

Mehanizmi probiotičkog bakterijskog soja *Streptococcus salivarius* K12 u obrani kod ORL infekcija



Recidivirajuće infekcije uha, nosa i grla

Od akutnih i kroničnih bolesti uha, nosa i grla tijekom zimskih mjeseci pate i djeca i odrasli. Stope incidencije u pedijatriji su oko 3 do 8 infekcija godišnje, u 10 do 15% oboljele djece čak 12 infekcija godišnje ⁽¹⁾. Uz prehladu i kašalj, često ponavljajuće infekcije gornjih dišnih puteva uključuju znatno problematičnije infekcije srednjeg uha, sinusa i tonzila. Infekcije su virusnog ili bakterijskog podrijetla, a česta, prebrza i neindicirana uporaba antibiotika rezultira povećanjem rezistencije bakterijskih patogena ⁽²⁾. Osim toga, povećava se rizik od razvoja astme ako se bolesti dišnog sustava često javljaju u djetinjstvu ⁽²⁾.

Otitis media i faringotonzilitis

U pedijatriji su akutne i kronične infekcije uha i grla najčešći razlozi posjeta liječniku. Infekcija srednjeg uha (otitis media) zahvaća oko 80% sve djece barem jednom ^(3,4). Upala srednjeg uha zaslužna je za veliku potrošnju antibiotika, koji niti štite od ponovnih infekcija niti značajno smanjuju trajanje bolesti ⁽⁵⁾. Kod akutne upale srednjeg uha, klice poput *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* ili *Streptococcus pyogenes* ⁽⁵⁾ iz nazofarinksa se preko eustahijeve cijevi dižu u srednje uho, gdje izazivaju upalu ^(4,5). Iznad svega, nakupljanje sekreta uzrokuje jaku bol u oboljelih i u mnogim slučajevima zahtijeva umetanje timpanostome za drenažu srednjeg uha ⁽⁶⁾. Mnoga djeca koja boluju od recidivirajuće upale srednjeg uha pokazuju povećanu brojnost navedenih patogenih mikroorganizama u nazofarinksu, a manji broj komenzalnih bakte-

rijskih sojeva, posebice simbiotskih streptokoka ⁽⁷⁾. Isto je pronađeno i kod djece s ponavljajućim faringotonzilitisom (upala grla i tonzila). U slučaju čestih oboljenja, farmakološka terapija je dugoročno neuspješna, pa često kao pomoćna intervencija ostaje samo tonzilektomija (kirurško uklanjanje krajnika) ⁽⁸⁾.

Međutim, znanstvena saznanja stečena u posljednjem desetljeću upućuju na to da oralni mikrobiom ima ključnu funkciju u prevenciji i borbi protiv ponavljajućih ORL infekcija ⁽⁹⁻¹¹⁾. Ovo znanje otvara puteve za terapijske strategije bez upotrebe antibiotika, ali s fokusom na jačanje imunskog sustava kako bi se spriječile infekcije. Komenzalne bakterije, koje se danas koriste u brojnim kliničkim studijama, podržavaju naše tijelo modulirajući imunski sustav, proizvodeći antimikrobne peptide i izravno inaktivirajući patogene. Drugi važan mehanizam u obrani od bolesti je jačanje barijera sluznice, što se događa kolonizacijom epitelnih površina važnim vodećim ključnim bakterijskim sojevima i rezultirajućom stimulacijom proizvodnje sluzi.

Nakupljanje patogena u srednjem uhu kod upale



Ključna uloga oralnog mikrobioma kod ORL infekcija

Usna šupljina kao veza između čovjekove okoline i dišnog, kao i probavnog trakta ima središnju ulogu u imunom sustavu. Disbioza oralnog mikrobioma povećava osjetljivost na ORL infekcije, ali i na halitozu, parodontitis, karijes i sistemske bolesti poput kardiovaskularnih problema, artritičnih oboljenja ili plućnih bolesti – uzrokovanih upornim upalnim reakcijama ^(12–16). Zdrav oralni mikrobiom sadrži oko 800 do 1000 vrsta bakterija u individualnom sastavu, koji varira ovisno o dobi, načinu života i zdravstvenom stanju. Što je oralna mikrobiota raznovrsnija, to je veća otpornost na kolonizaciju patogena, budući da se mikroorganizmi natječu za hranjive tvari i dostupne površine. Kroz ove mehanizme osigurava se da pojedine vrste ne prevladaju. Osim toga, otežan je i prodor patogena, budući da komezalne bakterije otežavaju interakcije staničnih recep-

tora i neželjenih klica te na taj način sprječavaju staničnu infekciju. Uz to, mikroorganizmi živeći u simbiozi proizvode antitijela koja inhibiraju reprodukciju patogenih mikroorganizama ⁽¹⁹⁾. Ova svojstva nisu važna samo za suzbijanje ORL infekcija, već i karijesa, parodontitisa, halitozu, kao i za sistemsko zdravlje ^(20–22).

Usna šupljina predstavlja ulazna vrata za patogene



Mehanizmi djelovanja *Streptococcus salivarius* K12 za obranu od infekcija

Medicinski vrlo relevantna bakterija *Streptococcus salivarius* K12, koja je prirodno prisutna u flori usta i ždrijela, pripada obitelji fakultativno anaerobnih *Streptococcaceae* (Firmicutes, rod laktobacilli). Nakon rođenja, ova bakterija kolonizira usnu šupljinu i probavni trakt u roku od nekoliko minuta do sati kao prevladavajuća vrsta (do 40%)⁽²¹⁾. Probiotički soj *Streptococcus* ima sljedeća svojstva:

1. Modulacija imunskog sustava

Ovaj soj blokira proinflamatorne procese izazvane patogenim bakterijama ili virusima. Osim toga, *Streptococcus salivarius* K12 snažno stimulira protuupalne reakcije⁽²³⁾.

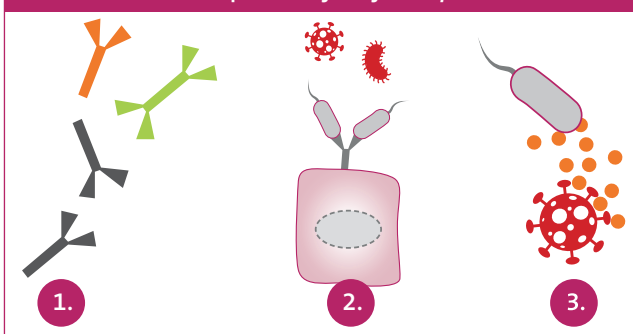
2. Blokada staničnih receptora

Streptococcus salivarius K12 posebno dobro prianja na epitelne površine nazofarinksa. Kao rezultat toga, ovaj mikroorganizam jača mukoznu barijeru i zauzima mjesta spajanja stanica, što nepoželjnim mikroorganizmima otežava vezivanje na stanične površine i prodor u stanice⁽²⁴⁾.

