

Received: 2012.12.21
Accepted: 2014.07.11
Published: 2014.11.17

Bakterie kwasu mlekowego i zdrowie: czy probiotyki są bezpieczne dla człowieka?

Lactic acid bacteria and health: are probiotics safe for human?

Izabela Kubiszewska¹, Milena Januszewska¹, Joanna Rybka², Lidia Gackowska¹

¹ Katedra Immunologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy UMK w Toruniu

² Katedra i Zakład Biochemii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy UMK w Toruniu

Streszczenie

Wpływ *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* na zdrowie człowieka jest badany już od wielu lat. Liczne badania *in vivo* i *in vitro* potwierdziły korzystne działanie wybranych LAB (bakterii kwasu mlekowego) w leczeniu i zapobieganiu zakażeń rotawirusowych, biegunek poantybiotykowych, zapaleń jelit i innych zaburzeń układu trawiennego. Probiotyki wspierają działanie mikroflory jelitowej i wykazują korzystne immunomodulacyjne działanie na organizm gospodarza. Należy jednak pamiętać, że stosunkowo nieszkodliwe LAB mogą być również przyczyną zakażeń oportunistycznych.

Ze względu na duże spożycie preparatów probiotycznych, zawierających żywe kultury bakterii [nawet 20×10^{12} dawek rocznie] jest niezbędne monitorowanie bezpieczeństwa ich stosowania. Przypadki niekorzystnego wpływu bakterii kwasu mlekowego są niezwykle rzadkie. W ciągu ostatnich lat zakażenia wywołane przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* stanowiły 0,05-0,4% przypadków zapalenia wsierdza oraz bakteriemii. Według danych z 2005 r. zebranych przez J.P. Cannota zakażeń wywołanych przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus* 1,7% było związanych bezpośrednio z intensywnym spożyciem produktów probiotycznych przez chorych. Ze względu na brak u większości zakażonych dokładnego opisu nawyków żywieniowych nie należy definitywnie wykluczyć ewentualnego wpływu probiotyków na rozwój infekcji.

W pracy opisano przypadki chorób wywołanych działaniem bakterii kwasu mlekowego, potencjalny mechanizm niekorzystnego działania bakterii oraz możliwe zagrożenia związane ze stosowaniem preparatów probiotycznych przez ciężko i przewlekłe chore.

Słowa kluczowe:

probiotyki • laktobacillemia • GALT • mikroflora jelitowa • układ odpornościowy • zapalenie wsierdza

Summary

The effect of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* on human health has been examined for many years. Numerous *in vivo* and *in vitro* studies have confirmed the beneficial activity of some exogenous lactic acid bacteria in the treatment and prevention of rotaviral infection, antibiotic-associated diarrhea, inflammatory bowel disease and other gastrointestinal disorders. Probiotics support the action of the intestinal microflora and exhibit a favorable modulatory effect on the host's immune system. However, it should be remembered that relatively harmless lactobacilli can occasionally induce opportunistic infections. Due to reaching almost 20×10^{12} probiotic doses per year which contain live cultures of bacteria, it is essential to monitor the safety aspect of their administration.

Keywords:	In recent years, infections caused by <i>Lactobacillus</i> and <i>Bifidobacterium</i> made up 0.05% to 0.4% of cases of endocarditis and bacteremia. In most cases, the infections were caused by endogenous microflora of the host or bacterial strains colonizing the host's oral cavity. According to a review of cases of infections caused by bacteria of the genus <i>Lactobacillus</i> from 2005 (collected by J.P. Cannon'a), 1.7% of infections have been linked directly with intensive dairy probiotic consumption by patients. Additionally, due to the lack of a precise description of most individuals' eating habits, the possible effect of probiotics on infection development definitively should not be ruled out. The present paper describes cases of diseases caused by lactic acid bacteria, a potential mechanism for the adverse action of bacteria, and the possible hazard connected with probiotic supplementation for seriously ill and hospitalized patients.
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1129120
Word count:	3920
Tables:	–
Figures:	1
References:	43

Adres autorki: mgr Izabela Kubiszewska, Katedra Immunologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy UMK w Toruniu, ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85 – 094 Bydgoszcz; e-mail: izakubiszewska@gmail.com

Wykaz skrótów: **APC** – komórki prezentujące antygen (antigen-presenting cells), **BALT** – skupiska tkanki limfatycznej w drogach oddechowych (bronchus-associated lymphoid tissue), **CALT** – układ immunologiczny związany ze spojówkami (conjunctiva-associated lymphoid tissue), **CP** – kryptokępkę (cryptopatches), **FAE** – nabłonek towarzyszący grudkom (follicle-associated epithelium), **FDC** – pęcherzykowe komórki dendrytyczne (follicular dendritic cell), **GALT** – układ immunologiczny związany z jelitem (gut-associated lymphoid tissue), **IEL** – śródnabłonkowe limfocyty T (intraepithelial lymphocytes), **ILF** – grudki limfatyczne samotne (isolated lymphoid follicle), **LAB** – bakterie kwasu mlekowego (Lactic Acid Bacteria), **LALT** – układ immunologiczny związany z krtanią (larynx-associated lymphoid tissue), **LDALT** – układ immunologiczny związany z przewodami łzowymi (lacrimal duct-associated lymphoid tissue); **NALT** – skupiska tkanki limfatycznej nosa i gardła (nasopharynx-associated lymphoid tissue), **OZT** – ciężkie ostre zapalenie trzustki, **PP** – kępkę Peyera (Peyer's patches), **SDALT** – układ immunologiczny związany przewodami ślinowymi (salivary duct-associated lymphoid tissue).

WSTĘP

Dobroczynny wpływ fermentowanego mleka na zdrowie człowieka był znany jeszcze przed poznaniem bakterii. W perskiej wersji Starego Testamentu napisano: „Abraham zawdzięczał swoją długowieczność spożyciu kwaśnego mleka”. Wzmianki dotyczące korzystnych skutków spożywania fermentowanych produktów mlecznych zauważył i opisał w 76 r. p.n.e. rzymski historyk Pliniusz, który polecał ich podawanie chorym na zapalenie żołądka i jelit [38].

