



**BIULETYN**  
**Wydziału Farmaceutycznego**  
**Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego**

Biul. Wydz. Farm. WUM, 2017, 10, 86-94  
<http://biuletynfarmacji.wum.edu.pl/>

## PROBIOTYKI A ZDROWIE - DZIŚ I JUTRO

**Dominika Winiarz<sup>1\*</sup>, Kamila Domańska<sup>1</sup>, Kinga Paluch<sup>1</sup>, Dorota Skrajnowska<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Studenckie Koło Naukowe „Bromatos” przy Zakładzie Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

<sup>2</sup> Zakład Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej  
Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

\* autorka korespondująca, tel: + 48 669 028 025, e-mail: [dominikawiniarz41@gmail.com](mailto:dominikawiniarz41@gmail.com)

*Otrzymany 28.09.2017, zaakceptowany 15.11.2017, zamieszczony 23.12.2017*

### STRESZCZENIE

Stosowanie probiotyków staje się coraz bardziej powszechne i popularne na całym świecie. Probiotyki są dostępne w żywności, suplementach diety i jako leki (kapsułki, tabletki, pigułki i proszki). Probiotykami są mikroorganizmy wykazujące korzystne działanie zdrowotne. Mogą być stosowane w zapobieganiu i leczeniu biegunki związanej z terapią antybiotykową oraz ostrej postaci biegunki zakaźnej, łagodzą objawy zespołu jelita drażliwego i atopowego zapalenia skóry u dzieci. Gatunki powszechnie stosowane to *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus thermophilus*, i *Saccharomyces*. Szczepy probiotyczne, wybierane spośród dzikich szczepów, muszą wykazywać takie cechy jak konkurencja z patogenami, synteza odpowiednich metabolitów i zdolność do adhezji. Szczepy probiotyczne muszą także posiadać właściwości umożliwiające ich bezpieczne użycie, a także być odporne na warunki technologiczne oraz warunki panujące w przewodzie pokarmowym. Odwrotnie - procesy produkcyjne, wykorzystywane do przygotowywania probiotyków, muszą być tak dostosowane, aby zapewniać przeżycie bakterii. W celu pobudzenia wzrostu bakterii probiotycznych stosuje się prebiotyki. Synbiotyki natomiast stanowią połączenie pro- i prebiotyków. Farmabiotyki są szczególnym rodzajem probiotyków, zmodyfikowanym przy użyciu inżynierii genetycznej w celu osiągnięcia pożądanych cech funkcjonalnych lub technicznych. Pozytywne działanie probiotyków na układ odpornościowy jest niekwestionowane. Jednak w świetle niektórych doniesień dotyczących ich niepożądanych działań, jak infekcje bakteryjne, fungemie, objawy anafilaktyczne, konieczne jest wykluczenie ich stosowania u niektórych pacjentów. Stosując probiotyki należy więc opierać się na rzetelnie przeprowadzonych badaniach klinicznych, a nie na tekstach reklamowych. Stosowanie probiotyków, często dostępnych jako suplementy diety, obecnie opiera się w znacznym stopniu na potencjalnych korzyściach dla zdrowia deklarowanych przez producentów, przy braku oświadczeń zdrowotnych i żywieniowych. W pracy podsumowano aktualne dane z wiarygodnych metodologicznie badań z randomizacją lub ich metaanaliz dotyczących probiotyków stosowanych w różnych chorobach.

**SŁOWA KLUCZOWE:** probiotyki, definicja probiotyku, efekty zdrowotne stosowania probiotyków, bezpieczeństwo terapii probiotykami.

### ABSTRACT

#### PROBIOTICS AND HEALTH - TODAY AND TOMORROW

Probiotics are being used worldwide and are increasingly gaining in popularity. Probiotics are available in foods, as dietary supplements and as drugs (capsules, tablets, pills and powders). Probiotics are microorganisms with potential health benefits. They may be used to prevent and treat antibiotic-associated diarrhea and acute infectious diarrhea. They may also be effective in relieving symptoms of irritable bowel syndrome, and in treating atopic dermatitis in children. Species commonly used include *Lactobacillus sp.*, *Bifidobacterium sp.*, *Streptococcus thermophilus*, and *Saccharomyces*. Probiotic strains, which are selected from wild strains, have to possess certain qualities such as: being competitive against pathogens, synthesizing appropriate metabolic products and having the ability to adhere. Probiotic strains also have to show properties that allow them to be safe to use as well as render them resistant to conditions occurring during the production processes and in the human gastrointestinal tract. Conversely, the production processes used in the preparation of probiotics have to be adjusted to maintain acceptable survival rates of bacteria. To stimulate the growth of probiotic bacteria, prebiotics are used. Synbiotics are a combination of pro- and prebiotics. Pharmabiotics are a particular kind of probiotics, modified using genetic engineering to achieve desirable traits, either functional or technological. The positive effect of probiotics on the immune system is unquestionable. However, in view of individual reports on their adverse reactions (bacterial infections, fungemia, anaphylactic symptoms), their use in some patients is contraindicated. When using probiotics, it is necessary to rely on the results of well-designed clinical trials, not on advertisements. Currently, in view of a lack of solid health and nutritional data, the use of probiotics continues to rely on health claims made by the manufacturers. The purpose of this article is to provide evidence-based up-to-date information on the use of probiotics for the treatment and/or prevention of various disorders.

