scientifico è necessario raccogliere un numero maggiore di informazioni.

Data la relativa recente introduzione dei prebiotici sul mercato, i risultati di molte delle ricerche in corso sono tuttora preliminari: l'analisi della letteratura scientifica ha consentito di individuare soltanto due potenziali applicazioni.

#### • ***Aumento della biodisponibilità di minerali***

E' opinione diffusa che gli alimenti ricchi di fibre, ovvero di carboidrati non digeribili, siano i responsabili di un'azione sequestrante sui minerali, determinata da una riduzione del loro assorbimento. Al contrario invece, i fruttani inulino-simili, sono risultati in grado di implementare l'assorbimento dei minerali, attraverso un'azione osmotica che richiama acqua nell'intestino e determina l'aumento del volume di fluido nel quale i minerali possono dissolversi.

Inoltre, questi carboidrati, attraverso la fermentazione, acidificano l'ambiente intestinale, determinando un aumento delle concentrazioni di minerali in forma ionizzata, in particolare  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ , oltre ad instaurare delle condizioni favorevoli alla diffusione passiva.<sup>32</sup>

Alla luce di questi dati promettenti, si aprono nuove prospettive di impiego dei prebiotici nella prevenzione dell'osteoporosi, che richiedono però di essere supportate da ulteriori studi sull'uomo.

### • **Effetto sul metabolismo dei lipidi**

Gli effetti dei fruttani inulina-simili, sul metabolismo lipidico, sono stati sino ad ora studiati prevalentemente su modelli animali. Numerosi studi condotti sui ratti, riportano la riduzione dei livelli sierici dei trigliceridi. Alla base di questo effetto sono stati ipotizzati due possibili meccanismi:

- a) effetti metabolici di acidi grassi a corta catena,
- b) abbassamento dei livelli plasmatici di insulina e glicemia.

Per quanto riguarda il colesterolo, non esistono evidenze sperimentali sulla capacità ipocolesterolemizzante dei prebiotici.

Dal momento che esiste una correlazione stretta, tra i livelli di trigliceridi nel sangue e la possibilità di sviluppare patologie cardiovascolari, sarebbe auspicabile uno studio più esteso sulle capacità dei prebiotici di agire in questo ambito terapeutico.

### **SINBIOTICI**

Un'altra strategia, finalizzata alla modificazione del microbiota intestinale, è rappresentata dalla 'creazione' di *sinbiotici*,<sup>33</sup> nei quali probiotici e prebiotici sono usati in combinazione, per sfruttare i benefici effetti per l'ospite, derivanti dalle due classi. I sinbiotici mirano al miglioramento della sopravvivenza del microrganismo probiotico, in quanto dalla combinazione, risulta immediatamente disponibile il substrato fermentescibile, necessario alla colonizzazione nell'intestino del microrganismo. Le potenziali combinazioni, che si possono ottenere tra le differenti specie batteriche di probiotici disponibili, e i vari tipi di prebiotici, sono numerose, ma sono ancora pochi gli studi scientifici disponibili, che dimostrino l'eventuale attività additiva o sinergica della combinazione. A supporto di questo, si cita uno studio condotto su ratti, finalizzato alla valutazione delle proprietà anticarcinogeniche di alcuni sinbiotici. Si dimostra infatti, come la combinazione di bifidobatterio e oligofruztosio possieda un effetto additivo nella riduzione del tumore al colon, mentre altri oligosaccaridi non determinano risultati certi.<sup>34</sup> Questo denota la necessità di ulteriori indagini, mirate alla valutazione sperimentale e clinica di specifiche combinazioni simbiotiche.

### **CONCLUSIONI**

Alla luce delle informazioni raccolte i probiotici e i prebiotici possiedono interessanti proprietà per continuare ad essere sviluppati, sia dalle industrie alimentari che farmaceutiche.

Lo sviluppo di sistemi alimentari che promuovono il miglioramento della salute e dello stato di benessere dell'organismo, rappresenta attualmente una nicchia di mercato con una crescente impatto economico.<sup>35</sup> Non solo sarà importante determinare in che modo questi *nutraceutici* possano influenzare il decorso di diverse patologie, ma sarà anche importante determinarne l'uso ottimale come strumento di profilassi e prevenzione. La comprensione dei meccanismi d'azione in generale di questi principi funzionali, potrà essere utile nel delineare sempre meglio la stretta correlazione esistente tra alimentazione e salute.

### **BIBLIOGRAFIA**

---

<sup>1</sup> **Guarner F Schaafsma GJ (1998)**

Probiotics

*Int J Food Microbiol* **39** 237-238

<sup>2</sup> **Stanton C Gardiner G Meehan H (2001)**

Market potential for probiotics

*Am J Clin Nutr* **2001** **73** 476S-483S

<sup>3</sup> **Gibson GR Roberfroid MD (1995)**

Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics

*J Nutr* **125** 1401-1412

<sup>4</sup> **Van Loo J Cummings J Delzenne N et al. (1999)**

Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94-1095 *Br J Nutr* **81**(2):121-

<sup>5</sup> **Schrezenmeir J de Vrese MM (2001)**

Probiotics, prebiotics, and synbiotics-approaching a definition

*Am J Clin Nutr* **73** 361S-364S

<sup>6</sup> **Berg RD (1999)**

Bacterial translocation from the gastrointestinal tract

*Adv Exp Med Biol* **473** 11-30

<sup>7</sup> **Collins MD, Gibson GR (1999)**

Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut

*Am J Clin Nutr* **69** 1052S-1057S

<sup>8</sup> **de Roos NM Katan MB (2000)**

Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998.