Wraz z początkiem odkryć mikrobiologicznych szczególną uwagę zwrócono na właściwości bakterii jako czynników wpływających na zdrowie i życie człowieka

oraz odpowiedzialnych za powstawanie wielu chorób. Ponad 100 lat temu Ilja Miecznikow swoim spostrzeżeniem dotyczącym szczepów bakteryjnych odpowiedzialnych za proces fermentacji zapoczątkował dyskusję na temat właściwości bakterii kwasu mlekowego (lactic acid bacteria, LAB) oraz ich wpływu na organizm człowieka. Ten laureat Nagrody Nobla ogłosił, że bakterie nie mają wyłącznie niekorzystnego działania na organizm gospodarza, ale są istotnym czynnikiem umożliwiającym prawidłowe funkcjonowanie organizmu. Wnioski dotyczące dobroczynnego oddziaływania określonych szczepów bakteryjnych wyciągnął na podstawie obserwacji mieszkańców Kaukazu. Ich długowieczność powiązał ze spożyciem znacznych ilości bogatego w bakterie kwasu mlekowego fermentowanego mleka. Opierając się na

tych spostrzeżeniach, jako pierwszy zalecał spożywanie żywych kultur bakteryjnych, w jego przekonaniu zapobiegających „rozkładowi” organizmu. W tym samym czasie obecność niewielkiej liczby charakterystycznych Y-kształtnych bakterii w stolcu dzieci cierpiących na biegunkę zaobserwował francuski pediatra Henry Tissier. Odkrycie, że w stolcu dzieci zdrowych jest zdecydowanie więcej „rozwidlonych” (*bifid*) bakterii pozwoliło mu wysunąć hipotezę o dodatnim wpływie obserwowanych pałeczek na zdrowie pacjentów. Zasugerował również możliwą suplementację szczepami bifidobakterii w celu zapobiegania i leczenia biegunek wywołanych przez „gnilne” bakterie chorobotwórcze. Prowadzone przez Tissiera badania niemowląt karmionych piersią wykazały ilościową przewagę bifidobakterii w ich florze jelitowej [21,23,38].

Prace Miecznikowa i Tissiera, mimo że częściowo oparte na luźnych spostrzeżeniach, były pierwszymi, które w sposób naukowy przedstawiły możliwość zastosowania bakterii w celu poprawy zdrowia człowieka. I chociaż dzisiaj wiemy, że teorie dotyczące długowieczności Kaukazów nie były do końca prawdziwe, dobroczynny wpływ badanych przez Miecznikowa bakterii na nasz organizm został potwierdzony przez innych uczonych, a spożywanie produktów zawierających bakterie LAB jest dzisiaj jednym z elementów utrzymywania przez człowieka wewnętrznej homeostazy organizmu [23,37].

DEFINICJA PROBIOTYKÓW

Słowo probiotyk wywodzi się z greckiego *pro bios* i oznacza dla życia, jednak sama definicja probiotyku na przestrzeni lat ulegała wielokrotnym modyfikacjom. Dopiero prawie 40 lat po odkryciu Miecznikowa pojęcie probiotyku zastosowano po raz pierwszy w odniesieniu do substancji wytwarzanych przez mikroorganizmy, które wspierają wzrost innych mikroorganizmów. Definicja stworzona przez Lilly i Stillwella w 1965 r. nie spotkała się z powszechną akceptacją środowiska naukowego i już w 1971 r. została uzupełniona przez Spertiego, który probiotykami nazwał ekstrakty tkankowe stymulujące wzrost bakterii. W 1974 r. Parker po raz pierwszy użył definicji probiotyku w sensie używanym do dnia dzisiejszego [15,38]. Zgodnie z nazewnictwem przyjętym w 1989 r. przez Fullera probiotykami nazywa się żywe mikroorganizmy wykazujące dobroczynny wpływ na zdrowie gospodarza przez utrzymywanie równowagi jego mikroflory. W 2002 r. FAO/WHO zdefiniowała probiotyki jako mikroorganizmy, które podawane w odpowiednich dawkach przynoszą korzyść organizmowi gospodarza [23]. Funkcję probiotyków pełnić może wiele mikroorganizmów, do których zaliczyć należy drożdże *Saccharomyces boulardii* wyizolowane po raz pierwszy przez McFarlanda w 1993 r. z owoców liczi w Indonezji. Najczęściej jednak za probiotyki uważa się bakterie kwasu mlekowego, które znalazły szerokie zastosowanie w leczeniu pacjentów oraz zapobieganiu chorob związanych nie tylko z układem pokarmowym człowieka [34]. Należy jednak pamiętać, że dobroczynne właści-

wości LAB są cechą indywidualną wybranych szczepów bakteryjnych, a samo zakwalifikowanie szczepu jako probiotyku jest poprzedzone wnikliwą analizą jego mikrobiologicznych i biochemicznych właściwości [23].

Do bakterii kwasu mlekowego zalicza się Gram-dodatnie ziarniaki oraz pałeczki z rodzajów *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weisella* oraz zaliczone do LAB ze względu na wytwarzanie kwasu mlekowego i podobne środowisko występowania rodzaj *Bifidobacterium* [40]. Spośród nich tylko wybrane szczepy bakterii należących do rodzaju *Lactobacillus* oraz *Bifidobacterium* wywołują w organizmie człowieka jednakowo nasiloną poprawę zdrowia i znalazły zastosowanie jako probiotyki [38,41].

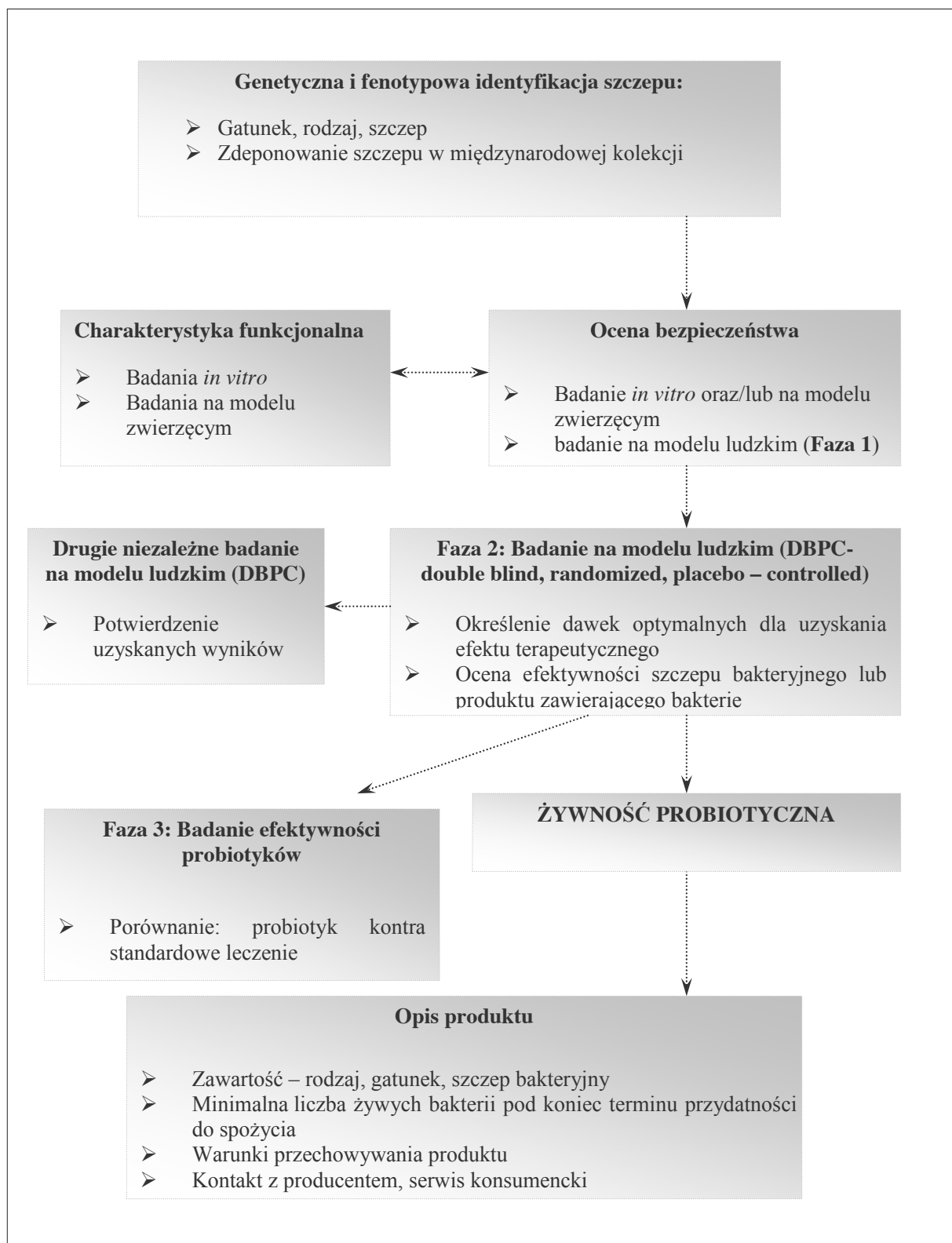
Powszechnie znane jest skuteczne działanie probiotyków w zapobieganiu i zwalczaniu infekcji zarówno jelita cienkiego, jak i grubego polegające nie tylko na utrzymaniu stanu eubiozy organizmu, ale również modulacji układu immunologicznego. Badania kliniczne wykazały korzystny wpływ probiotycznych szczepów bakterii na zwalczanie: infekcji rotawirusowych, biegunek poantybiotykowych, zespołu jelita drażliwego, zapalenia jelita, atopii czy chronicznego zapalenia zatok [19].