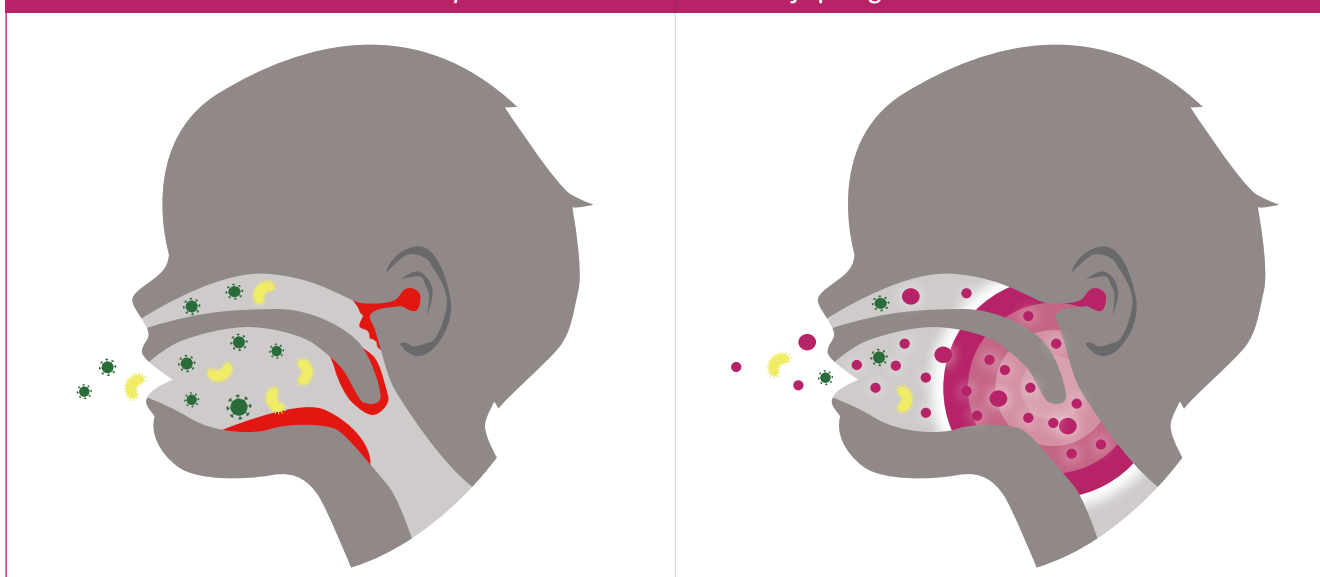
3. Proizvodnja antimikrobnih/antivirusnih tvari

Streptococcus salivarius K12 jedan je od proizvođača bakteriocina tzv. BLIS (Bacteriocin-like-inhibitory-substances). Pomoću ovih molekula ovaj bakterijski soj regulira rast usko povezanih vrsta streptokoka, posebno patogenih. Na taj način oralni mikrobiom je pozitivno moduliran, poboljšava se kolonizacija komenzalnih bakterija i kao rezultat nastaje jača obrana od infekcija^(23,25). Bakteriocini koje proizvodi *Streptococcus salivarius* K12 inhibiraju rast *Streptococcus mutans* (patogen karijesa), *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus pyogenes*⁽²⁶⁾, vrste koja pokazuje posebno visoku virulentnost i uzrokuje, između ostalog, streptokoknu anginu i šarlah⁽²⁷⁾. *Streptococcus salivarius* K12 također inhibira proliferaciju *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae* i *Streptococcus pneumoniae*, koji uzrokuju ORL upale⁽²⁸⁾.

Probiotičko ponašanje soja *Streptococcus*



Streptococcus salivarius K12 istiskuje patogene



Slika: Lijevo: Patogene klice pokreću upalu (crveno) nazofarinksa i srednjeg uha.

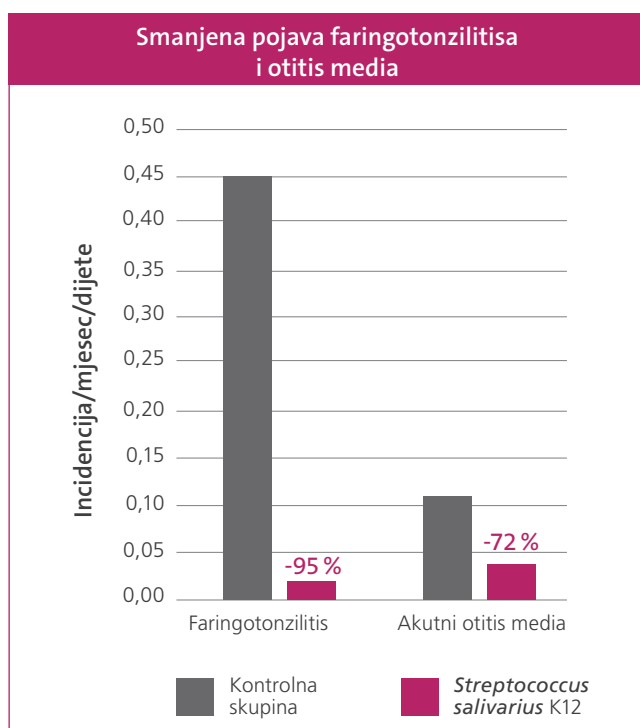
Desno: *Streptococcus salivarius* K12 stvara zaštitni štit i na taj način smanjuje ORL infekcije.

Kliničke studije sa *Streptococcus salivarius* K12 u prevenciji i liječenju ORL infekcija

U brojnim kliničkim studijama kod (recidivirajućeg) faringotonzilitisa i/ili upale srednjeg uha, *Streptococcus salivarius* K12 uspio je pokazati svoju izvanrednu funkciju u oralnom mikrobiomu putem oralne primjene u obliku pastile ^(3,4,28-32). Neke od ovih studija prikazane su u nastavku kao primjeri.