**KEYWORDS:** probiotics, definition of a probiotic, health effects of the use of probiotics, safety of probiotics therapy.

## 1. Wprowadzenie

Jelita osoby dorosłej są w stanie eubiozy. 90% liczby bakterii żyjących na ich powierzchni stanowią bakterie kwasu mlekowego (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*), wytwarzające kwas mlekowy i krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe. Pozostałe 10% to enterokoki i *Escherichia coli* (1%) oraz 9% bakterie z rodzaju *Clostridium*, *Staphylococcus* i zarodniki grzybów [1]. Na powierzchni jelit, wynoszącej 300-400 m<sup>2</sup>, występuje około 400 różnych gatunków bakterii, w ilości 10<sup>13</sup>-10<sup>14</sup>, głównie w jelicie grubym. Jest to liczba 10 razy większa od liczby wszystkich ludzkich komórek [1].

W wyniku stresu, choroby czy nieprawidłowej diety dochodzi do intensywnego namnażania szkodliwych bakterii (dysbioza) i wzrostu stężenia produkowanych przez nie substancji toksycznych (m.in. amoniaku, azotynów, amin), uszkodzenia kosmków jelitowych, pogrubienia ścian jelit i licznych problemów jelitowych, jak wzdęcia, biegunki, zaparcia i niestrawność [1]. Zastosowanie w odpowiednich ilościach probiotyków, czyli niepatogennych mikroorganizmów, może wywołać korzystne skutki zdrowotne [2,3]. Nazwa probiotyk wywodzi się z greckich słów *pro-* „dla” i *bios-* „życie”. Probiotyki według definicji WHO z 2002 r. są to żywe drobnoustroje, które podane w odpowiedniej ilości mogą korzystnie wpływać na organizm, czyli poprawiać stan zdrowia lub ograniczać ryzyko zachorowania [2,5].

Probiotyki dostępne na rynku można sklasyfikować jako: suplementy diety, składniki żywności funkcjonalnej oraz jako leki. Dwie pierwsze formy powinny poprawiać ogólny stan zdrowia, natomiast od leków - podlegających bardzo rygorystycznym wymaganiom rejestracji, potwierdzającym ich skład, skuteczność i bezpieczeństwo stosowania - wymaga się działania w kontekście konkretnych jednostek chorobowych [3,4].

Skoro probiotyki dostępne są w bardzo różnych postaciach - preparatów farmakologicznych, suplementów diety i środków spożywczych [6], nasuwa się pytanie, czy ich korzystne działanie, tak bardzo reklamowane w mediach, jest rzeczywiście niezależne od formy? Odrębne zagadnienie: które bakterie można zaliczyć do probiotycznych przy wspomaganie terapii w danej jednostce chorobowej, czy choćby w zastosowaniu do poprawy ogólnego stanu zdrowia, skoro wiadomo, że poszczególne szczepy należące do tego samego gatunku mogą wykazywać różne efekty zdrowotne? Niezbędne jest zatem dokładne określenie szczepu drobnoustroju w danym probiotyku [2,7].

W niniejszym artykule omówiono następujące zagadnienia: otrzymywanie i mechanizm działania szczepów probiotycznych, zastosowanie kliniczne, bezpieczeństwo stosowania, dawkowanie i oznakowanie preparatów probiotycznych oraz pojęcie synbiotyków i farmabiotyków.

## 2. Główne kryteria stawiane szczepom probiotycznym

Zalecenia dotyczące szczepów probiotycznych wg. FAO/WHO są bardzo precyzyjne [2,7]. Aby dany szczep uznać za probiotyczny, powinien on pochodzić z organizmu człowieka oraz musi być zdefiniowany rodzajowo i gatunkowo. W praktyce oznacza to, że probiotyki pochodzenia jelitowego otrzymywane są z wyselekcjonowanych szczepów zasiedlających przewód pokarmowy zdrowych noworodków, a probiotyki dopochwowe z układu moczowo-płciowego zdrowych młodych kobiet [2,8].

