

Probióticos: O Estado das Coisas

J. SALAZAR DE SOUSA

*Cadeira de Patologias da Criança e do Adolescente
Curso de Psicopedagogia Curativa
Universidade Moderna – Lisboa*

Probiotics: The State of the Art

Os probióticos constituem um motivo de investigação extremamente actual e que interessa a várias áreas profissionais, nomeadamente, à medicina, à veterinária e à indústria alimentar. Na parte que à medicina diz respeito, os probióticos têm despertado o interesse de microbiologistas, de imunologistas, de nutricionistas, de internistas, de pediatras e de vários outros especialistas (gastroenterologistas, cardiologistas, cancerologistas e outros).

DEFINIÇÃO

Quem, pela primeira vez, utilizou a designação de probióticos foram Lilley e Stillwell ⁽¹⁾, há já 35 anos, que os definiram como substâncias que são produzidas por microrganismos e que promovem o crescimento de outros microrganismos. Mais tarde, Fuller ⁽²⁾, retomou a designação, definindo probióticos como alimentos suplementados com microrganismos vivos que produzem efeitos benéficos no hospedeiro através da melhoria do seu balanço microbiano intestinal.

Um documento de consenso recentemente elaborado na Europa ⁽³⁾, define probiótico como um alimento que incorpora microrganismos vivos (lactobacilos, bifidobactérias) e que, consumido em quantidades suficientes, deve produzir efeitos benéficos para a saúde e para o bem-estar, para além dos efeitos nutricionais habituais. Esta definição é bastante abrangente, mas é, simultaneamente, limitativa, por só considerar microrganismos vivos e vaga, por introduzir a noção de bem-estar, expressão muito subjectiva e, como tal, ela própria difícil de definir.

Possivelmente, a definição mais adequada é a de

Saavedra e Abihanna ⁽⁴⁾, que consideram como probiótico todo o suplemento alimentar microbiano que, quando ingerido, tem um efeito positivo na prevenção ou tratamento de determinada situação patológica.

RESISTÊNCIA À COLONIZAÇÃO

A manutenção de uma flora microbiana intestinal normal desempenha um papel muito importante na **resistência à colonização**, a qual traduz a hostilidade do conjunto das bactérias indígenas à instalação das bactérias recém-chegadas ao ecossistema microbiano intestinal. Esta resistência pode ser ajudada por factores inerentes ao próprio hospedeiro ⁽⁵⁾ e, no conjunto de ambas as acções, podemos considerar: a) a acidez gástrica, os ácidos biliares e os enzimas pancreáticos, responsáveis, no seu conjunto, pela morte de muitas bactérias; b) os movimentos peristálticos que dificultam a fixação das bactérias à mucosa, principalmente, no intestino delgado; c) a competição por nutrientes, incluindo a mucina segregada pelas células calciformes, as células epiteliais descamadas e produtos da lise bacteriana; d) factores nutricionais (oligossacáridos e glicoconjugados) bloqueantes da aderência bacteriana exógena à membrana dos enterócitos e colonócitos ^(6, 7); e) competição na aderência aos receptores epiteliais da mucosa intestinal; f) antibióticos (bactericinas) produzidos pelas bactérias da microflora contra as bactérias invasoras; g) reconhecimento por parte do sistema imunológico local das bactérias autóctones, conduzindo, em relação a estas, a uma situação de tolerância imunológica ⁽⁸⁾.

DESENVOLVIMENTO DA MICROFLORA INTES-TINAL

À nascença, o intestino do recém-nascido é estéril, mas, rapidamente, vai sendo colonizado por bactérias oriundas do meio que o rodeia, muito particularmente, por bactérias da microflora intestinal da sua mãe.

Correspondência: Jaime Salazar de Sousa
Av. da República, 64 - 6.º
1050-197 Lisboa
Tel. e Fax 21 796 66 55

O meio intestinal do recém-nascido tem uma tensão de oxigénio elevada, favorecendo, assim, a colonização por bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas, tais como a *Escherichia coli* e outras enterobacteriáceas e cocos Gram-positivos⁽⁹⁾. Com o desenvolvimento destas bactérias, a disponibilidade de oxigénio diminui e as bactérias anaeróbias começam a desenvolver-se a ponto de se tornarem largamente dominantes ao fim das primeiras semanas de vida.