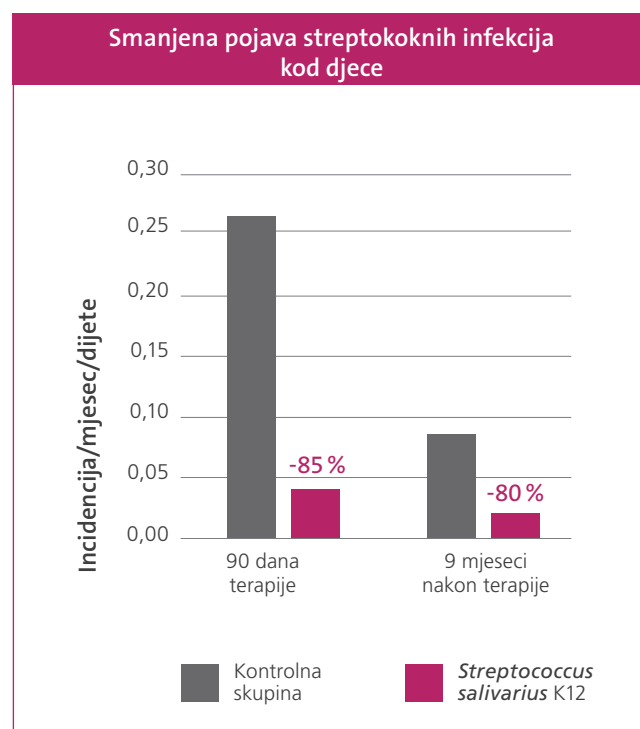
Značajno smanjenje incidencije infekcija kod recidivirajućeg faringotonzilitisa i otitis media pomoću *Streptococcus salivarius* K12

Oralno uzimanje ovog bakterijskog soja tijekom 90 dana značajno je smanjilo incidenciju faringotonzilitisa i otitis media kod djece od 3 do 12 godina ⁽³³⁾. Broj infekcija u trenutnoj godini kad je primijenjena terapija, uspoređen je s brojem iz prethodne godine (mjesečna stopa incidencije kao osnova za izračun). Tijekom promatranog razdoblja dogodilo se 95% manje infekcija faringotonzilitisa i 72% manje otitis media u odnosu na kontrolnu skupinu.



Slika: *Streptococcus salivarius* K12 smanjuje učestalost bakterijskog faringotonzilitisa i akutnog otitis media tijekom 90-dnevnog razdoblja terapije.

Studija sa 130 djece (od toga 76 u intervencijskoj skupini) s ponavljajućim streptokoknim faringotonzilitisom pokazala je usporedive rezultate ⁽¹¹⁾. Uzimanje *Streptococcus salivarius* K12 u obliku pastile jednom dnevno tijekom 90 dana značajno je smanjilo broj infekcija tijekom razdoblja terapije: smanjenje od 85% u intervencijskoj skupini u odnosu na kontrolnu skupinu. U sljedećem devetomjesečnom razdoblju promatranja, broj infekcija koje su se dogodile u intervencijskoj skupini ostao je nizak, sa smanjenjem od 80% u odnosu na kontrolnu skupinu.



Slika: Svakodnevna primjena pastile *Streptococcus salivarius* K12 značajno smanjuje pojavu bakterijskih infekcija u usporedbi s kontrolnom skupinom u 90-dnevnom razdoblju liječenja i u narednih 9 mjeseci.

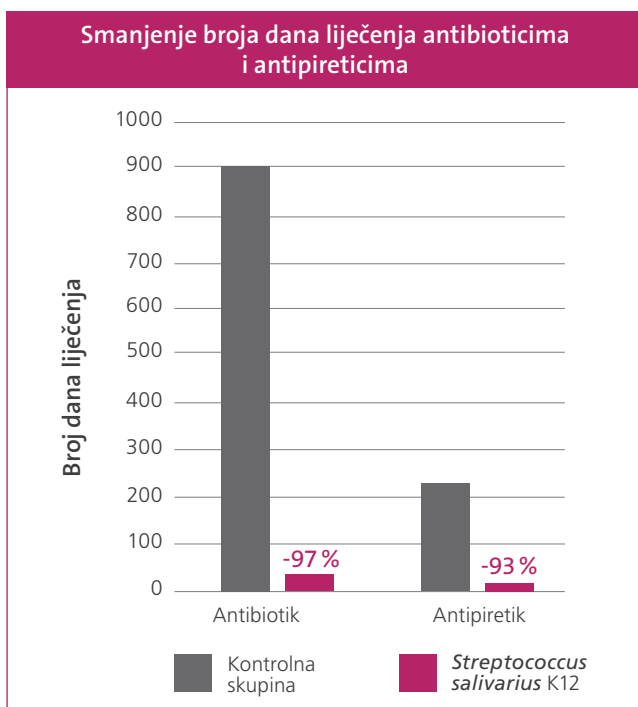
Streptococcus salivarius K12 smanjuje upotrebu antibiotika

Druga studija potvrđuje važnost *Streptococcus salivarius* K12 u prevenciji ponavljajućeg virusnog ili bakterijskog faringotonzilitisa ⁽³¹⁾. U istraživanju je sudjelovalo 60 djece u dobi od 3 do 13 godina koja su imala najmanje tri infekcije u jednom tromjesečju prethodne godine. Polovica djece uzimala je pastile *Streptococcus salivarius* K12 jednom dnevno tijekom 90 dana, druga polovica je služila kao kontrolna skupina. Tijekom razdoblja istraživanja djeca su bila pregledana na streptokokne i virusne infekcije. U usporednom razdoblju s prethodnom godinom, u interventnoj skupini s probiotikom ostvareno je smanjenje upotrebe antibiotika za 97%. Primjena lijekova protiv bolova također je u velikoj mjeri smanjena (93%).

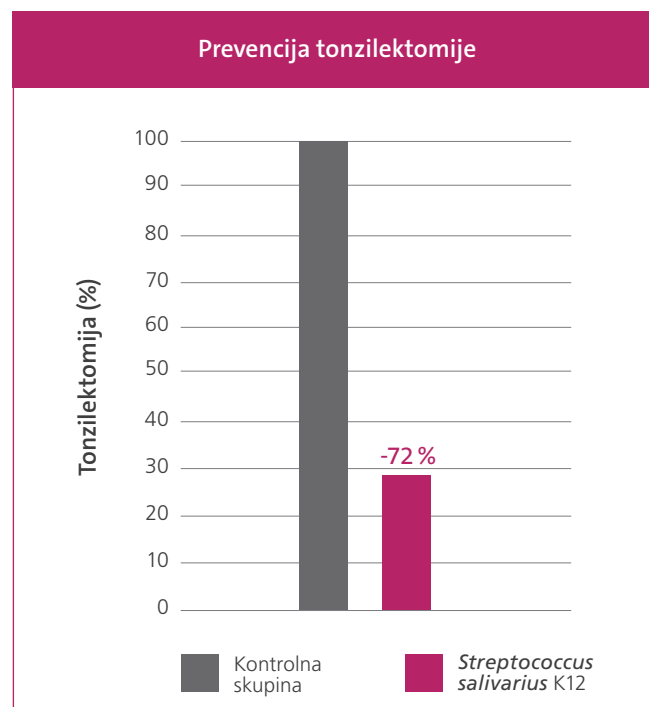
Streptococcus salivarius K12 sprječava planirane adenotonzilektomije

U slučaju recidivirajućeg faringotonzilitisa, kirurško odstranjenje ždrijelnih i nepčanih krajnika (adenotonzilektomija) često predstavlja izlaz iz stalno ponavljajućih upala grla. I ovdje je primjena *Streptococcus salivarius* K12 postigla izvanredne rezultate.