KRYTERIA PRZYNALEŻNOŚCI SZCZEPÓW BAKTERYJNYCH DO PROBIOTYKÓW

Początkowo w procesie określania przydatności szczepów bakteryjnych jako probiotyki przyjęto dwa zasadnicze kryteria: bezpieczeństwo działania szczepu na organizm gospodarza oraz zdolność kolonizacji układu pokarmowego przez bakterie. Podstawowymi kryteriami stały się takie wykładniki, jak: przeżywalność bakterii w warunkach niskiego pH, w obecności kwasu żołądkowego i enzymów proteolitycznych. W związku ze zwiększającym się zainteresowaniem probiotykami w 2001 r. grupa robocza FAO/WHO zwróciła uwagę na potrzebę stworzenia ujednoliconej procedury warunkującej uzyskanie przez bakterie statusu probiotyku. W wyniku współpracy grupy ekspertów powstał raport uwzględniający szczegółowe kryteria i metodologię oceny przydatności szczepów bakteryjnych. W 2002 r. ta sama grupa, opierając się na wcześniejszych ustaleniach, określiła także schemat dopuszczający probiotyk do masowej konsumpcji w postaci dodatków do żywności [18].

UKŁAD ODPORNOŚCIOWY ZWIĄZANY Z JELITEM (GALT)

Prawie 50% obecnych w ludzkim organizmie limfocytów to komórki układu immunologicznego związanego z błonami śluzowymi (mucosa-associated lymphoid tissue, MALT) [7,17]. Składowymi układu MALT są grudki limfatyczne skupione, grudki limfatyczne samotne oraz pojedyncze komórki układu immunologicznego rozproszone w błonach śluzowych całego organizmu. Ze względu na umiejscowienie w organizmie MALT przyporządkowano do narządu lub układu, w którym występuje i podzie-



Ryc. 1. Schemat procedury dopuszczającej probiotyki do masowej konsumpcji w postaci dodatków do żywności [18]

lono na: układ immunologiczny związany z jelitem (gut-associated lymphoid tissue, GALT), skupiska tkanki limfatycznej w drogach oddechowych (bronchus-associated lymphoid tissue, BALT) oraz nosa i gardła (nasopharynx-associated lymphoid tissue, NALT). W ostatnich latach wyszczególniono i włączono do MALT dodatkowo układ immunologiczny związany z: przewodami łzowymi (lacrimal duct-associated lymphoid tissue, LDALT), spojówkami (conjunctiva-associated lymphoid tissue, CALT), krtanią (larynx-associated lymphoid tissue, LALT) i przewodami ślinowymi (salivary duct-associated lymphoid tissue, SDALT) [5,7,17].

Pod względem funkcji w układzie MALT można wyróżnić:

- część indukcyjną – zorganizowane limfatyczne grudki chłonne oraz miejscowe węzły chłonne – miejsce aktywacji dziewiczych limfocytów T i B przez antygeny pobrane z powierzchni błon śluzowych;
- część efektorową – śródbłonek i blaszka właściwa, w której rozproszone limfocyty pełnią funkcje efektorowe [5,7,11,17].

Ciągły kontakt z antygenami pochodzenia zewnętrznego i wewnętrznego błon śluzowych jelita powoduje, że układ immunologiczny związany z jelitem wykazuje cechy najsilniejszej aktywacji immunologicznej wśród tkanek układu MALT [16,24]. W GALT znajduje się najliczniejsza populacja plazmocytów [24]. Większość wydzielanych w jelicie IgA jest wytwarzanych przez limfocyty B o fenotypie CD220⁺/IgM⁺ blaszki właściwej śluzówki w wyniku grasiczniezależnej indukcji (limfocyty B1) [10]. Czynniki patogenne pochodzenia egzogenego po wnikięciu do przewodu pokarmowego napotykają na swojej drodze wiele barier ochronnych umożliwiających obronę organizmu przed ich niekorzystnym działaniem. Mechanizmy te obejmują zarówno bariery nieswoiste, indukowane przez komórki błon śluzowych przewodu pokarmowego, jak również aktywację mechanizmów odporności adaptacyjnej GALT. Ponieważ znaczna część antygenów, które dostają się do przewodu pokarmowego człowieka i wchodzi w interakcje z GALT, to antygeny zawarte w treści pokarmowej, najważniejszymi zjawiskami charakterystycznymi dla układu odpornościowego błon śluzowych jest wyciszenie odpowiedzi immunologicznej. W zależności od natury i dawki antygeny transportowanego ze światła jelita do śluzówkowego układu immunologicznego następuje aktywacja odpowiedzi lub indukcja tolerancji immunologicznej [10,24,43].