A dieta do bebé assume, então, grande importância. No lactente alimentado ao peito as bifidobactérias predominam existindo também lactobacilos e estreptococos; enquanto que no lactente alimentado com fórmula, a microflora é mais diversificada e mais parecida com a do adulto, com predomínio de bacteróides, para além das bifidobactérias, *E. coli*, clostrídias e estafilococos⁽¹⁰⁾. Depois do desmame, o predomínio das bifidobactérias desaparece e, a partir dos 2 anos de idade, a microflora intestinal da criança vai ficando sensivelmente igual à do adulto⁽¹¹⁾, no qual as bactérias anaeróbias predominam sobre as aeróbias facultativas na proporção de 100 a 1000 para 1⁽⁹⁾.

OBJECTIVO E CARACTERÍSTICAS DO PROBIÓTICOS

O objectivo da utilização dos probióticos é o de aumentar o número e a actividade dos microrganismos intestinais detentores de propriedades úteis ao hospedeiro⁽¹²⁾. Neste sentido, as condições a que deve obedecer um bom probiótico são: a) resistência ao ácido do estômago, à bÍlis e aos enzimas pancreáticos; b) uma adequada aderência às células epiteliais do intestino; c) uma boa capacidade de colonização; d) produção de substâncias antimicrobianas contra as bactérias patogénicas; e) comprovados efeitos benéficos para a saúde⁽¹³⁾.

Das condições referidas, uma única é verdadeiramente fundamental: a dos efeitos benéficos para a saúde. De facto, embora a aderência das bactérias às microvilosidades intestinais seja uma condição importante para a colonização, ela não é, apesar de tudo, essencial, principalmente no cólon onde a velocidade de trânsito do conteúdo intestinal é muito menor que no intestino delgado⁽¹⁴⁾. Por outro lado, há referência a probióticos inactivados pelo calor (mortos), que são, apesar disso, capazes de inibir a aderência de bactérias patogénicas a células epiteliais humanas em cultura⁽¹⁵⁾ e, o que é mais importante, exercerem, quando ingeridas, efeitos benéficos para a saúde do hospedeiro^(16, 17). Isto só comprova que a nossa ignorância relativamente aos mecanismos subjacentes à acção dos probióticos é, ainda, grande. Seja como for, a selecção de um bom probiótico continua a obedecer às condições acima enumeradas.

MECANISMOS DE ACÇÃO DOS PROBIÓTICOS

Vários mecanismos têm sido sugeridos para fundamentar a acção dos probióticos, designadamente: a) actividade antimicrobiana (para as bactérias patogénicas) através da produção de bactericinas⁽⁵⁾; b) modificação do pH do meio, pela produção de ácidos gordos de cadeia curta, desfavoráveis ao desenvolvimento de muitas outras bactérias; c) competição pela disponibilidade de nutrientes e na fixação às células epiteliais da mucosa; d) regulação para um nível mais elevado da secreção de mucina, o que poderia proteger a mucosa intestinal contra infecções⁽¹⁸⁾; e) imunomodulação, estimulando a fagocitose e a imunidade humoral e modificando a produção de citoquinas^(19, 20); f) acção inibidora, ao nível do cólon, da actividade enzimática bacteriana responsável pela transformação de algumas substâncias precancerígenas em carcinogénios^(13, 21-23).

PROBIÓTICOS MAIS UTILIZADOS

Um preparado probiótico pode conter uma ou mais estirpes de microrganismos. Os probióticos mais utilizados são estirpes de bactérias produtoras de ácido láctico, por exemplo, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus*. Várias bactérias dos dois primeiros géneros preenchem as condições atrás referidas para um bom probiótico. São consideradas componentes importantes da microflora intestinal e a enorme experiência acumulada com o seu uso leva a considerá-las praticamente inofensivas. Inibem o crescimento em cultura da *Salmonella typhimurium*, do *Staphylococcus aureus*, da *E. coli*, do *Clostridium perfringens* e do *Clostridium difficile*. Têm sido utilizados no tratamento de inúmeras situações patológicas.