U pilot studiji istražen je potencijal *Streptococcus salivarius* K12 u prevenciji ponovnih infekcija kako bi se izbjegla planirana adenotonzilektomija ⁽⁸⁾. U istraživanje je uključeno ukupno 100 djece, od kojih je polovica primala *Streptococcus salivarius* K12 u obliku pastile tijekom 90 dana. U skupini koja je primala probiotike samo je 28% djece podvrgnuto planiranoj operaciji u odnosu na svu djecu u kontrolnoj skupini.



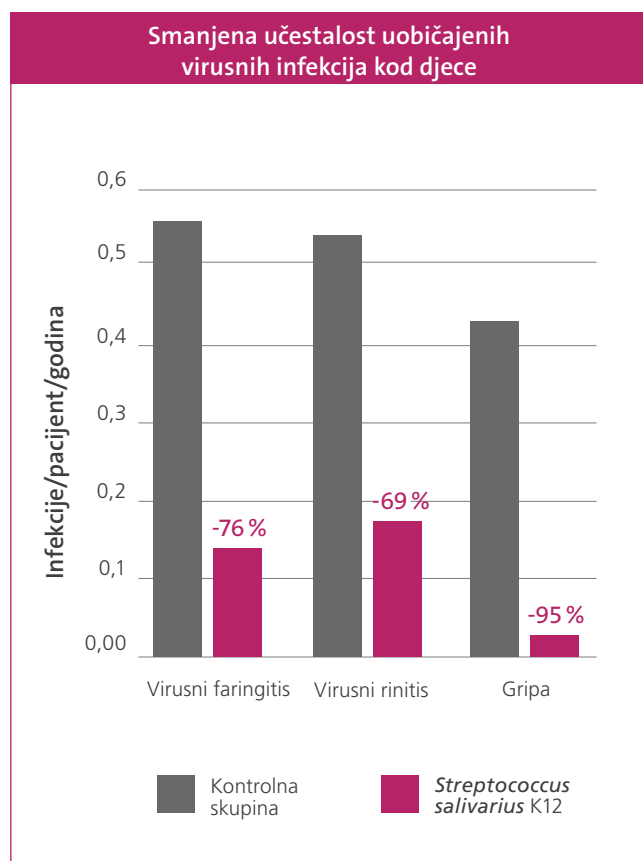
Slika: 90-dnevna primjena pastile *Streptococcus salivarius* K12 značajno smanjuje broj dana liječenja antibioticima i antipireticima u usporedbi s kontrolnom skupinom.



Slika: Primjenom *Streptococcus salivarius* K12 spriječeno je 72% planiranih tonzilektomija.

Streptococcus salivarius K12 sprječava virusne ORL infekcije

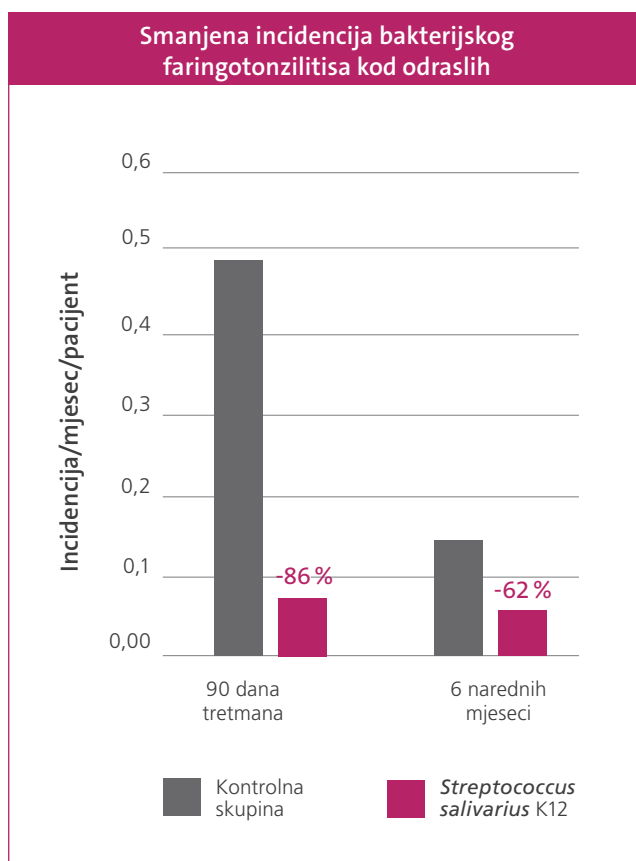
Ovaj bakterijski soj također je učinkovit u prevenciji virusnih ORL infekcija, što je jasno pokazala studija s ukupno 124 djece⁽³⁰⁾. Uzimanjem *Streptococcus salivarius* K12, osim smanjenja streptokoknog faringotonzilitisa, značajno je smanjena pojava virusnih grlobolja (76%), prehlade (69%) i gripe (95%) u odnosu na kontrolnu skupinu.



Slika: *Streptococcus salivarius* K12 smanjuje učestalost virusnih infekcija nosa i grla kao i gripe kod djece.

Učinkovito djelovanje *Streptococcus salivarius* K12 kod odraslih

Od ponavljajućih ORL infekcija pate i odrasli, a *Streptococcus salivarius* K12 postiže izvrsne rezultate u borbi protiv njih. U istraživanju je sudjelovalo 40 odraslih osoba koje su u prethodnoj godini bolovalе od najmanje četiri faringitisa i/ili tonzilitisa⁽³⁴⁾. Ispitanici su uzimali probiotičke pastile *Streptococcus salivarius* K12 kroz 90 dana. Tijekom razdoblja uzimanja došlo je do 90% smanjenja infekcija u skupini koja je uzimala probiotike. U sljedećem razdoblju promatranja od 6 mjeseci bilo je preko 60% manje infekcija nego u kontrolnoj skupini.



Slika: Primjena pastila *Streptococcus salivarius* K12 smanjuje streptokokni faringotonzilitis kod odraslih tijekom razdoblja terapije i narednih šest mjeseci.