Większość preparatów probiotycznych jest podawana *per os*, dlatego muszą one wykazywać odporność na działa-

nie soku żołądkowego i kwasów żółciowych. Szczepy te powinny mieć pozytywny wpływ na organizm człowieka, potwierdzony w odpowiednich wiarygodnych badaniach klinicznych. Mogą one wpływać na organizm ludzki na kilka sposobów, na przykład przez wytwarzanie substancji o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, adhezję do komórek nabłonkowych jelita, konkurencję o receptory z typowymi patogenami przewodu pokarmowego i układu moczowo-płciowego. Nie mogą one w negatywny sposób wpływać na nasz organizm, tym samym nie mogą działać patogennie ani kancerogennie. Ponadto, powinny być stabilne w czasie utrwalania (zamrażania lub liofilizacji), powinny wykazywać żywotność w czasie dystrybucji i nie zmieniać swoich cech organoleptycznych [5-7]. Istotne jest także, aby łatwo produkowały biomasę, wykazywały stabilność genetyczną i oporność na bakteriofagi [1,6-11].

Jako probiotyki wykorzystywane są przede wszystkim bakterie wytwarzające kwas mlekowy z rodzajów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* (*L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* i *L. helveticus*, *B. animalis*, *B. breve*) [2,4,5]. Oprócz nich stosowane są inne mikroorganizmy z rodzajów *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* i *Weissella*, *Bacillus subtilis* [2], niektóre szczepy *Escherichia coli* (np. *E. coli* Nissle 1917) oraz *Propionibacterium spp.*, jak również drożdżaki z rodzaju *Saccharomyces*, np. *S. boulardii* [5-7].

Bakterie probiotyczne w wyniku fermentacji węglowodanów wytwarzają kwas mlekowy identyczny z kwasem produkowanym w mięśniach. Jest on całkowicie metabolizowany przez człowieka, przy czym izomer L(+) kwasu mlekowego powinien stanowić powyżej 50% całkowitej ilości [1,10,12]. Bakterie produkujące tylko ten kwas nazywane są homofermentacyjnymi. Niektóre bakterie mlekowe produkują w znacznie mniejszych ilościach również inne kwasy, jak octowy, mrówkowy, propionowy, benzoesowy czy mewalonowy. Proporcje pomiędzy wytwarzanymi kwasami organicznymi zależą od szczepu bakterii metabolizujących określone substraty [10,11]. Te bakterie zwane są heterofermentacyjnymi.

## 3. Otrzymywanie szczepów probiotycznych

Preparaty probiotyczne są najczęściej przygotowywane w postaci liofilizowanej biomasy. Aby otrzymać suchą biomasę, która następnie zamyka się w ampułkach, saszetkach czy kapsułkach, prowadzi się suszenie sublimacyjne. Większość bakterii probiotycznych jest termolabilna i ginie w temperaturze 60-85 °C [6,7,9], dlatego korzystne jest suszenie sublimacyjne, które można prowadzić długo i w niższych temperaturach. Preparaty otrzymywane tą metodą charakteryzują się dużą powierzchnią cząstek, dobrą rozpuszczalnością oraz higroskopijnością. Ponadto odznaczają się trwałością i wysoką przeżywalnością podczas przechowywania. Uważa się, że liofilizacja bakterii probiotycznych gwarantuje odpowiednią jakość suchego preparatu bakterieryjnego [7].

Innym procesem, rzadziej teraz stosowanym, jest suszenie rozpyłowe. Podczas suszenia tą metodą może dochodzić do uszkodzenia komórek bakterii probiotycznych. Ponadto uzyskany proszek ma nieodpowiednią zwilżalność, co utrudnia rehydrację. Jednak głównym problemem jest w tym przypadku zbyt wysoka temperatura powietrza w aparaturze. Przeżywalność szczepu *Lactobacillus paracasei*

w temperaturze 70-75°C wynosi ponad 90%, jednak w temperaturze 100-105°C spada do kilku procent, a wartość zerową osiąga w 120°C [7]. Argumentem za stosowaniem metody suszenia rozpyłowego są znacznie niższe koszty niż dla procesu liofilizacji. Trzeba jednak bardzo rygorystycznie podchodzić do doboru temperatury, zwłaszcza że nawet szczepy blisko ze sobą spokrewnione mogą inaczej reagować na jej podwyższenie.

Trwałość suchej formy bakterii, otrzymanej w wyniku procesu liofilizacji lub suszenia rozpyłowego, jest silnie zależna od temperatury przechowywania i zawartości w niej wody [11]. Pomocne jest zastosowanie odpowiedniego nośnika lub substancji ochronnych, jak kwas askorbinowy, glutaminian sodu, ekstrakt drożdżowy, maltodekstryna, skrobia, guma arabska, żelatyna lub nawet jogurt [7]. Mleko w proszku jest także dobrym nośnikiem bakterii probiotycznych podczas suszenia, gdyż stanowi naturalne środowisko występowania bakterii kwasu mlekowego. Ponadto zapewnia odpowiednie buforowanie treści żołądka, przez co wpływa na żywotność bakterii podczas ich wędrówki przez przewód pokarmowy do miejsca działania, czyli jelita grubego.