Um outro probiótico, o *Saccharomyces boulardii*, um fungo, tem também sido utilizado na prevenção e tratamento de algumas doenças e tem a particularidade de ter o seu melhor desenvolvimento a 37 graus centígrados e de não ser afectado pela administração concomitante de antibacterianos⁽¹²⁾.

A comprovação da eficácia preventiva ou terapêutica de determinado probiótico não pode ser extrapolada a outras bactérias do mesmo género, nem sequer da mesma espécie, dado que o resultado obtido com cada uma das diferentes estirpes da mesma espécie pode, também ele, ser diferente^(18, 23).

UTILIZAÇÃO PREVENTIVA OU TERAPÊUTICA DOS PROBIÓTICOS

Intolerância à Lactose

Será, provavelmente, uma das utilizações dirigidas mais antigas dos probióticos, pois desde há muito se sabe que o yogurt é muito melhor suportado que o leite pelos

indivíduos intolerantes à lactose ⁽²⁴⁾. Esta melhor tolerância tem sido atribuída à redução do conteúdo em lactose no yogurt, devido à fermentação por parte das bactérias produtoras de ácido láctico, à actividade lactásica das próprias bactérias envolvidas e, também, à menor velocidade de esvaziamento gástrico do yogurt em relação ao leite ⁽²³⁾.

Intolerância à Sacarose-Isomaltose

Tal como sucedeu com a intolerância à lactose, a administração de um probiótico, neste caso o *Saccharomyces cerevisiae*, a indivíduos com deficiência em sacarase-isomaltase melhorou a sintomatologia e reduziu a quantidade de hidrogénio expirado ⁽²⁵⁾.

Diarreia Associada aos Antibióticos

Vários estudos têm comprovado a eficácia dos probióticos na prevenção e no tratamento da diarreia associada aos antibióticos ^(12, 21, 26, 27). De entre os probióticos utilizados, os mais comuns têm sido as bifidobactérias, os lactobacilos e o *Saccharomyces boulardii*. Este último e o *Lactobacillus casei* estirpe GG têm sido particularmente eficazes na recorrência da colite pseudomembranosa provocada pelo *Clostridium difficile* ^(28, 29).

Diarreia Aguda Infecciosa

O maior número de estudos pediátricos com probióticos tem incidido quer na prevenção ^(4, 30-36), quer no tratamento ^(4, 17, 37-45) da diarreia aguda infecciosa. Nos ensaios preventivos verificou-se uma diminuição significativa da incidência de diarreia nas crianças que ingeriram probióticos, em comparação com os controlos. Nos ensaios terapêuticos, o conjunto dos resultados aponta para diferenças significativas a favor dos grupos com probióticos, no que respeita à intensidade e duração da diarreia, ao número de dias de internamento e ao número de dias em que os vírus são eliminados, nos casos de diarreia provocada pelo rotavírus.

Nestes estudos, o probiótico mais utilizado foi o *Lactobacillus casei* GG ^(32-34, 38-, 40, 42, 43, 45) e, com menor frequência, outros lactobacilos ^(31, 35, 39, 41, 44), bifidobactérias ^(30, 36) e o *Saccharomyces boulardii* ⁽³⁷⁾.

Diarreia do Viajante

A possibilidade de prevenir esta diarreia através da ingestão de probióticos não está convincentemente demonstrada. O recurso a diferentes probióticos tem dado resultados contraditórios e, dentro de um mesmo grupo de indivíduos, o efeito do probiótico variou consoante o local de destino dos viajantes ^(4, 12, 21).

Doenças Inflamatórias Crónicas do Intestino

Um ensaio comparando o tratamento da colite ulcerosa,

quer com mezalazina, quer com uma estirpe não patogénica de *E. coli*, revelou resultados semelhantes ⁽⁴⁶⁾. Um estudo recente, embora preliminar e aberto, em crianças com doença de Crohn revelou resultados positivos com a utilização do *Lactobacillus* GG ⁽⁴⁷⁾. Outro estudo recente, confirma a utilidade dos probióticos no tratamento e prevenção da inflamação crónica da bolsa ileal na anastomose ileo-anal ⁽⁴⁸⁾. Num artigo de revisão, Campieri e Gionchetti ⁽⁴⁹⁾ consideram o uso de probióticos como bastante promissor na colite ulcerosa e na doença de Crohn e como comprovado na inflamação crónica da bolsa ileal.