Halitoza

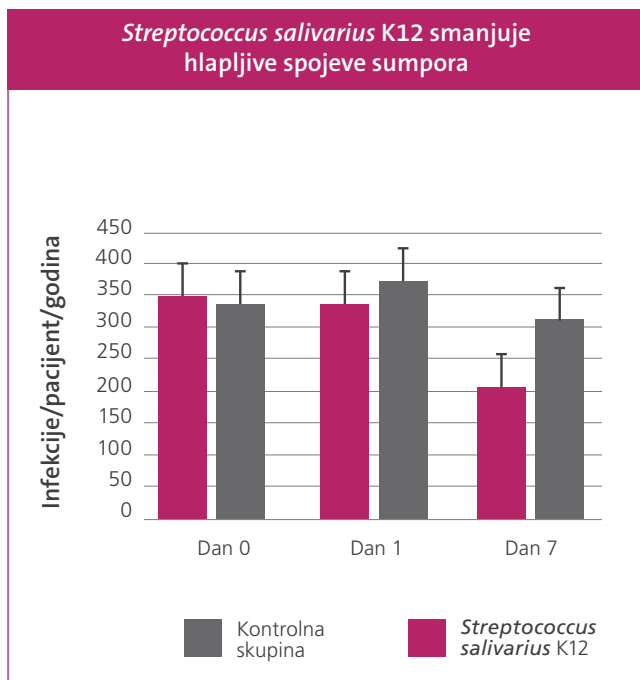
Hlapljive molekule, uključujući spojeve sumpora (VSC, volatile sulfur compounds) uzrokuju neugodan zadah. Iznad svega, neadekvatna bakterijska kolonizacija oralnog mikrobioma potiče stvaranje tvari neugodnog mirisa ⁽³⁵⁾. Samo u rijetkim slučajevima uzrok je u gastrointestinalnom području, kao u slučaju ezofagitisa ili gastritisa. *Streptococcus salivarius* K12 pokazuje obećavajuće rezultate u borbi protiv halitoze: uzimanje pastila (dva puta dnevno tijekom 30 dana) pokazalo je značajno smanjenje neugodnog zadaha za 50% u ovoj dvostruko slijepoj, randomiziranoj i placebo kontroliranoj studiji. Učinak je potrajao i nakon razdoblja intervencije ⁽³⁶⁾. Naslage na jeziku povezane s halitozom također su smanjene za 30% sa *Streptococcus salivarius* K12.

Još jedno znanstveno istraživanje potvrđuje ove rezultate: ispitanici u intervencijskoj skupini pokazali su značajno smanjenje hlapljivih sumpornih spojeva od 85%, za razliku od placebo skupine, u kojoj je ovo snažno smanjenje bilo mjerljivo samo kod 30% sudionika ⁽³⁷⁾. I u ovoj studiji *Streptococcus salivarius* K12 bio je je primijenjen u obliku pastila (jednom dnevno tijekom 28 dana).

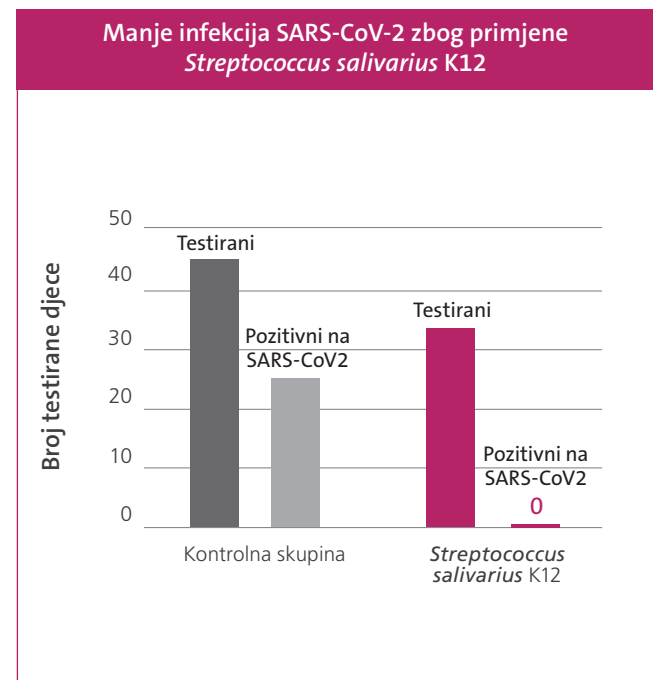
COVID-19

Virus SARS-CoV-2 koristi usnu šupljinu kao glavna ulazna vrata i zbog toga je već ovdje vrlo važna jaka imunosna obrana. Ova snažna imunosna obrana inaktivira virus i sprječava njegovo razmnožavanje. COVID-19 pacijenti imaju smanjen diverzitet komenzalnih mikroorganizama u oralnom, kao i u crijevnom i plućnom mikrobiomu ^(38,39). Usna šupljina predstavlja, između ostalog, izvor za mikrobnu kolonizaciju pluća, što znači da se može pretpostaviti da se eubiotički oralni mikrobiom, a time i eubiotički plućni mikrobiom, može suprotstaviti teškoj oboljenu COVID-19 infekcije i s njime povezanom citokinskom olujom, potencijalno opasnom po život ⁽⁴⁰⁾.

Podaci iz pilot studije sa 128 školske djece pokazuju da uzimanje jedne pastile *Streptococcus salivarius* K12 značajno reducira stopu infekcije SARS-CoV-2 ⁽⁴¹⁾. Djeca su bila testirana na SARS-CoV-2, zbog razvoja simptoma infekcije ili zbog statusa kontakta sa zaraženom osobom. U probiotičkoj intervencijskoj skupini nije bilo potvrđene COVID-19 infekcije (33 testa), ali su u kontrolnoj skupini potvrđene 24 infekcije (48 testova).



Slika: Prosječna količina hlapljivih sumpornih spojeva smanjuje se nakon 7 dana primjene *Streptococcus salivarius* K12.



Slika: Broj djece s pozitivnim testom na SARS-CoV-2 smanjuje se primjenom pastila *Streptococcus salivarius* K12.