Miejscem aktywacji odpowiedzi immunologicznej w przewodzie pokarmowym są struktury limfatyczne w postaci: grudek limfatycznych samotnych (isolated lymphoid follicle, ILF) oraz kępek Peyera (Peyer's patches, PP). Charakterystycznymi dla jelita cienkiego i grubego skupiskami limfatycznymi są również tzw. kryptokępki (cryptopatches, CP) prawdopodobnie odpowiedzialne za rozwój prekursorów limfocytów T w kryptach jelita [17]. Ze względu na znaczną sterylność

środowiska w żołądku oraz górnym odcinku jelita cienkiego grudki limfatyczne występują rzadko. Ich liczebność znacznie wzrasta w jelicie krętym, gdzie tworzą widoczne gołym okiem skupiska, tzw. kępki Peyera [24]. Kępki Peyera zawierają 5-200 skupionych grudek limfatycznych i są głównym źródłem śluzówkowych IgA (sIgA⁺) limfocytów B [5]. Obecność dużej liczby grudek limfatycznych samotnych oraz okrywającego je charakterystycznego nabłonka obserwuje się również w jelicie grubym: w jelicie ślepym, wyrostku robaczkowym i odbytnicy [24].

Grudki limfatyczne to skupisko niedojrzałych limfocytów B oraz przylegających do nich limfocytów T w częściach międzygrudkowych. Od strony światła jelita grudki są okryte tzw. kopułą stanowiącą warstwę limfocytów T, B i pęcherzykowych komórek dendrytycznych (follicular dendritic cell, FDC) oraz przykryte charakterystycznym nabłonkiem, określanym jako nabłonek towarzyszący grudkom (follicle-associated epithelium, FAE). Najważniejszym zadaniem FAE jest wyłapywanie ze światła jelita antygenów i ich transport do miejsca ich przetworzenia i prezentacji przez profesjonalne komórki prezentujące antygen (antigen-presenting cells, APC). Warstwa FAE okrywająca pojedynczą grudkę limfatyczną powstaje w wyniku migracji komórek nabłonkowych jelita z minimum 12 okalających grudkę krypt, w kierunku kopuły [24]. Pod względem budowy i funkcji FAE znacznie różni się od pozostałego nabłonka przewodu pokarmowego. FAE nie ma albo ma znacznie mniej komórek kubkowych (odpowiedzialnych za wytwarzanie śluzu) oraz komórek endokrynych występujących powszechnie w nabłonku kosmkowym. Enterocyty należące do FAE cechuje pewnego rodzaju upośledzenie funkcji, charakteryzujące się zmniejszonym stężeniem hydrolaz oraz brakiem błonowych receptorów dla immunoglobulin. Cechy te umożliwiają jednak skuteczniejszy kontakt potencjalnych patogenów z powierzchnią komórek nabłonkowych, a tym samym ich rozpoznanie i internalizację. Podstawową cechą FAE jest jednak obecność w jej strukturach komórek M odpowiedzialnych bezpośrednio za transport antygenów ze światła jelita do grudki limfatycznej, gdzie są wychwytywane przez niedojrzałe komórki dendrytyczne. Proces ten odbywa się przez transcytozę antygeny i jest ułatwiony dzięki obecności na błonie komórkowej reagującego ze strukturami bakterierynymi glikokaliksu [10,17,24]. W pofałdowaniach błony podstawnej komórek M są umiejscowione limfocyty, makrofagi oraz neutrofile [11].

Transport antygeny przez nabłonek może się również odbywać z bezpośrednim udziałem śródnabłonkowych komórek dendrytycznych, których wypustki wysuwają się do światła jelita między enterocytami bez szkody dla połączeń międzykomórkowych i w ten sposób pozyskują antygeny ze światła jelita [16]. Komórki migrują następnie do miejscowych grudek limfatycznych lub węzłów chłonnych, gdzie prezentują antygeny limfocytom antygenowo dziewiczym. Mogą również migrować

do blaszki właściwej śluzówki (*lamina propria*) i prezentować natywne antygeny miejscowym, antygenowo dziewiczym limfocytom B. W ten sposób komórki dendrytyczne uczestniczą w syntezie IgA w wyniku grasiczno-niezależnej indukcji [10,17]. W prezentacji antygenów śród nabłonkowym limfocytom T (intraepithelial lymphocytes, IEL) uczestniczą również enterocyty. Są one zdolne do endocytozy antygenów i po ich wewnątrzkomórkowej obróbce prezentacji w kontekście konwencjonalnych oraz niekonwencjonalnych cząsteczek MHC klasy I i II [10 17].

UDZIAŁ LIMFOCYTÓW W ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ W OBRĘBIE GALT

Po aktywacji we wtórnych narządach limfatycznych limfocyty migrują naczyniami krwionośnymi do śródnabłonka i blaszki właściwej jelita, gdzie pełnią funkcje efektorowe [5]. Różnicowanie sigA^+ limfocytów B odbywa się już w czasie ich wędrówki do błony śluzowej przewodu pokarmowego. Większość komórek (90%) w blaszce właściwej jelit to limfocyty B wykazujące ekspresję błonową IgA, gdzie udział procentowy tych komórek w kępkach Peyera wynosi zaledwie 2%, a w krezkowych węzłach chłonnych 50% [5]. Znaczny odsetek limfocytów jamy otrzewnej i blaszki właściwej stanowią limfocyty B1. Krążą między jamą otrzewną a błoną śluzową z pominięciem krwi i wytwarzają przeciwciała klasy IgM oraz IgA niezależnie od limfocytów T [17].

Śród nabłonkowe limfocyty T układu GALT stanowią heterogenną populację o fenotypie komórek CD8^+ i CD4^+ . W górnym odcinku jelita przeważają limfocyty T pomocnicze, w dolnym limfocyty T cytotoksyczne (zarówno T $\alpha\beta$, jak i T $\gamma\delta$) [10]. Mimo że większość limfocytów T w jelicie ma fenotyp komórek aktywowanych lub komórek pamięci immunologicznej, w badaniach *in vitro* śluzówkowe limfocyty T CD4^+ wykazują ograniczoną zdolność do proliferacji po stymulacji indukowanymi antygenami APC. Dzięki temu mogą aktywnie uczestniczyć w indukowanych antygenami pokarmowymi oraz bakteriami mikroflory jelitowej zjawiskach tolerancji pokarmowej [10,16]. Dokładny mechanizm tego procesu w błonie śluzowej nie jest wyjaśniony i może być spowodowany anergią, delecją klonalną limfocytów, a także aktywnym udziałem limfocytów T o właściwościach regulatorowych [10,43]. Duże dawki antygeny prowadzą do delecji klonalnej lub anergii, a małe indukują mechanizm aktywnej supresji regulowany przez limfocyty Th2 oraz Th3 [17]. W śluzówce zidentyfikowano również populację komórek Treg o fenotypie $\text{CD4}^+/\text{CD25}^+$, która odgrywa istotną rolę w indukcji oraz utrzymywaniu miejscowej tolerancji przez wytwarzanie TGF- β i IL-10 oraz receptorowo z udziałem cząsteczek CTLA-4 [16].

MIKROFLORA PRZEWODU POKARMOWEGO

Przewód pokarmowy człowieka to rozbudowany ekosystem ścisłych powiązań między endogenną florą bakteryjną a komórkami wysięlającymi ściany jego

przewodu pokarmowego [39]. Współdziałanie fizycznych i chemicznych barier indukowanych przez komórki epitelialne oraz mechanizmów stymulowanych przez rezydujące w środowisku bakterie ma przede wszystkim utrzymać wewnętrzną homeostazę przewodu pokarmowego, a w przypadku ataku potencjalnego patogenu eliminować go z organizmu.