Outras Situações Gastroenterológicas

Têm sido referidos resultados promissores na **Síndrome do Intestino Curto** ⁽¹⁸⁾, na **Alergia Alimentar**, nomeadamente no eczema atópico ⁽¹⁹⁾, provavelmente devido à melhoria da inflamação intestinal ⁽⁵⁰⁾ e à diminuição da permeabilidade intestinal, previamente aumentada ⁽⁵¹⁾; na **Diarreia Provocada pelo VIH** ⁽¹²⁾; na **Hipertensão Portal Associada à Cirrose Hepática**, provavelmente através da redução da endotoxémia que, com frequência, precede a hemorragia ⁽⁵²⁾.

Outras Situações não Gastroenterológicas

Hipercolesterolemia – Os resultados são controversos. Um dos mecanismos invocados seria o da desconjugação dos ácidos biliares que, assim, seriam furtados à reabsorção intestinal. A verificar-se esta hipótese, haveria o perigo dos ácidos biliares desconjugados se convertessem em ácidos biliares secundários, considerados como potencialmente carcinogénicos para o cólon ⁽²³⁾.

Hipertensão Arterial – Os resultados são promissores ⁽⁵³⁾. O efeito hipotensor parece dever-se a dois tripéptidos existentes no leite fermentado, que actuariam como inibidores do enzima de conversão da angiotensina I ⁽²³⁾.

Infecções Urogenitais – Foi referida a prevenção de vaginites ⁽⁵⁴⁾ ou de infecções urinárias recorrentes ⁽⁵⁵⁾ pela ingestão de probióticos ou pela sua aplicação local, respectivamente. O efeito teria lugar através da recolonização do tracto vaginal com lactobacilos.

Cancro – Vários ensaios clínicos sugerem a possibilidade de prevenir o cancro, particularmente o cancro colorectal com a administração de probióticos ⁽¹²⁾. Alguns resultados são, contudo, discordantes ⁽⁵⁶⁾. Os mecanismos através dos quais os probióticos exerceriam esta acção preventiva seriam múltiplos e, em particular, a inibição da actividade enzimática responsável pela transformação de substâncias precancerígenas em carcinogénicos ^(12, 23).

Fibrose Quística – Um estudo controlado revelou que o *Lactobacillus* GG reduziu significativamente a

incidência de infecções respiratórias em crianças com FQ⁽⁵⁷⁾. É possível que este efeito seja mediado pela acção imunoestimulante do probiótico.

SEGURANÇA NA UTILIZAÇÃO DOS PROBIÓTICOS

Centenas de anos de experiência com o uso de produtos lácteos fermentados por bactérias produtoras de ácido láctico, atestam a sua inocuidade. Uma extensa revisão de ensaios clínicos com probióticos abrangendo mais de 7.500 indivíduos não evidenciou quaisquer efeitos indesejáveis⁽²⁶⁾. Como excepção foram descritos raros casos de sépsis a *Saccharomyces boulardii*⁽⁵⁸⁾ e um caso de abscesso hepático provocado por uma estirpe de *Lactobacillus rhamnosus*⁽⁵⁹⁾.

Não estão suficientemente documentados efeitos indesejáveis de ordem metabólica ou imunológica associados à ingestão de probióticos⁽⁶⁰⁾. Por outro lado, a resistência à vancomicina por parte de muitos lactobacilos não é transmissível a outras bactérias intestinais⁽²¹⁾.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A luta entre o homem e as bactérias que afectam a sua saúde parece estar a desenvolver-se favoravelmente a estas últimas, devido à progressiva emergência de resistências aos antibióticos. O recurso aos probióticos para prevenir ou tratar várias situações patológicas que afectam o ser humano, nomeadamente doenças do foro infeccioso, constitui um campo de investigação promissor. A perspectiva probiótica é, assim, bem-vinda, necessitando, no entanto, para se impor, de um maior suporte científico, alcançável através da investigação, tanto clínica, como básica.