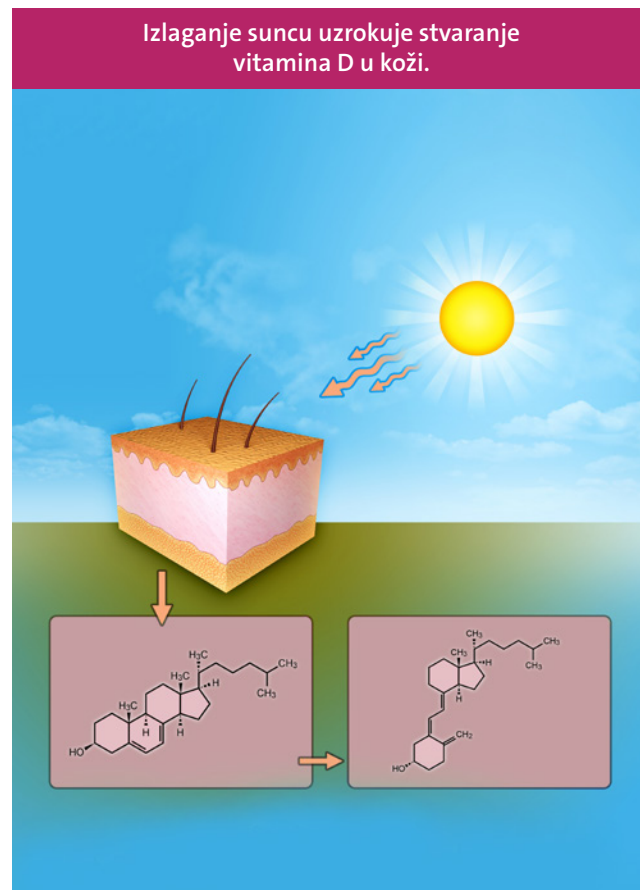
Vitamin D je esencijalan za imunost

Osim uzimanja oralnog probiotičkog bakterijskog soja, adekvatna opskrba mikronutrijentima pomaže jačanju imunostnog sustava. Vitamin D ovdje igra posebno važnu ulogu. Uz brojne funkcije, posebice u homeostazi kalcija i kod metabolizma kostiju, regulira ugradnju kalcija i fosfata u strukturu zuba.

Međutim, ovaj prohormon je od najveće važnosti u regulaciji imunostnog odgovora. Adekvatan unos vitamina D ključan je za netaknutu imunostnu funkciju, posebno u inhibiciji pretjeranih imunostnih odgovora. Brojne kliničke studije pokazuju da vitamin D ima protuupalna svojstva stimulirajući regulatorne T i B stanice na oslobađanje protuupalnih citokina. Istodobno je blokirana aktivacija proupalnih stanica ⁽⁴²⁾.

Osim toga, vitamin D također uzrokuje proizvodnju i oslobađanje antimikrobnih peptida, koji su, između ostalog, važni u borbi protiv respiratornih infekcija. S jedne strane, te molekule (npr. katelicidini) neutraliziraju patogene, a s druge strane jačaju obrambene mehanizme vlastitih stanica tijela ^(43,44).

Zbog toga je od posebne važnosti kombinirati probiotičke pripravke koji se koriste u području obrane od infekcija s vitaminom D.



Zaključak

Ukratko, može se reći da oralni unos medicinski relevantnog bakterijskog soja *Streptococcus salivarius* K12 u obliku pastila predstavlja učinkovitu strategiju za prevenciju i terapiju (recidivirajućih) ORL infekcija. Smanjena je učestalost i otitis media i faringotonzilitisa, stoga se čak ni planirane adenotonzilektomije ne moraju raditi. Osim toga, početni znanstveni podaci pokazuju da oralna primjena *Streptococcus salivarius* K12 može smanjiti čak i rizik od infekcije COVID-19.

Preporučeni unos *Streptococcus salivarius* K12 pastila za oralnu upotrebu

Djeca od navršene 3. godine 1 x dnevno 1 pastilu OMNi-BiOTiC® *iMMUND*, a **odrasli** 2 x dnevno 1 pastilu OMNi-BiOTiC® *iMMUND* pustiti da se otopi u ustima. Preporučuje se uzeti prije odlaska na spavanje. Pastila se može koristiti odmah nakon pranja zubi.