W badaniach wykazano, że kolejnym problemem technologicznym jest zachowanie żywotności bakterii podczas przechowywania oraz przechodzenia przez żołądek, dlatego pojawiły się nowe techniki przygotowania probiotyków [10,11]. Są to m.in. mikrokapsułki lub mikrogranulki, chroniące przed działaniem kwasu żołądkowego i żółci, oraz zabezpieczające przed wpływem warunków zewnętrznych jak temperatura czy wilgotność [10,11]. Każdą mikrogranulkę powleka się specjalną polewą, która m.in. zabezpiecza przed czynnikami toksycznymi i jednocześnie maskuje kwaśny smak, specyficzny zapach oraz zapewnia trwałość i kontrolowane uwalnianie. W procesie mikrokapsulacji używa się takich substancji jak: alginiany, gumy, karageniany, chitosan, skrobia, żelatyna oraz białka mleka [10-12].

#### 4. Mechanizm działania szczepów probiotycznych

Rozległa powierzchnia błony śluzowej jelit jest stale narażona na działanie licznych patogenów, które po osadzeniu się na niej inicjują pierwszy etap choroby. Ważną cechą szczepu probiotycznego jest zdolność adherencji do błony śluzowej i wytworzenie specyficznego ochronnego biofilmu. Zdolność i siła adhezji jest cechą indywidualną konkretnego szczepu. Probiotyki mogą również przyczyniać się do regeneracji błony śluzowej stymulując szybkość podziałów i wzrost liczby komórek w kosmkach jelita. Ze względu na mnogość szczepów probiotycznych, także mechanizm ich działania jest bardzo zróżnicowany [13]. Można wyróżnić trzy rodzaje aktywności. Przede wszystkim jest to wymienione wcześniej specyficzne oddziaływanie w obrębie światła jelita, dodatkowo występują też mechanizmy nabłonkowe i immunologiczne [14].

**Oddziaływanie probiotyków w świetle jelita** przepuszczalnie wiąże się z konkurencją o receptory i substancje odżywcze z komórkami drobnoustrojów patogennych, redukcją adhezji patogenów do komórek nabłonka jelitowego [15], wytwarzaniem bakteriocyn i kwasów organicznych [12,16], ponadto zakwaszaniem treści jelitowej (dzięki kwasom: octowemu, mlekowemu i masłowemu) [17,18] oraz wytwarzaniem substancji o działaniu immunomodulacyjnym.

**Mechanizmy śluzówkowe** polegają na modyfikacji receptorów dla toksyn bakteryjnych na drodze enzymatycznej, stabilizacji bariery jelitowej i zmniejszeniu stanu zapalnego, zwiększonej syntezie mucyn oraz wiązaniu i aktywacji receptorów Toll-podobnych, wykazujących ekspresję także w komórkach nabłonkowych przewodu pokarmowego [16,19].

**Mechanizmy immunologiczne** obejmują modulację odpowiedzi odpornościowej poprzez stymulację fagocytozy [20], hamowanie wytwarzania prozapalnych cytokin (np. IL-8, TNF- $\alpha$ ) powstających w wyniku kontaktu patogenów z komórkami nabłonka jelita [3,21,22]. Jednocześnie indukują wytwarzanie czynników przeciwzapalnych, takich jak transformujący czynnik wzrostu beta (TGF- $\beta$ ) i cytokina TSLP, co wpływa na dojrzewanie komórek dendrytycznych [23]. Wśród cytokin wydzielanych przez komórki dendrytyczne i makrofagi w odpowiedzi na obecność szczepów probiotycznych na uwagę zasługują: IL-12 i IL-10. Pierwsza stymuluje różnicowanie limfocytów T CD4+ w limfocyty typu Th1 oraz zwiększa aktywność cytotoksyczną komórek NK (naturalni zabójcy), zaś IL-10 działa immunosupresyjnie i przeciwzapalnie [24].

Oprócz głównego zastosowania, bezpośrednio odnoszącego się do pracy przewodu pokarmowego, można w piśmiennictwie naukowym znaleźć doniesienia o korzystnym oddziaływaniu probiotyków w następujących zakresach:

- infekcje pochwowe (*vaginitis*): przez przychepność do komórek dróg moczowych i pochwy, współzawodnictwo o substancje odżywcze z innymi drobnoustrojami patogennymi, produkcję specyficznych inhibitorów ( $H_2O_2$ , biosurfaktanty) [3,25,26],
- hamowanie procesu kancerogenezy: drogą wiązania mutagenów/kancerogenów (nitrozoamin i ich prekursorów, aflatoksyn, azobarwników), usuwania azotanów (III) [6], hamowania syntezy enzymów fekalnych prokancerogennych:  $\beta$ -glukuronidazy,  $\beta$ -glukozydazy, nitroreduktazy (IV) [1],
- wpływ na stężenie lipidów we krwi i ryzyko chorób serca i miażdżycy: przez obniżenie poziomu cholesterolu, rozpręganie kwasów żółciowych i ich wytrącanie, zmiany aktywności hydrolazy soli żółci, obniżanie stężenia II-rzędowych kwasów żółciowych [27],
- działanie przeciwalergiczne - przez przywrócenie homeostazy układu odpornościowego, regulację syntezy cytokin, utrudnianie przedostania się antygenów do krwi [28],
- obniżanie ciśnienia - w wyniku konwersji peptydaz w tripeptydazy (inhibitory konwertazy angiotensyny) [5],
- zakażenia wywołane przez *Helicobacter pylori* - występuje kompetycja o substancje odżywcze, ponadto produkcja kwasu mlekowego przez *Lactobacillus* zmniejsza aktywność ureazy *H. pylori* u ludzi [5],
- regulacja motoryki przewodu pokarmowego (przy zaparciach).

#### 5. Skuteczność kliniczna probiotyków w wybranych jednostkach chorobowych

Do oceny skuteczności klinicznej probiotyków znajdują zastosowanie badania z randomizacją oraz metaanalizy. W badaniu z randomizacją (ang. *randomisation*, od *random* - losowy, przypadkowy) do grupy badanej, zwanej także doświadczalną, kwalifikuje się losowo pacjentów, którym podaje się nowy lek, a do grupy kontrolnej pacjentów, którzy

otrzymują placebo lub są leczeni standardowo. Metaanaliza natomiast jest ilościowym podsumowaniem wszystkich dostępnych, wiarygodnych badań klinicznych, dotyczących tego samego zagadnienia [29]. Poniżej przedstawiono przykładowe zastosowania probiotyków w określonej jednostce chorobowej, oparte na tego typu analizach.

- **Biegunka poantybiotykowa** (występuje w 5-40% przypadków antybiotykoterapii) - dowiedziono zmniejszenie o 60% ryzyka wystąpienia biegunki [6,7]. Stosowane probiotyki - *S. boulardii* (dorośli i dzieci), *Lactobacillus GG*, *L. rhamnosus E/N*, *L. rhamnosus Oxy*, *L. rhamnosus Pen*, *Str. thermophilus* & *B. lactis Bb12* (dzieci), *L. acidophilus* w kombinacji z *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* w kombinacji z *B. longum*, *Enterococcus faecium SF68* oraz *L. casei DN-114 001* (preparat Actimel u osób > 50 r.ż.) [6,7,30-33].
- **Ostra biegunka infekcyjna** - skrócenie leczenia (zwłaszcza u dzieci) [34-36]. Stosowane probiotyki - *L. rhamnosus* [37], *S. boulardii* [38]. *L. rhamnosus 19070-2* w kombinacji z *L. reuteri DSM 12246* (54 z II), *L. reuteri (II)* [7].
- **Biegunka wywołana zakażeniem *Clostridium difficile*** - nie ma jednoznacznych badań potwierdzających skuteczność stosowania probiotyków [39,40]. Stosowane probiotyki - *L. casei DN-114 001* (preparat Actimel u osób > 50 r.ż.) [7], *S. boulardii*. *Lactobacillus rhamnosus GG*, [39,41].
- **Biegunka podróżnych** (dotyczy 55% osób wyjeżdżających do krajów o obniżonym standardzie sanitarnym) - stwierdzono nieznaczne zmniejszenie ryzyka wystąpienia biegunki [42,43] Stosowane probiotyki - *S. boulardii* [43], kombinacja *L. acidophilus* + *B. bifidum*+ *L. bulgaricus*+ *Str. Thermophilus* [6].
- **Biegunka rotawirusowa** - zapobieganie biegunce rotawirusowej u dzieci przewlekle hospitalizowanych. Stosowane probiotyki - *L. reuteri*, *B. lactis Bb-12* (dawniej *B. bifidum*) w kombinacji z *Streptococcus thermophilus* [28].
- **Biegunka w zespole jelita drażliwego** - skuteczność umiarkowana w łagodzeniu objawów chorobowych. Stosowane probiotyki - *Bifidobacterium* [39], kombinacja (VSL#3): *L. acidophilus*, *B. Breve* + *B. longum* + *B. infantis* + *L. plantarum* + *L. paracasei* + *L. bulgaricus* + *Str. thermophilus* [28].
- **Hamowanie wzrostu *Helicobacter pylori*** - zwiększenie szansy na eradykację *H. pylori* i zmniejszenie częstości działań niepożądanych związanych z terapią eradykacyjną. [44]. Stosowane probiotyki - *L. acidophilus CRL639* także w kombinacji z *B. lactis*, *L. casei DN-114'001* [7], *L. rhamnosus GG*, *L. johnsonii LA*, *Saccharomyces boulardii* [33].
- **Zespół jelita drażliwego** - nie ma podstaw do stosowania probiotyków w leczeniu tego schorzenia [45,46]. Kombinacja probiotyków (*Bifidobacterium* i *Lactobacillus*) może łagodzić objawy [45,47].
- **Leczenie zaparcie czynnościowego** - istnieje niewiele dowodów naukowych do rutynowego zalecania probiotyków. Stosowane probiotyki - *B. lactis DN-173 010* (Activia), *L. casei Shirota*, *E. coli Nissle 1917* (u dorosłych.) *L. casei rhamnosus Lcr 35* (u dzieci), *L. acidophilus NCF0 1748* [1,48].
- **Nieswoiste zapalenie jelit (NZJ)** - nie ma podstaw naukowych do stosowania probiotyków w leczeniu nieswoistych chorób zapalnych jelit u dzieci oraz w chorobie Le-