Os ensaios clínicos deverão ser prospectivos, randomizados, controlados com placebo, em dupla ocultação e, de preferência, multicêntricos. Nestes ensaios será conveniente respeitar certas condições, a saber⁽⁶¹⁾: a) utilizar uma taxonomia internacionalmente aceite, para que cada probiótico seja designado da mesma forma pelos vários investigadores; b) estabelecer uma relação de causa e efeito entre determinado probiótico e a sua consequência benéfica para o hospedeiro; c) utilizar quantidades bem definidas de probiótico e tentar determinar qual a menor quantidade necessária para conseguir o efeito desejado; d) procurar o veículo mais adequado (pó, líquido, produto lácteo) para alcançar o maior efeito; e) utilizar apenas associações de probióticos com a finalidade de averiguar se o efeito da mistura é superior ao de cada probiótico ingerido isoladamente, ou, então, só depois dessa eventual superioridade ter sido comprovada. A possibilidade de aumentar a eficácia dos probióticos pela sua associação a prebióticos (ingredientes alimentares não

digeríveis que estimulam o crescimento e/ou a actividade das bactérias intestinais promotoras de efeitos benéficos para o hospedeiro) deve ser mais intensamente averiguada.

A par dos ensaios clínicos será necessário conhecer melhor os mecanismos de acção dos probióticos que, de meras hipóteses, têm de passar a factos comprovados. A cinética de cada probiótico deverá ser estudada com um rigor que se aproxime, tanto quanto possível, do utilizado para o estudo dos quimiofármacos.

Só então os probióticos poderão alcançar a credibilidade científica de que actualmente carecem, apoiando os médicos na prática da tão propalada medicina baseada na evidência.

Bibliografia

- Lilley DM, Stillwell RIL – Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. *Science* 1965; 147: 747-8.
- Fuller R – Probiotics in human medicine. *Gut* 1991; 32: 439-42.
- Diplock AT, Agget PJ, Ashwell M, Bornet F, Fern EB, Roberfroid MB – Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. *Br J Nutr* 1999; 81: S1-S27.
- Saavedra JM, Abi-Hanna A – Clinical studies of probiotic agents. *In: Hanson LA, Yolken RH, eds – Probiotics, other nutritional factors and intestinal microflora. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999: 271-84.*
- Van der Waaij D – Microbial ecology of the intestinal microflora: influence of interactions with the host organism. *In: Hanson LA, Yolken RH, eds – Probiotics, other nutritional factors and intestinal microflora. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999: 1-15.*
- Newburg DS – Oligosaccharides in human milk and bacterial colonization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: S8-S17.
- Dai D, Nanthkumar NN, Newburg DS, Walker WA – Role of oligosaccharides and glycoconjugates in intestinal host defense. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31: S23-S33.
- Duchmann R, Kaiser I, Hermann E, Mayet W, Ewe K, Meyer zum Buschenfelde KH – Tolerance exists towards resident intestinal flora but is broken in active inflammatory bowel disease (IBD). *Clin Exp Immunol* 1995; 102: 448-55.
- Adlerberth I – Establishment of a normal intestinal microflora in the newborn infant. *In: Hanson LA, Yolken RH, eds – Probiotics, other nutritional factors and intestinal microflora. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999: 63-76.*
- Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo ACM, Raangs GC, Wagendorp NK, et al – Analyses of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 61-7.
- Collins MA, Gibson G – Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am J Clin Nutr* 1999; 69 (suppl): 1052S-1057S.
- Rolfe RD – The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J Nutr* 2000; 130 (2S suppl): 396S-402S.
- Gorbach SL – Probiotics and gastrointestinal health. *Am J Gastroenterol* 2000; 95 (suppl 1): 2-4.
- Wold AE – Role of bacterial adherence in the establishment of the normal intestinal microflora. *In: Hanson LA, Yolken RH, eds – Probiotics, other nutritional factors and intestinal microflora. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999: 47-59.*
- Coconnier MH, Bernet MF, Chauvière G, Servin A – Adhering heat-killed human *L. acidophilus* LB, inhibits the process of