W chwili narodzin dziecka układ pokarmowy jest jałowy, a więc bezbronny w walce z potencjalnymi patogenami. Do pierwotnego zasiedlenia jelita przez bakterie komensalne dochodzi podczas porodu [39]. W czasie przechodzenia dziecka przez kanał rodny bakterie matczyne zasiedlają tę strefę kolonizując przewód pokarmowy dziecka. Już w ciągu kilku minut po porodzie wykazano obecność bakterii pochodzenia matczynego w żołądku i ustach noworodków [12]. Pierwszymi bakteriami wchodzącymi w skład mikroflory jelitowej noworodka są: enterobakterie, paciorkowce, ziarniaki i gronkowce. W większości przypadków nie stwierdza się jednocześnie obecności: bifidobakterii, *Lactobacillus* i *Bacteroides* spp. W ciągu następnych kilku dni po porodzie pod wpływem różnorodnych czynników zewnętrznych i wewnętrznych, wśród których decydujące znaczenie odgrywa dieta noworodka, następuje intensywny rozwój mikroflory dziecka. Bakterie z rodzaju *Bifidobacterium* u noworodków karmionych piersią pojawiają się już 4 dnia i w krótkim czasie, wspomagane przez składniki pokarmowe dostarczane zarówno w pokarmie naturalnym, jak i sztucznym uzyskują liczebną przewagę nad enterobakteriami w przewodzie pokarmowym. Dominacja bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* jest wynikiem selektywnego wspierania ich wzrostu przez prebiotyki w postaci oligosacharydów dostarczanych noworodkowi z pokarmem naturalnym [3,12]. Przewaga bifidobakterii jako dominującej bakterii przewodu pokarmowego niemowlaka zmniejsza się ostatecznie w 3 miesiącu życia dziecka [12].

Przewód pokarmowy dorosłego, zdrowego człowieka jest zasiedlony przez 400 różnych gatunków mikroorganizmów zajmujących 200-400 m² powierzchni nabłonka jelitowego [20]. Ta heterogenność flory jelitowej (mikrobioty) jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania przewodu pokarmowego, a udział procentowy i jakościowy bakterii w poszczególnych fragmentach układu pokarmowego znacznie się różni [17]. Do gatunków z rodzaju *Lactobacillus* dominujących w błonie śluzowej przewodu pokarmowego człowieka należą: *L. plantarum*, *L. rhamnosus* oraz *L. paracasei* ssp. *paracasei* izolowanych od odpowiednio: 52, 26 i 17% zdrowych ochotników [1].

Swoiste środowisko żołądka umożliwia bytowanie niewielkiej liczbie bakterii w przeciwieństwie do zasiedlonego przez około 400 rodzajów bakterii jelita. Mikrobiota przewodu pokarmowego zasiedlać może następujące elementy jelita:

- światło jelita,
- śluz wydzielany przez komórki nabłonkowe,

- przestrzenie krypt,
- inne komórki nabłonka jelita.

Niektóre z nich są zdolne do adhezji, a niektóre nie wykazują takiej zdolności.

Działanie prawidłowej mikroflory jelitowej opiera się na modulowaniu zjawisk immunologicznych, takich jak:

- wzmacnianie odpowiedzi humoralnej,
- aktywowanie mechanizmów nieswoistych odpowiedzi immunologicznej,
- modulacja odpowiedzi immunologicznej na potencjalne patogeny,
- wyciszanie reakcji nadwrażliwości [12,13,14,27].

PRZYPADKI NIEKORZYSTNEGO WPLYWU *LACTOBACILLUS* – CZY PROBIOTYKI SĄ BEZPIECZNE?

Ze względu na sięgającą nawet 20 bilionów dawek konsumpcję preparatów probiotycznych w ciągu roku niezwykle istotne jest monitorowanie bezpieczeństwa stosowanych preparatów [33]. Ponieważ probiotyczne szczepy *Lactobacillus* oraz *Bifidobacterium* są powszechnymi przedstawicielami komensalnej mikroflory człowieka, a bakterie kwasu mlekowego są od bardzo dawna spożywane, stosowanie probiotyków teoretycznie nie powinno wywoływać niekorzystnych skutków [9]. Ze względu na bezpieczeństwo stosowania *Lactobacillus* oraz bifidobakterie zostały zakwalifikowane przez niemieckie Stowarzyszenie Przemysłu Chemicznego (Berufsgenossenschaft der Chemischen Industrie) jako niewykazujące ryzyka dla zdrowia (1 grupę ryzyka). Jedynie *Lactobacillus rhamnosus* oraz *Bifidobacterium dentium* zakwalifikowano do 2 grupy ryzyka, jako bakterie stanowiące małe ryzyko dla zdrowia człowieka [9].

Przypadki niekorzystnego wpływu bakterii kwasu mlekowego są niezwykle rzadkie. Na przestrzeni ostatnich lat infekcje wywołane przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* stanowiły 0,05-0,4% przypadków zapalenia wsierdza oraz bakteriemii [4]. W większości przypadków infekcje były wywołane przez endogenne szczepy mikroflory jelitowej gospodarza lub szczepy zasiedlające jego jamę ustną. Znane są przypadki zapalenia wsierdza po zabiegach dentystycznych, a także zapalenia otrzewnej u osób dializowanych [30]. Potencjalną przyczyną lactobacillemii są również bakterie zasiedlające żeńskie drogi płciowe [35]. W kilku opisanych przypadkach jako przyczynę podano szczepy bakteryjne zawarte w preparatach probiotycznych [9,28]. Według danych z 2005 r. zebranych przez J.P. Cannota z zakażeń wywołanych przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus* 1,7% było związanych bezpośrednio z intensywnym spożywaniem produktów probiotycznych przez chorych [6]. Ze względu na brak u większości zakażonych dokładnego opisu nawyków żywieniowych nie należy definitywnie wykluczyć ewentualnego wpływu probiotyków na rozwój infekcji [9].

BAKTERIEMIA

Ryzyko niekorzystnego wpływu bakterii kwasu mlekowego, według uzyskanych danych literaturowych, nie odbiega od ryzyka wystąpienia zakażeń bakteryjnych wywołanych przez bakterie komensalne [25]. Zaledwie 0,1-0,2% przypadków bakteriemii stanowią zakażenia bakteriami *Lactobacilli* w porównaniu do 38% wywołanych działaniem bakterii Gram-ujemnych, 33% koagulazonegatywnymi szczepami *Staphylococcus*, 16% – *Staphylococcus aureus*, 7% – streptokokami, 5-15% – enterokokami. Analiza 129 przypadków lactobacillemii wykazała, że najczęściej izolowanym gatunkiem były *L. rhamnosus* oraz *L. casei* [6]. Bakteriemię wywołane przez *Bifidobacterium* występują bardzo rzadko [35].