*Am J Clin Nutr* **71**(2) 405-411

<sup>9</sup> **LaMont JT (2000)**

The renaissance of probiotics and prebiotics

*Gastroenterology* **19** 291

<sup>10</sup> **Jin LZ Ho YW Abdullah N Jalaludin S (2000)**

Digestive and bacterial enzyme activities in broilers fed diets supplemented with *Lactobacillus* cultures

*Poult Sci* **79** 886-891

<sup>11</sup> **Szilagyi A (1999)**

Prebiotics or probiotics for lactose intolerance: a question of adaptation

*Am J Clin Nutr* **70** 105-106

<sup>12</sup> **de Vrese MM Stegelmann A Richter B (2001)**

Probiotics-compensation for lactase insufficiency

*Am J Clin Nutr* **73** 421S-429S

<sup>13</sup> **Erickson KE Hubbard NE (2000)**

Probiotic immunomodulation in health and disease

*Am Soc Nutr Sc* **130** 403S-409S

<sup>14</sup> **Isolauri E Sutas YKankaanpaa P Arvilommi H Salminen S (2001)**

Probiotics: effects on immunity

*Am J Clin Nutr* **73** 444S-450S

<sup>15</sup> **Gill HS (1998)**

Stimulation of the immune system by lactic cultures

*Int Dairy J* **8** 535-644

<sup>16</sup> **Kirjavainen PV, Apostolou E, Salminen SJ, Isolauri E (1999)**

New aspects of probiotics: a novel approach in the management of food allergy

*Allergy* **54** 909-15

<sup>17</sup> **Cordain L, Toohey L, Smith MJ, Hickey MS (2000)**

Modulation of immune function by dietary lectins in rheumatoid arthritis

*Br J Nutr* **83** 207-17

<sup>18</sup> **Malin M Verronen P Mykkanen H et al (1997)**

Dietary therapy with *Lactobacillus GG*, bovine colostrum or bovine immune colostrum in patients with juvenile chronic arthritis: evaluation of effect on gut defense mechanism

*Inflammopharmacology* **5** 219-236

<sup>19</sup> **Malin M Verronen P Mykkanen H Salminen S Isolauri E (1996)**

Increased bacterial urease activity in faeces in juvenile chronic arthritis: evidence of altered intestinal microflora?

*Br J Rheumatol* **35** 689-694

<sup>20</sup> **Agerholm-Larsen L Bell ML Grunwald GK Astrup A (2000)**

The effect of a probiotic milk product on plasma cholesterol: a meta-analysis of short-term intervention studies

*Eur J Clin Nutr* **54** (11) 856-60

<sup>21</sup> **Taranto MP Medici M Perdigon G (2000)**

Effect of *Lactobacillus reuteri* on the prevention of hypercholesterolemia in mice

*J Dairy Sci* **83** 401-3

<sup>22</sup> **JackM et al (1990)**

Evidence for the involvement of thiocyanate in the inhibition of *Candida albicans* by *Lactobacillus acidophilus*

*Microbios* **62** 37-46

- <sup>23</sup> **Gionchetti P Rizzello F Venturi A Campieri M (2000)**  
Probiotics in infective diarrhoea and inflammatory bowel diseases  
*J Gastroenterol Hepatol* **15** 489-493
- <sup>24</sup> **Davidson GP Butler RN (2000)**  
Probiotics in pediatric gastrointestinal disorders  
*Curr Opin Pediatr* **12** 477-481
- <sup>25</sup> **Reid G (2001)**  
Probiotic agents to protect the urogenital tract against infection  
*Am J Clin Nutr* 2001 73 437S-443S
- <sup>26</sup> **Reid G Bruce AW Fraser N (2001)**  
Oral probiotics can resolve urogenital infections  
*FEMS Immunol Med Microbiol* **30** 49-52
- <sup>27</sup> **Hirayama K Rafter J (2000)**  
The role of probiotic bacteria in cancer prevention  
*Microbes Infect* **2** 681-686
- <sup>28</sup> **Ishibashi N Yamazaki S (2001)**  
Probiotics and safety.  
*Am J Clin Nutr* 73 465S-470S
- <sup>29</sup> **Adams MR (1999)**  
Safety of industrial lactic acid bacteria  
*J Biotechnol* **68** 171-178
- <sup>30</sup> **Zhou JS Shu Q Rutherford KJ et al. (2000)**  
Acute oral toxicity and bacterial translocation studies on potentially probiotic strains of lactic acid bacteria  
*Food Chem Toxicol* **38**(2-3) 153-161
- <sup>31</sup> **Roberfroid MD (2000)**  
Prebiotics and probiotics: are they functional foods?  
*Am J Clin Nutr* **71** 1682S-1687S
- <sup>32</sup> **Coudray C Bellanger J Castiglia-Delavaud C et al (1997)**  
Effect of soluble and partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron, zinc in healthy young men  
*Eur J Clin Nutr* **51** 375-380
- <sup>33</sup> **Berg RD (1998)**  
Probiotics, prebiotics or conbiotics?  
*Trends Microbiol* **6** 89-92
- <sup>34</sup> **Gallaher DD, Khil J (1999)**  
The effect of synbiotics on colon carcinogenesis in rats.  
*J Nutr* **129** 4148S-7S
- <sup>35</sup> **Klaenhammer TD (2000)**  
Probiotic bacteria: today and tomorrow  
*J Nutr* **130** 415S-416S