- pathogenicity of diarrheagenic microorganisms in cultured human intestinal cells. *J Diarrhoeal Dis Res* 1993; 11: 235-42.
16. Kaila M, Isolauri E, Saxelin M, Arvilommi, Vesikari T – Viable versus inactivated lactobacillus strain GG in acute rotavirus diarrhoea. *Arch Dis Child* 1995; 72: 51-3.
 17. Simakachorn N, Pichaipat V, Rithipornpaisarn P, Kongkaew C, Tongpradit P, Varavithya W – Clinical evaluation of the addition of lyophilized, heat killed *Lactobacillus acidophilus* LB to oral rehydration therapy in the treatment of acute diarrhea in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 68-72.
 18. Vanderhoof JA – Probiotics and intestinal inflammatory disorders in infants and children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30 (suppl 2): S34-S38.
 19. Isolauri E – Immune effects of probiotics. In: Hanson LA, Yolken RH, eds – Probiotics, other nutritional factors and intestinal microflora. Philadelphia: Lippincot-Raven, 1999: 229-37.
 20. Erickson KL, Hubbard NE – Probiotic immunomodulation in health and disease. *J Nutr* 2000; 130 (2S suppl): 403S-409S.
 21. Vanderhoof JA, Young RJ – Use of probiotics in childhood gastrointestinal disorders. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 27: 323-32.
 22. Fuller R – Modulation of the intestinal microflora by probiotics. In: Hanson LA, Yolken RH, eds. Probiotics, other nutritional factors and intestinal microflora. Philadelphia: Lippincot-Raven, 1999: 33-42.
 23. Sanders ME – Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J Nutr* 2000; 130 (2S suppl): 384S-390S.
 24. Kolars JC, Levitt MD, Aouji M, Savaiano DA – Yogurt: an autodigesting source of lactose. *N Engl J Med* 1984; 310: 1-3.
 25. Harms HK, Bertele-Harms RM, Bruer-Kleis D – Enzyme-substitution therapy with the yeast *Saccharomyces cerevisiae* in congenital sucrase – isomaltase deficiency. *N Engl J Med* 1987; 316: 1306-9.
 26. Saavedra JM – Probiotics plus antibiotics: regulating our bacterial environment. *J Pediatr* 1999; 135: 535-7.
 27. Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL, Hanner TL, Lupo JV, Young RJ – *Lactobacillus* GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *J Pediatr* 1999; 135: 564-8.
 28. Butts JP, Corthier G, Delmee M – *Saccharomyces boulardii* for clostridium difficile-associated enteropathies in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 16: 419-25.
 29. Biller JA, Katz AJ, Flores AF, Buie TM, Gorbach SL – Treatment of recurrent *Clostridium difficile* colitis with *Lactobacillus* GG. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 21: 224-6.
 30. Saavedra JM, Bauman NA, Oung I, Perman JA, Yolken RH. Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhea and shedding of rotavirus. *Lancet* 1994; 344: 1046-9.
 31. Ribeiro H, Vanderhoof JA – Reduction of diarrheal illness following administration of *Lactobacillus plantarum* 299v in a daycare facility (abstract). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 265: 561.
 32. Oberhelman RA, Gilman RH, Sheen P, Taylor DN, Black RE, et al – A placebo-controlled trial of *Lactobacillus* GG to prevent diarrhea in undernourished Peruvian children. *J Pediatr* 1999; 134: 15-20.
 33. Dupont HL – Prevention of diarrhea by the probiotic *Lactobacillus* GG. *J Pediatr* 1999; 134: 1-2.
 34. Costa Ribeiro H, Ribeiro TCM, Mattos AP, Lins EV, Neri DA, et al – Prophylactic administration of *Lactobacillus* GG to children in a daycare center (abstract). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31 (suppl 2): S252.
 35. Solomons NW, Bulux J, Parreño F, Romero-Abal ME; Klassen P – Incidence of diarrhea episodes with or without daily feeding of *Lactobacillus paracasei* NCC 2461 (abstract). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31 (suppl 2): S254.
 36. Varavithya W, Phuapradit P, Vathanophas K, Sangchai R, Suthutvoravut U, et al – Prevention of severe rotavirus infection in children receiving bifidobacteria-supplemented formula (abstract). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31 (suppl 2): S254.
 37. Chapoy P – Treatment of acute infantile diarrhea: controlled trial of *Saccharomyces boulardii*. *Ann Pediatr (Paris)* 1985; 32: 561-3.
 38. Isolauri E, Juntunen M, Rautanen T, Sillanaukee P, Koivula T – A human lactobacillus strain (*Lactobacillus casei* sp strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children. *Pediatrics* 1991; 88: 90-7.