śniewskiego-Crohna [49,50], ale potwierdzono skuteczność stosowania u dorosłych we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego (UC- *colitis ulcerosa*) - niepatogenny szczep *E. coli Nissle 1917*). Zaobserwowano, że podanie osobom chorym na UC szczepu *E.coli Nissle 1917* czy też *Lb.rhamnosus GG* zapobiega równie skutecznie nawrotom choroby, co mesalazyna, przeciwzapalny lek stosowany w terapii NZJ [51,52] i w profilaktyce *pouchitis* (zapalenie operacyjne wytworzonego woreczka kałowego). Stosowane probiotyki - VSL#3 (cztery szczepy bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, trzy szczepy z rodzaju *Bifidobacterium* oraz *Streptococcus salivarius thermophilus*) [3,53].

- **Zapalenie trzustki** - nie potwierdzono skuteczności stosowania probiotyków [54]. Dorośli z ciężką postacią zapalenia trzustki przyjmujący probiotyki (kombinacja - *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. salivarius*, *L. lactis*, *B. bifidum*, *B. lactis*) wykazali się podobnym ryzykiem powikłań w porównaniu z placebo, ale z istotnie wyższym ryzykiem zgonu w czasie 90-dniowej obserwacji [6,55].
- **Szpitalne zapalenie płuc** - potwierdzono skuteczność w zapobieganiu wentylacyjnemu zapaleniu płuc u zaintubowanych pacjentów, ale nie potwierdzono skrócenia czasu trwania intubacji [56]. Stosowany probiotyk - *Lactobacillus rhamnosus GG* [56,57].
- **Martwicze zapalenie jelit u wcześniaków (NEC - *Necrotizing enterocolitis*)** - w metaanalizie 24 badań u wcześniaków urodzonych przed 37 tygodniem wykazano, że profilaktyczne podawanie probiotyków może zmniejszać częstość występowania NEC oraz śmiertelność [57].

## 6. Bezpieczeństwo stosowania probiotyków

Bezpieczeństwo drobnoustrojów stosowanych powszechnie jako probiotyki zostało potwierdzone wieloma latami doświadczeń, stąd otrzymały status organizmów bezpiecznych dla zdrowia ludzkiego (GRAS). Szczepy probiotyczne w momencie ich przyjęcia nie mogą stanowić żadnego ryzyka dla organizmu człowieka oraz powinny być podane w formie, która warunkuje ich stabilność i niezmienność. Jednakże zgodnie z ustaleniami WHO z 2002 r. [2,8], oprócz szczegółowej charakterystyki probiotyków, zawarto również informacje dotyczące ewentualnych działań niepożądanych. Agencja Żywności i Leków FDA zaleciła przeprowadzanie testów bezpieczeństwa ich stosowania. Badania obejmują ocenę profilu antybiotykoodporności, niewystępowania przenośnych genów lekooporności na antybiotyki dla ludzi oraz nie syntetyzowania D-mleczanów, dekoniugowania soli żółciowych i produkcji toksyn [2,8]. Wykonuje się także badania infekcyjności na zwierzętach immunodefektywnych. Jeśli wyniki są pozytywne, przeprowadza się badania kliniczne na zwierzętach, a następnie z udziałem ludzi. Badania kliniczne angażujące dużą grupę uczestników obejmują fazę 1, oceniającą bezpieczeństwo szczepu, i fazę 2, oceniającą skuteczność szczepu i określenie skutecznej dawki. Faza 3 obejmuje ocenę skuteczności stosowania probiotyków w porównaniu ze standardowym leczeniem (nie dotyczy produktów spożywczych, ponieważ ich głównym przeznaczeniem jest profilaktyka). Po spełnieniu wszystkich procedur można zaklasyfikować szczep jako probiotyczny.