Dane National Public Health Institute w Finlandii z lat 1995-2000 wskazują, że ponad połowa (54%) bakteriemii wywołanych przez *Lactobacillus* spp. zostały wywołane przez *Lactobacillus rhamnosus*, 19% – *Lactobacillus fermentum*, 15% – *Lactobacillus casei* [36]. Również w badaniach Muszyńskiego i wsp. prowadzonych wśród nieletnich pacjentów oddziału IOM i Onkologii Klinicznego Szpitala Pediatrycznego w Poznaniu jako najczęstszą przyczynę zakażeń wywołanych przez *Lactobacillus* spp. wymieniono bakteriemię u chorych z cewnikami naczyniowymi wywoływane przez *L. rhamnosus* oraz *L. para paracasei* [30].

Większość opisanych przypadków bakteriemii wywołanych przez *Lactobacillus* jest związanych z występowaniem u badanych pacjentów przewlekłych, ciężkich chorób (np. zakażenia wirusowe, cukrzyca, choroby nowotworowe) lub przeszczepami narządów (zwłaszcza transplantacją śledziony), których bezpośrednim lub ubocznym następstwem jest obniżenie mechanizmów odporności immunologicznej. Infekcję bakteryjną wywołaną przez pałeczki kwasu mlekowego należy w takich przypadkach traktować jako symptom ciężkiej, przewlekłej, a często śmiertelnej choroby pacjenta [30]. Oprócz wpływu choroby jedną z przyczyn może być także zastosowanie inwazyjnego i wyniszczającego sposobu jej leczenia, np.: chemioterapii lub radioterapii, które powodują znaczny spadek neutrofilów – poniżej 1000/mm³ [30]. Według udokumentowanych źródeł nawet 70% pacjentów z bakteriemią indukowaną szczepami LAB umiera w ciągu roku od ujawnienia się infekcji. Przyczyny należałoby jednak upatrywać nie w rozwoju samej infekcji bakteryjnej, ale przede wszystkim traktować to jako następstwo przewlekłej choroby pacjenta [4,6,22,25]. Bakteriemię wywołane przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus* łączą się zazwyczaj z infekcjami oportunistycznymi [6,31].

Finlandia jest jedynym krajem, gdzie wykonuje się szczegółową analizę i porównanie izolowanych podczas bakteriemii szczepów LAB ze szczepami probiotycznymi dostępnymi na rynku. Wśród 89 przypadków lactobacillemii zarejestrowanych od 1990 r. przez National Public Health Institute (NPHI) w 11 przypadkach wyizo-

lowany szczep *L. rhamnosus* był genetycznie nie do odróżnienia od *L. rhamnosus* GG dostępnego na rynku i z dużym prawdopodobieństwem pochodził z preparatu probiotycznego [35]. Opisano również przypadek powiązanej ze spożywaniem preparatu probiotycznego zawierającego *L. acidophilus* bakteriemii u pacjenta z AIDS i chłoniakiem Hodgkina [26]. Zaobserwowano również przypadki fungemii wywołanych przez probiotyczne drożdże *Sacharomyces boulardii* [25].

PRZYPADKI ZAPALEŃ WSIEDZIA

Mikroflora jamy ustnej człowieka składa się z ponad 100 gatunków bakterii, wśród których powszechnie występują również bakterie *Lactobacillus* spp. W wyniku ingerencji chirurgicznej w obrębie jamy ustnej, do której należy również zaliczyć wszelkie zabiegi dentystryczne, bakterie zasiedlające to środowisko mogą przenikać do krążenia i wywoływać przejściową bakteriemie. Uzyskane wyniki wskazują, że bakteriemie wywołane zabiegami dentystrycznymi są istotną przyczyną zakażeń wsierdzia. W ponad 80% przypadków bezpośrednią przyczyną są bakterie z rodzaju *Streptococcus*, *Staphylococcus* oraz inne Gram-ujemne szczepy. *Lactobacillus* spp. są odpowiedzialne zaledwie za 0,05-0,4%, przy czym w 83% przypadków wrotami zakażenia była operacja dentystryczna, a w 42% zator systemowy. W większości przypadków (83%) indukowanych szczepami *Lactobacillus* zapaleń wsierdzia u pacjenta występowała dodatkowo przewlekła choroba serca [35].

W jednym z opisanych przypadków zasugerowano, że przyczyną zapalenia wsierdzia były bakterie *L. rhamnosus* zawarte w preparacie probiotycznym. Identyfikacja szczepu była jednak oparta wyłącznie na standardowej analizie fenotypowej bakterii oraz pirolitycznej spektrometrii masowej, co uniemożliwiło dokładną identyfikację szczepu bakteryjnego, a tym samym określenie jego pochodzenia. Dlatego udział probiotycznego szczepu *L. rhamnosus* w indukcji zapalenia u tego pacjenta nie został ostatecznie potwierdzony [35].

ZAPALENIE PŁUC

Odnotowano przypadki zapalenia płuc u chorych z AIDS, po transplantacji płuc oraz po transplantacji wątroby spowodowanego działaniem szczepów *Lactobacillus* [42]. W żadnym z nich nie jest jednak pewne czy źródłem izolatów bakteryjnych były preparaty probiotyczne stosowane przez pacjentów. Opisano również przypadek zapalenia płuc związanego z działaniem wentylatora u krytycznie chorego pacjenta urazowego, którego przyczyną były bakterie *Lactobacillus* [42].

ROPNIE WĄTROBY I POZOSTAŁE PRZYPADKI ZAKAŻEŃ ZWIĄZANYCH Z LAB

Bakterie z rodzaju *Lactobacillus* oraz *Bifidobacterium* biorą udział w powstawaniu próchnicy zębów, zapalenia ucha (*Bifidobacterium*), infekcji dróg moczowych, zapalenia błony śluzowej macicy, zapalenia opon mózgowych, zapa-

lenia otrzewnej (*Bifidobacterium*) oraz ropni śledziony, wątroby, dróg rodnych i ropni wewnątrzbrzusznych [35]. U kilku pacjentów z ropniem wątroby z płynnej treści ropnia wyizolowano szczepy *Lactobacillus*, m.in. *L. acidophilus* [6]. Zawsze jednak obecność ropnia była związana z inną chorobą (np. chorobą Leśniowskiego-Crohna), a ropniowi towarzyszyły inne poważne symptomy, tj. posocznica oraz wysięk w opłucnej [8].

W jednym z przypadków, u 74-letniej pacjentki, przyczyną ropnia był szczep *L. rhamnosus*, który w badaniach mikrobiologicznych wykazał zgodność z *L. rhamnosus* szczep GG stosowanym w produktach mlecznych w Finlandii od 1990 r. Pacjentka przyznała się do spożywania produktów mlecznych zawierających *L. rhamnosus* GG w ilości 0,5 l na dzień bezpośrednio 4 miesiące przed wystąpieniem objawów choroby. Przypadek ten zwraca uwagę na bezpieczeństwo produktów probiotycznych, zwłaszcza że jedynymi chorobami towarzyszącymi w tym przypadku było nadciśnienie tętnicze oraz cukrzyca [32].