 39. Majamaa H, Isolauri E, Saxelin M, Vesikari T – Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 20: 333-8.
 40. Raza S, Graham SM, Allen SJ, Sultana S, Cuevas L, Hart CA – *Lactobacillus* GG promotes recovery from acute nonbloody diarrhea in Pakistan. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 107-11.
 41. Shornikova AV, Casas IA, Isolauri E, Mykkanen H, Vesikari T – *Lactobacillus reuteri* as a therapeutic agent in acute diarrhea in young children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 24: 399-404.
 42. Guarino A, Canani RB, Spagnuolo MI, Albano F, Di Benedetto L – Oral bacterial therapy reduces the duration of symptoms and of viral excretion in children with mild diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 25: 516-9.
 43. Rautanen T, Isolauri E, Salo E, Vesikari T – Management of acute diarrhea with low osmolarity oral rehydration solutions and *Lactobacillus* strain GG. *Arch Dis Child* 1998; 79: 157-60.
 44. Ahmad RA, Lukito W, Firmansyah A, Gliwitzki M, Suhardjo HN, Suhermawan R – Effect of a combined probiotic, prebiotics and micronutrients supplementation in reducing duration of acute infantile diarrhea (abstract). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31 (suppl 2): S251.
 45. Costa Ribeiro H, Ribeiro TCM, Mattos AP, Almeida PS, Valois SS, Vanderhoof JA – Use of *Lactobacillus* GG in the treatment of severe acute diarrhea in adverse environmental conditions (abstract). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31 (suppl 2): S251.
 46. Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, Chalmers DM, Axon ATR – Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. *Lancet* 1999; 354: 635-9.
 47. Gupta P, Andrew H, Kirschner BS, Guandalini S – Is *Lactobacillus* GG helpful in children with Crohn's disease? Results of a preliminary, open-label study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31: 453-7.
 48. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Brigidi P, Matteuzzi D, et al – Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2000; 119: 305-9.
 49. Campieri M, Gionchetti P – Probiotics in inflammatory bowel disease: new insight to pathogenesis or a possible therapeutic alternative? *Gastroenterology* 2000; 116: 1246-9.
 50. Majamaa H, Miettinen A, Laine S, Isolauri E – Intestinal inflammation in children with atopic eczema: faecal eosinophil cationic protein and tumor necrosis factor- α as noninvasive indicators of food allergy. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 181-7.
 51. Majamaa H, Isolauri E – Evaluation of gut mucosal barrier: evidence for increased antigen transfer in children with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 985-90.
 52. De Santis A, Famularo G, De Simone C – Probiotics for the haemodynamic alterations of patients with liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 323-4.
 53. Hata Y, Yamamoto M, Ohni M, Nakajima K, Takano T – A placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. *Am J Clin Nutr* 1996; 64: 767-71.
 54. Hilton E, Isenberg HD, Alperstein P, France K, Borenstein MT – Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* as

- prophylaxis for candidal vaginitis. *Ann Intern Med* 1992; 116: 353-7.
55. Reid G, Bruce AW – Low vaginal pH and urinary-tract infection. *Lancet* 1995; 346: 1704.
56. Roos NM, Katan MB – Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 405-11.
57. Guarino A – Effects of probiotics in children with cystic fibrosis. *Gastroenterol Int* 1998; 11: 91.
58. Pletinex M, Legein J, Vandenplas Y – Fungicemia with *Saccharomyces boulardii* in a 1-year-old girl with protracted diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 21: 113-5.
59. Rautio M, Jousimies-Somer H, Kauma H – Liver abscess due to a *Lactobacillus rhamnosus* strain indistinguishable from *L. rhamnosus* strain GG. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 1159-60.
60. Marteau P, Salminen S – Safety of probiotics. In: Hanson LA, Yolken RH, eds – Probiotics, other nutritional factors and intestinal microflora. Philadelphia: Lippincott-Raven 1999: 259-67.
61. Klaenhammer TR – Probiotic bacteria: today and tomorrow. *J Nutr* 2000; 130 (2S suppl): 415S-416S.