Probiotyki są powszechnie uważane za bezpieczne, jednak w nielicznych przypadkach mogą powodować ujemne skutki zdrowotne dla organizmu człowieka. Do ewentualnych działań niepożądanych należą między innymi:

- **Fungemie.** Najczęściej występują u pacjentów, którzy otrzymywali szczepy probiotyczne *Saccharomyces cerevisiae* lub *Saccharomyces boulardii* [58,59]. Odnotowano również bakteriemie związane z *Lactobacillus GG*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*. U niektórych pacjentów po zastosowaniu *Lactobacillus GG*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium breve* lub kombinacji tych probiotyków wystąpiły przypadki sepsy [60]. Opublikowano również dane dotyczące zapalenia wsierdza oraz ropni związanych ze stosowaniem *Lactobacillus rhamnosus* [61]. Pomimo tego rodzaju doniesień należy podkreślić, że nie wzrasta liczba bakteriemii u pacjentów, choć zdecydowanie wzrasta częstość spożycia probiotyków. Zaledwie 0,02% wszystkich bakteriemii szpitalnych powodował szczep *Lactobacillus*.
- **Szkodliwe działanie metaboliczne.** To schorzenie powiązane zostało z kwasicą D-mleczanową oraz rozkładaniem kwasów żółciowych u pacjentów z zespołem krótkiego jelita [62]. Z kolei w przypadkach zapalenia trzustki przypuszczalną przyczyną zgonu mógł być wzrost zapotrzebowania na tlen w śluzówce jelita, które z powodu podstawowej choroby było silnie niedotlenione [63].
- **Pobudzenie układu immunologicznego u osób immunokompetentnych.** Przypuszcza się, że u pewnej grupy chorych działanie probiotyków przez wpływ na cytokiny i komórki dendrytyczne może doprowadzić do rozwoju stanu zapalnego [64,65]. Brak jednak konkretnych danych potwierdzających tę teorię.
- **Translokacja genów.** Wysunięto przypuszczenie, że niektóre szczepy bakterii probiotycznych mogą przejąć plazmidy pochodzące z bakterii kwasu mlekowego, które zawierają geny oporności na szereg antybiotyków, np. erytromycynę, tetracyklinę, streptomycynę, chloramfenikol [66]. Nie są to jednak dane potwierdzone wieloma badaniami.

Na podstawie opublikowanych prac wnioskowano, że ryzyko zakażenia bakteriami probiotycznymi jest niewielkie, a spożycie preparatów zawierających probiotyki u osób bez obciążeń zasadniczo jest pozbawione ryzyka [67,68]. W oświadczeniu wydanym przez FDA (*Food and Drug Administration*) [8] wymieniono grupy chorych ze zwiększonym ryzykiem działań niepożądanych po spożyciu probiotyków. Należą do nich m.in. pacjenci hospitalizowani na oddziałach intensywnej opieki medycznej z cewnikiem wprowadzonym do dużych żył, pacjenci z uszkodzoną ścianą przewodu pokarmowego (w przypadkach nieswoistego zapalenia jelit, radioterapii, chemioterapii, ostrego brzucha, neutropenii), kobiety ciężarne, osoby z chorobami serca (zapalenie wsierdza, wady zastawek) i niedoborami odporności (pacjenci po chemioterapii, radioterapii, sterydoterapii, leczeniu immunosupresyjnie po przeszczepach), wcześniaki, oraz ciężko chorzy w stanie krytycznym [54].

## 7. Znakowanie probiotyków

Probiotyk przed dopuszczeniem do sprzedaży musi być odpowiednio oznakowany. Na etykiecie należy umieścić następujące dane: skład, rodzaj, gatunek i symbol szczepu, minimalną liczbę żywych bakterii pod koniec daty trwałości produktu, zalecaną dawkę produktu, spodziewane efekty zdrowotne, warunki przechowywania oraz dane kontaktowe producenta [1,6,9].

## 8. Zasady dawkowania

Obecnie nie ma konkretnie określonych zasad dawkowania probiotyków. Stosuje się taką dawkę, która w badaniu przeprowadzonym u udziałem ludzi, z danym szczepem probiotycznym, wykazała korzystny efekt [69]. Tym samym nieznaną jest także minimalna skuteczna dawka probiotyków, zaś dawki stosowane w celach leczniczych lub profilaktycznych są bardzo zróżnicowane. Uważa się, że minimalna dawka terapeutyczna wynosi od  $10^6$ - $10^9$  [7] do  $10^8$ - $10^{10}$  CFU dziennie (CFU, *colony forming units*) [70,71]. Kanadyjski Natural Health Products Directorate zaleca minimalną dawkę w wysokości  $5 \cdot 10^9$  CFU/dzień przez 5 kolejnych dni [10]. Wykazano, że wzbogacenie diety w  $10^9$ - $10^{12}$  komórek bakterii probiotycznych już po kilku tygodniach stosowania może spowodować zwiększenie liczby naturalnych komórek bójczych w surowicy krwi oraz wzmocnić aktywność makrofagów i limfocytów [72,73].