MECHANIZM NIEKORZYSTNEGO DZIAŁANIA BAKTERII

Dokładny mechanizm niekorzystnego działania bezpiecznych, w większości przypadków, bakterii LAB jest mało znany. Badając przyczyny tego zjawiska, zwrócono uwagę na większą zdolność do adhezji szczepów LAB izolowanych z krwi pacjentów w czasie bakteriemii. Uzyskane wyniki sugerują, że zwiększone zdolności przylegania do komórek śluzówkowych mogą predysponować wybrane szczepy LAB nie tylko do kolonizacji układu pokarmowego, ale także do przenikania z jelita do układu krwionośnego człowieka. Osłabiona integralność błony śluzowej żołądka w przebiegu wielu przewlekłych chorób lub w czasie inwazyjnej terapii może ułatwiać przenikanie bakterii z układu pokarmowego, w którym bytują, w kierunku krwiobiegu, wywołując bakteriemie [4,25]. Badania wykazały zdolność laktobacilli (*L. rhamnosus* oraz *L. paracasei*) izolowanych od pacjentów z zapaleniem wsierdzia do agregacji płytek krwi, wiązania fibronektyny oraz kolagenu. Po wnikięciu do krwiobiegu bakterie te mogą wytwarzać enzymy wywołujące rozpad ludzkich glikoprotein oraz indukować powstawanie skrzepu [6]. Badania przeprowadzone na modelu zwierzęcym wykazały obecność podawanych tydzień wcześniej *per os* szczepów *Bifidobacterium longum* w węzłach chłonnych krezkowych, wątrobie oraz nerkach. Przemieszczenie szczepu *B. longum* nie wywoływało jednak niekorzystnych działań w postaci zapalenia, wręcz przeciwnie, uszczelniało barierę jelitową oraz zapobiegało rozprzestrzenianiu się innych potencjalnie patogennych bakterii z jelita do ustroju [9].

Według Philippe R. Marteau probiotyki jako żywe mikroorganizmy teoretycznie mogą być odpowiedzialne za cztery rodzaje niepożądanych działań: zakażenia układowe, szkodliwą aktywność metaboliczną, indukcję nadmiernej stymulacji immunologicznej u predysponowanych osób, transfer genów (odpowiedzialny za antybiotykooporność) [29].

Nasilenie objawów ostrego zapalenia trzustki po zastosowaniu preparatów probiotycznych może być związane ze zdolnością tych bakterii do indukowania rozpadu koniugatów tauryny i glicyny z kwasami żółciowymi. Powstałe w ten sposób pochodne kwasów żółciowych mogą wpływać na wytwarzanie cholecystokininy odpowiedzialnej za pogorszenie symptomów choroby [42].

PRZECIWWSKAZANIA

W 2009 r. Komitet Koordynacyjny Norweskiego Komitetu Naukowego ds. Bezpieczeństwa Żywności (Steering Committee of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety) wydał opinię dotyczącą stosowania probiotyków przez poważnie chorych i hospitalizowanych pacjentów. W tym samym dokumencie zebrano również dostępne informacje dotyczące korzyści oraz potencjalnego ryzyka wynikającego z suplementacji probiotykami. Mimo licznych dowodów mówiących o korzystnym udziale probiotyków w zwalczaniu wielu chorób, np.: biegunek rotawirusowych, niewiele wiadomo na temat wpływu preparatów zawierających LAB na pacjentów ciężko i przewlekle chorych [42]. Przeprowadzone przez naukowców w Holandii randomizowane badania 289 pacjentów cierpiących na ciężkie ostre zapalenie trzustki (OZT) wskazały, że probiotyki nie łagodziły objawów choroby, a nawet znamienne zwiększały ryzyko zgonu pacjentów w ciągu 90 dni obserwacji. Uzyskane wyniki wskazują, że probiotyki nie powinny być rutynowo podawane chorym na OZT [2]. Do czasu przeprowadzenia potrzebnych badań wnioski ten powinien

dotyczyć wszystkich preparatów probiotycznych, nie tylko kompozycji szczepów *Lactobacillus* zastosowanych w badaniu. Po zapoznaniu się z literaturą przedmiotu dotyczącą wpływu probiotyków na rozwój i przebieg chorób Komitet Koordynacyjny Norweskiego Komitetu Naukowego ds. Bezpieczeństwa Żywności nie zaleca stosowania probiotyków w grupie krytycznie chorych pacjentów [42].

Mimo braku wytycznych określających ograniczenia konsumpcji preparatów probiotycznych przez pacjentów szpitalnych w Polsce, wydaje się zasadne zwrócenie szczególnej uwagi na możliwość wystąpienia bakteriemii lub innych niekorzystnych skutków spożywania bakterii kwasu mlekowego u pacjentów spełniających wszystkie wymienione kryteria:

- inwazyjna terapia układu pokarmowego lub innych organów,
- chroniczna immunosupresja,
- terapia antybiotykowa (zwłaszcza stosowanie antybiotyków o szerokim zakresie działania) [4,31].

Według niektórych autorów w grupie szczególnego ryzyka wystąpienia bakteriemii wywołanych pałeczkami *Lactobacillus* spp. znajdują się chorzy na zespół krótkiego jelita oraz białaczkę [33]. Inne czynniki ryzyka, takie jak: wiek lub ciąża nie zostały potwierdzone [28]. W celu zminimalizowania niebezpieczeństwa u osób z grupy ryzyka należy rozpatrzyć zasadność stosowania preparatów probiotycznych zawierających martwe kultury bakterii [35].