Reference

1. West J V. Acute upper airway infections [Internet]. Vol. 61, British Medical Bulletin. Br Med Bull; 2002 p. 215–30.
2. Marengo R, Ortega Martell JA, Esposito S. Paediatric Recurrent Ear, Nose and Throat Infections and Complications: Can We Do More? [Internet]. Vol. 9, Infectious Diseases and Therapy. Adis; 2020 p. 275–90.
3. Di Pierro F, Di Pasquale D, Di Cicco M. Oral use of streptococcus salivarius k12 in children with secretory otitis media: Preliminary results of a pilot, uncontrolled study. Int J Gen Med [Internet]. 2015 Sep 15 ;8:303–8.
4. Zupancic K, Kriksic V, Kovacevic I, Kovacevic D. Influence of Oral Probiotic Streptococcus salivarius K12 on Ear and Oral Cavity Health in Humans: Systematic Review. Probiotics Antimicrob Proteins [Internet]. 2017 Jun 1 ;9(2):102–10.
5. Worrall G. Acute otitis media [Internet]. Vol. 53, Canadian Family Physician. College of Family Physicians of Canada; 2007. p. 2147–8.
6. Rosenfeld RM, Schwartz SR, Pynnonen MA, Tunkel DE, Hussey HM, Fichera JS, *et al*. Clinical practice guideline: Tympanostomy tubes in children. Otolaryngol - Head Neck Surg (United States) [Internet]. 2013 ;149(SUPPL.1).
7. Bernstein JM, Faden HF, Dryja DM, Wactawski-wende J. Micro-ecology of the nasopharyngeal bacterial flora in otitis-prone and non-otitis-prone children. Acta Otolaryngol [Internet]. 1993 ;113(1–2):88–92.
8. Marini G, Sitzia E, Panatta ML, De Vincentiis GC. Pilot study to explore the prophylactic efficacy of oral probiotic Streptococcus salivarius K12 in preventing recurrent pharyngotonsillar episodes in pediatric patients. Int J Gen Med [Internet]. 2019 ;12:213–7.
9. Di Pierro F, Colombo M, Giuliani MG, Danza ML, Basile I, Bollani T, *et al*. Effect of administration of Streptococcus salivarius K12 on the occurrence of streptococcal pharyngotonsillitis, scarlet fever and acute otitis media in 3 years old children. Eur Rev Med Pharmacol Sci [Internet]. 2016 Nov 1 ;20(21):4601–6.
10. Wolvers D, Antoine JM, Myllyluoma E, Schrezenmeir J, Szajewska H, Rijkers GT. Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: Prevention and management of infections by probiotics. In: Journal of Nutrition [Internet]. Oxford Academic; 2010. p. 698S-712S.
11. Gregori G, Righi O, Risso P, Boiardi G, Demuru G, Ferzetti A, *et al*. Reduction of group a beta-hemolytic streptococcus pharyngo-tonsillar infections associated with use of the oral probiotic streptococcus salivarius k12: A retrospective observational study. Ther Clin Risk Manag [Internet]. 2016 Jan 19;12:87–91.
12. Momen-Heravi F, Babic A, Tworoger SS, Zhang L, Wu K, Smith-Warner SA, *et al*. Periodontal disease, tooth loss and colorectal cancer risk: Results from the Nurses' Health Study. Int J Cancer [Internet]. 2017 Feb 1 ;140(3):646–52.
13. Chhibber-Goel J, Singhal V, Bhowmik D, Vivek R, Parakh N, Bhargava B, *et al*. Linkages between oral commensal bacteria and atherosclerotic plaques in coronary artery disease patients. npj Biofilms Microbiomes [Internet]. 2016 Dec 1;2(1).
14. Mäntylä P, Paju S, Persson GR, Nieminen MS, Sinisalo J, Pussinen PJ. Subgingival Aggregatibacter actinomycetemcomitans associates with the risk of coronary artery disease. J Clin Periodontol [Internet]. 2013 Jun;40(6):583–90.
15. Ogrendik M. Rheumatoid arthritis is linked to oral bacteria: Etiological association [Internet]. Vol. 19, Modern Rheumatology. Mod Rheumatol; 2009. p. 453–6.
16. David LA, Materna AC, Friedman J, Campos-Baptista MI, Blackburn MC, Perrotta A, *et al*. Host lifestyle affects human microbiota on daily timescales. Genome Biol [Internet]. 2014;15(7).
17. Verma D, Garg PK, Dubey AK. Insights into the human oral microbiome [Internet]. Vol. 200, Archives of Microbiology. Springer Verlag; 2018. p. 525–40.
18. Gomez A, Nelson KE. The Oral Microbiome of Children: Development, Disease, and Implications Beyond Oral Health [Internet]. Vol. 73, Microbial Ecology. Springer New York LLC; 2017. p. 492–503.
19. Wescombe PA, Heng NCK, Burton JP, Chilcott CN, Tagg JR. Streptococcal bacteriocins and the case for Streptococcus salivarius as model oral probiotics [Internet]. Vol. 4, Future Microbiology. 2009. p. 819–35.
20. Van Hoogmoed CG, Geertsema-Doornbusch GI, Teughels W, Quirynen M, Busscher HJ, Van Der Mei HC. Reduction of periodontal pathogens adhesion by antagonistic strains. Oral Microbiol Immunol [Internet]. 2008 Feb;23(1):43–8.
21. Kaci G, Goudercourt D, Dennin V, Pot B, Doré J, Ehrlich SD, *et al*. Anti-inflammatory properties of Streptococcus salivarius, a commensal bacterium of the oral cavity and digestive tract. Appl Environ Microbiol [Internet]. 2014 Feb;80(3):928–34.
22. Jamali Z, Aminabadi NA, Samiei M, Deljavan AS, Shokravi M, Shirazi S. Impact of chlorhexidine pretreatment followed by probiotic streptococcus salivarius strain K12 on halitosis in children: A randomised controlled clinical trial. Oral Heal Prev Dent [Internet]. 2016;14(4):305–13.
23. Cosseau C, Devine DA, Dullaghan E, Gardy JL, Chikatarla A, Gellatly S, *et al*. The commensal Streptococcus salivarius K12 downregulates the innate immune responses of human epithelial cells and promotes host-microbe homeostasis. Infect Immun [Internet]. 2008 Sep;76(9):4163–75.
24. Horz HP, Meinelt A, Houben B, Conrads G. Distribution and persistence of probiotic Streptococcus salivarius K12 in the human oral cavity as determined by real-time quantitative polymerase chain reaction. Oral Microbiol Immunol [Internet]. 2007 Apr;22(2):126–30.
25. Medizinischen D. Molekulare Methoden zum Nachweis des oral-probiotischen Stammes Streptococcus salivarius ssp. salivarius K12 und Anwendung in vitro und in vivo.
26. Frickmann H, Klenk C, Warnke P, Redanz S, Podbielski A. Influence of probiotic culture supernatants on in vitro biofilm formation of staphylococci. Eur J Microbiol Immunol [Internet]. 2018 Dec;8(4):119–27.

-
27. Fiedler T, Köller T, Kreikemeyer B. Streptococcus pyogenes biofilms-formation, biology, and clinical relevance [Internet]. Vol. 5, Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. Frontiers Research Foundation; 2015.
 28. Wilcox CR, Stuart B, Leaver H, Lown M, Willcox M, Moore M, *et al.* Effectiveness of the probiotic Streptococcus salivarius K12 for the treatment and/or prevention of sore throat: a systematic review [Internet]. Vol. 25, Clinical Microbiology and Infection. Elsevier B.V.; 2019 [cited 2021 Apr 26]. p. 673–80.
 29. Di Pierro F, Risso P, Poggi E, Timitilli A, Bolloli S, Bruno M, *et al.* Use of Streptococcus salivarius K12 to reduce the incidence of pharyngo-tonsillitis and acute otitis media in children: A retrospective analysis in not-recurrent pediatric subjects. Minerva Pediatr [Internet]. 2018 Jun 1;70(3):240–5.
 30. Di Pierro F, Colombo M, Zanvit A, Rottoli AS. Positive clinical outcomes derived from using Streptococcus salivarius K12 to prevent streptococcal pharyngotonsillitis in children: A pilot investigation. Drug Healthc Patient Saf [Internet]. 2016 Nov 21;8:77–81.
 31. Di Pierro F, Colombo M, Zanvit A, Risso P, Rottoli AS. Use of Streptococcus salivarius K12 in the prevention of streptococcal and viral pharyngotonsillitis in children. Drug Healthc Patient Saf [Internet]. 2014 Feb 13;6(1):15–20.
 32. Di Pierro F, Adami T, Rapacioli G, Giardini N, Streitberger C. Clinical evaluation of the oral probiotic Streptococcus salivarius K12 in the prevention of recurrent pharyngitis and/or tonsillitis caused by Streptococcus pyogenes in adults. Expert Opin Biol Ther [Internet]. 2013 Mar;13(3):339–43.
 33. Di Pierro F, Donato G, Fomia F, Adami T, Careddu D, Cassandro C, *et al.* Preliminary pediatric clinical evaluation of the oral probiotic Streptococcus salivarius K12 in preventing recurrent pharyngitis and/or tonsillitis caused by Streptococcus pyogenes and recurrent acute otitis media. Int J Gen Med [Internet]. 2012;5:991–7.
 34. Di Pierro F, Adami T, Rapacioli G, Giardini N, Streitberger C. Clinical evaluation of the oral probiotic Streptococcus salivarius K12 in the prevention of recurrent pharyngitis and/or tonsillitis caused by Streptococcus pyogenes in adults. Expert Opin Biol Ther [Internet]. 2013 Mar;13(3):339–43.
 35. Aylikci B, Çolak H. Halitosis: From diagnosis to management [Internet]. Vol. 4, Journal of Natural Science, Biology and Medicine. Wolters Kluwer -- Medknow Publications; 2013. p. 14–23.
 36. He L, Yang H, Chen Z, Ouyang X. The Effect of Streptococcus salivarius K12 on Halitosis: a Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. Probiotics Antimicrob Proteins [Internet]. 2020 Dec 1;12(4):1321–9.
 37. Burton JP, Chilcott CN, Moore CJ, Speiser G, Tagg JR. A preliminary study of the effect of probiotic Streptococcus salivarius K12 on oral malodour parameters. J Appl Microbiol [Internet]. 2006 Apr;100(4):754–64.
 38. Shen Z, Xiao Y, Kang L, Ma W, Shi L, Zhang L, *et al.* Genomic diversity of severe acute respiratory syndrome-coronavirus 2 in patients with coronavirus disease 2019 [Internet]. Vol. 71, Clinical Infectious Diseases. Oxford University Press; 2020. p. 713–20.
 39. Xu K, Cai H, Shen Y, Ni Q, Chen Y, Hu S, *et al.* [Management of corona virus disease-19 (COVID-19): the Zhejiang experience]. Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban [Internet]. 2020 Feb 21;49(1):0.
 40. Iebba V, Zanotta N, Campisciano G, Zerbato V, Di Bella S, Cason C, *et al.* Profiling of oral microbiota and cytokines in COVID-19 patients.
 41. Di Pierro F, Colombo M. The administration of S. salivarius K12 to children may reduce the rate of SARS-CoV-2 infection. Minerva Med [Internet]. 2021 Mar 12
 42. Yamamoto EA, Jørgensen TN. Relationships Between Vitamin D, Gut Microbiome, and Systemic Autoimmunity [Internet]. Vol. 10, Frontiers in Immunology. Frontiers Media S.A.; 2020. p. 3141.
 43. Jolliffe DA, Griffiths CJ, Martineau AR. Vitamin D in the prevention of acute respiratory infection: Systematic review of clinical studies [Internet]. Vol. 136, Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. Elsevier Ltd; 2013. p. 321–9.
 44. Ginde AA, Mansbach JM, Camargo CA. Vitamin D, respiratory infections, and asthma [Internet]. Vol. 9, Current Allergy and Asthma Reports. Curr Allergy Asthma Rep; 2009. p. 81–7.
-