PISMIENICTWO

- [1] Ahrné S., Nobaek S., Jeppsson B., Adlerberth I., Wold A.E., Molin G.: The normal *Lactobacillus* flora of healthy human rectal and oral mucosa. *J. Appl. Microbiol.*, 1998; 85: 88-94
- [2] Besselink M.G., van Santvoort H.C., Buskens E., Boermeester M.A., van Goor H., Timmerman H.M., Nieuwenhuijs V.B., Bollen T.L., van Ramshorst B., Witteman B.J., Rosman C., Ploeg R.J., Brink M.A., Schaaferder A.F., Dejong C.H. i wsp.: Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, 2008; 371: 651-659
- [3] Boehm G., Fanaro S., Jelinek J., Stahl B., Marini A.: Prebiotic concept for infant nutrition. *Acta Paediatr.*, 2003; 92 (Suppl. s441): 64-67
- [4] Borriello S.P., Hammes W.P., Holzapfel W., Marteau P., Schrezenmeir J., Vaara M., Valtonen V.: Safety of probiotics that contain *lactobacilli* or *bifidobacteria*. *Clin. Infect. Dis.*, 2003; 36: 775-780
- [5] Brandtzaeg P., Kiyono H., Pabst R., Russell M.W.: Terminology: nomenclature of mucosa-associated lymphoid tissue. *Mucosal. Immunol.*, 2008; 1: 31-37
- [6] Cannon J.P., Lee T.A., Bolanos J.T., Danziger L.H.: Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: a retrospective review of over 200 cases. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2005; 24: 31-40
- [7] Cesta M.F.: Normal structure, function, and histology of mucosa-associated lymphoid tissue. *Toxicol. Pathol.*, 2006; 34: 599-608
- [8] Cukovic-Cavka S., Likic R., Francetic I., Rustemovic N., Opacic M., Vucelic B.: *Lactobacillus acidophilus* as a cause of liver abscess in a NOD2/CARD15-positive patient with Crohn's disease. *Digestion*, 2006; 73: 107-110
- [9] de Vrese M., Schrezenmeir J.: Probiotics and non-intestinal infectious conditions. *Br. J. Nutr.*, 2002; 88 (Suppl. 1): S59-S66
- [10] Didierlaurent A., Sirard J.C., Kraehenbuhl J.P., Neutra M.R.: How the gut senses its content. *Cell. Microbiol.*, 2002; 4: 61-72
- [11] Działo J., Niedźwiedzka-Rystwej P., Mękal A., Deptuła W.: Charakterystyka tkanki limfatycznej błon śluzowych przewodu pokarmowego i układu oddechowego. *Alergia Astma Immunol.*, 2010; 15: 197-202
- [12] Fanaro S., Chierici R., Guerrini P., Vigi V.: Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatr. Suppl.*, 2003; 91: 48-55
- [13] Fanning S., Hall L.J., Cronin M., Zomer A., MacSharry J., Goulding D., Motherway M.O., Shanahan F., Nally K., Dougan G., van Sinderen D.: Bifidobacterial surface-exopolysaccharide facilitates commensal-host interaction through immune modulation and pathogen protection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012; 109: 2108-2113
- [14] Feehley T., Stefka A., Tripathi P., McCoy K., Mazmanian S., Seo G.Y., Theriault B., Antonopoulos D., Chang E., Nagler C.: Commensal bacteria induce a barrier protective response to prevent sensitization to food allergens. *J. Immunol.*, 2013; 190: 120.19

- [15] Fooks L.J., Gibson G.R.: Probiotics as modulators of the gut flora. *Brit. J. Nutr.*, 2002; 88 (Suppl. 1): S39-S49
- [16] Forchielli M.L., Walker W.A.: The role of gut-associated lymphoid tissues and mucosal defence. *Brit. J. Nutr.*, 2005; 93 (Suppl. 1): S41-S48
- [17] Górska S., Jarzab A., Gamian A.: Bakterie probiotyczne w przewodzie pokarmowym człowieka jako czynnik stymulujący układ odpornościowy. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 653-667
- [18] Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Report of a Joint FAO/WHO Working Group, London, Ontario, Canada, 2002: 1-11
- [19] Hamilton-Miller J.M.: The role of probiotics in the treatment and prevention of *Helicobacter pylori* infection. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2003; 22: 360-366
- [20] Hao W.L., Lee Y.K.: Microflora of the gastrointestinal tract: a review. *Methods Mol. Biol.*, 2004; 268: 491-502
- [21] Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, Argentina 2001; 1-34
- [22] Husni R.N., Gordon S.M., Washington J.A., Longworth D.L.: *Lactobacillus* bacteremia and endocarditis: review of 45 cases. *Clin. Infect. Dis.*, 1997; 25: 1048-1055
- [23] Immunity and probiotics Nutrition And Health Collection, John Libbey Eurotext, Ed. Danone and Research Centers, Paris 1999
- [24] Kraehenbuhl J.P., Neutra M.R.: Epithelial M cells: differentiation and function. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2000; 16: 301-332
- [25] Land M.H., Rouster-Stevens K., Woods C.R., Cannon M.L., Cnota J., Shetty A.K.: *Lactobacillus* sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics*, 2005; 115: 178-181
- [26] Ledoux D., LaBombardi V.J., Karter D.: *Lactobacillus acidophilus* bacteraemia after use of a probiotic in a patient with AIDS and Hodgkin's disease. *Int. J. STD AIDS*, 2006; 17: 280-282
- [27] Macpherson A.J., Gatto D., Sainsbury E., Harriman G.R., Hengartner H., Zinkernagel R.M.: A primitive T cell-independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensal bacteria. *Science*, 2000; 288: 2222-2226
- [28] Marteau P.: Safety aspects of probiotic products. *Scand. J. Nutr.*, 2001; 45: 22-24
- [29] Marteau P.R.: Probiotics in clinical conditions. *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, 2002; 22: 255-273
- [30] Muszyński Z., Mirska I., Matuska K.: Pałeczki z rodzaju *Lactobacillus* – czynnik zakażeń oportunistycznych u dzieci. *Przegl. Epidemiol.*, 2007; 61: 79-84
- [31] Olano A., Chua J., Schroeder S., Minari A., La Salvia M., Hall G.: *Weissella confusa* (basonym: *Lactobacillus confusus*) bacteremia: a case report. *J. Clin. Microbiol.*, 2001; 39: 1604-1607
- [32] Rautio M., Jousimies-Somer H., Kauma H., Pietarinen I., Saxelin M., Tynkkynen S., Koskela M.: Liver abscess due to a *Lactobacillus rhamnosus* strain indistinguishable from *L. rhamnosus* strain GG. *Clin. Infect. Dis.*, 1999; 28: 1159-1160
- [33] Reid G., Hammond J.A.: Probiotics. Some evidence of their effectiveness. *Can. Fam. Physician*, 2005; 51: 1487-1493
- [34] Rolfe R.D.: The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J. Nutr.*, 2000; 130 (Suppl. 2S): 396S-402S
- [35] Saarela M., Mättö J., Mattila-Sandholm T.: Safety aspects of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species originating from human oro-gastrointestinal tract or from probiotic products. *Microb. Ecol. Health D*, 2002; 14: 233-240
- [36] Salminen M.K., Tynkkynen S., Rautelin H., Saxelin M., Vaara M., Ruutu P., Sarna S., Valtonen V., Järvinen A.: *Lactobacillus* bacteremia during a rapid increase in probiotic use of *Lactobacillus rhamnosus* GG in Finland. *Clin. Infect. Dis.*, 2002; 35: 1155-1160
- [37] Sanders M.E.: Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J. Nutr.*, 2000; 130 (Suppl. 2S): 384S-390S
- [38] Schrezenmeier J., de Vrese M.: Probiotics, prebiotics, and synbiotics – approaching a definition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001; 73 (Suppl. 2): 361S-364S
- [39] Servin A.L.: Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2004; 28: 405-440
- [40] Stiles M.E., Holzapfel W.H.: Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.*, 1997; 36: 1-29
- [41] Tomasik P.J., Tomasik P.: Probiotics and prebiotics. *Cereal Chem.*, 2003; 80: 113-117
- [42] The use of probiotics for patients in hospitals. A benefit and risk assessment. *Opin. Steering Committee Norwegian Sci. Committee Food Safety*, 2009; 1-29
- [43] Weiner H.L., van Rees E.P.: Mucosal tolerance. *Immunol. Lett.*, 1999; 69: 3-4

Autorki deklaruja brak potencjalnych konfliktów interesów.