Kriteriji kvalitete

za medicinski relevantne probiotike i sinbiotike prema kriterijima WHO, WGO, FDA, kao i DePROM i OePROM

1. Sigurnost

Svi korišteni bakterijski sojevi moraju imati status GRAS (Generally Recognized As Safe), QPS status ili usporedive certifikate, koji jamče najvišu razinu sigurnosti za primjenu u ljudi i odsutnost nuspojava, čak i kod dugotrajne primjene.

2. Broj bakterija

Najmanje 10^9 CFU (jedinice koje tvore kolonije= 1 milijarda bakterija po gramu praha). To znači da se u organizam unosi relevantan broj održivih bakterija.

3. Aktivnost

Probiotičke bakterije najaktivnije su unutar 24 sata nakon što su rehidrirane, čime se ponovno postigla aktivnost. To se s jogurtima odvija još u mljekari, gdje proizvodnjom mliječne kiseline iz mlijeka nastaje jogurt, dok međutim s granulama u prahu, bakterije u ljudskom tijelu aktivno koriste svoje sposobnosti za nas.

4. Sposobnost razmnožavanja

Dokazano razmnožavanje probiotičkih bakterija, čak i nakon završetka terapije. Do sada je to dokazano za jako mali broj proizvoda, jer se mogu izmjeriti samo visoke vrijednosti razmnožavanja. Dokazi za proizvode npr. OMNi-BiOTiC® PANDA, OMNi-BiOTiC® 10 AAD i OMNi-BiOTiC® STRESS objavljeni su u znanstvenim časopisima.

5. Otpornost na želučane i žučne kiseline

Otpornost bakterija na jake kiseline je ključna. Vrlo učinkovitim se pokazalo oživljavanje suhosmrnutih bakterija izvan tijela u neutralnoj tekućini. Tamo bakterije mogu upiti prve hranjive tvari i ojačati prije višesatnog prolaska kroz želudac ispunjen želučanom kiselinom i kroz dvanaesnik gdje dolaze u kontakt sa žučnim kiselinama i sekretima gušterače.

6. Stabilnost pri sobnoj temperaturi

Ne bi trebalo navoditi broj bakterija u vrijeme punjenja, već bi trebalo navesti njihov broj pri isteku roka trajanja proizvoda. Bakterije umiru nakon samo nekoliko dana, ukoliko im okoliš ne nudi optimalne životne uvjete. OMNi-BiOTiC® proizvodi kontinuirano se podvrgavaju analizama kvalitete, kako bi se pouzdano jamčila 24-mjesečna stabilnost pri sobnoj temperaturi.

7. Optimizacija sredine

Optimalna pH-vrijednost u tankom crijevu je 4,0-5,5. Pri toj se vrijednosti korisne bakterije optimalno razmnožavaju, a patogene ne. Iz tog razloga bi probiotik trebao sadržavati bakterije, koje snižuju pH-vrijednost pojačanim stvaranjem mliječne kiseline.

8. Formulacija raznovrsnih simbiotskih bakterijskih sojeva

Znanstvena otkrića sugeriraju da ciljana kombinacija nekoliko bakterijskih sojeva ima puno šire područje primjene u odnosu na primjenu jednog soja. Potencijal pojedinih sojeva može se još povećati smislenim kombinacijama raznovrsnih formulacija.

9. Sinergija bakterijskih sojeva

Ne slažu se dobro svi bakterijski sojevi, već može doći do međusobnog natjecanja (npr. za hranu), zbog čega se sinergija pomiješanih bakterijskih pripravaka mora dokazati metodom „cross streak“, odnosno njihovo se djelovanje mora dokazati znanstvenim istraživanjima.

10. Bez životinjskih proteina, glutena, kvasca i laktoze

Kako bi se izbjegle intolerancije.

11. Aktivacijska matrica

Kako bi se bakterijama povećala aktivnost i sposobnost razmnožavanja, dodaju se enzimi, vlakna i minerali. To povećava proizvodnju sluzi u crijevnoj sluznici i sposobnost adhezije uvedene bakterijske kombinacije.

12. Studije učinkovitosti

Probiotici bi trebali imati svoju dokazanu učinkovitost provođenjem znanstvenih studija na ljudima.