## 9. Farmabiotyki

Głównym problemem związanym z wytwarzaniem probiotyków jest ich wrażliwość na podwyższoną temperaturę i niską aktywność wody. Aktywność wody jest to stosunek ciśnienia pary wodnej nad powierzchnią roztworu do ciśnienia nad powierzchnią czystej chemicznie wody przy tych samych ciśnieniu atmosferycznym i temperaturze. Wraz ze wzrostem stężenia związków rozpuszczalnych aktywność wody osiąga wartość poniżej 1. Woda jest niezbędna do rozwoju drobnoustrojów. Przy niższych wartościach aktywności wody a zwłaszcza poniżej wartości minimalnej (0,91) następuje zatrzymanie ich wzrostu. [74,75]. Zastosowanie modyfikacji genetycznych umożliwia stworzenie szczepów bardziej odpornych na te czynniki i jednocześnie zapewniających lepsze efekty kliniczne. Substancje będące tzw. osmoprotektantami, jak trehaloza i betaina, chronią cytozol i stabilizują białka przed utratą wody. Transport betainy kodowany jest przez gen *betI* u *L. monocytogenes* (dziki szczep patologiczny o dużej odporności na tzw. biotechnologiczne czynniki stresowe). Stosuje się wklonowanie tego genu do szczepu probiotycznego *Lactobacillus salivarius* UCC118 [76]. Z kolei wklonowanie genu *ostAB* z *E. coli*, który jest niezbędny do syntezy trehalozy, do szczepu *Lactococcus lactis* wpływa korzystnie na przeżywalność tych bakterii w czasie procesu produkcyjnego. Z kolei modyfikacja genetyczna *Lactobacillus paracasei* genem *GroESL* przywraca prawidłową strukturę przestrzenną białek poddanych działaniu wysokiej temperatury [77]. Zwiększenie odporności na kwaśne środowisko żołądka szczepu *Bifidobacterium breve* UCC 2003 uzyskano za pomocą genu *betI*. Z kolei odporność na żółć osiągnięto przez wklonowanie genu *bil E*, występującego u *L. monocytogenes* [74]. Inne możliwe i stosowane modyfikacje genetyczne dotyczą np. wzmoczonej ekspresji receptorów na powierzchni komórek bakteryjnych dla określonych toksyn, wytwarzanych przez enteropatogenne bakterie [18,78]. Zmodyfikowany szczep *E coli R1* posiada bardzo dużą liczbę analogów powierzchniowego receptora toksyny Stx (toksyny Shiga) z *Shigella dysenteriae*.

Modyfikacje genetyczne probiotyków mogą również służyć do przygotowywania doustnych szczepionek. Stają się nośnikami dla genów kodujących antygeny specyficzne dla patogenów. Przykładem może być szczep *Lactococcus lactis* [79] z ekspresją białek powierzchniowych odpowiedzialnych za przenikanie komórek bakteryjnych do gospodarza, tzw. internalin. Transformowany w ten sposób szczep *L.*

*lactis* wnika do nabłonka jelit, uwalnia plazmid, który stanowi wektor konkretnych genów kodujących antygeny, tj. szczepionkę DNA. Doustna forma podania dodatkowo naśladuje zakażenie, co pobudza układ immunologiczny do długoterminowej odpowiedzi immunologicznej.

Stosowanie farmabiotyków pociąga sobą obawy dotyczące bezpieczeństwa biologicznego. Jednym z rozwiązań, by uniknąć zagrożenia, jest uzależnienie szczepu od obecności tyminy w środowisku. Można to osiągnąć poprzez włączenie genu *thyA* odpowiedzialnego za ekspresję syntazy tymidylanowej [74]. Brak tyminy byłby bezwzględnie letalny dla bakterii i w efekcie bakterie nie byłyby w stanie akumulować się w środowisku.

## 10. Perspektywy zastosowania probiotyków w żywności, pojęcie synbiotyków

Obecnie nie ma określonych wymagań prawnych dotyczących zakresu badań, jakie muszą być przeprowadzone, aby potwierdzić korzystny wpływ wyselekcjonowanych szczepów (probiotycznych) lub żywności z dodatkiem tych szczepów na zdrowie konsumenta [4]. Na rynku znajdują się środki spożywcze zwane „probiotycznymi” lub „zawierającymi bakterie probiotyczne”, które zawierają bliżej niezidentyfikowane szczepy z rodzaju *Lactobacillus* lub *Bifidobacterium*. Brak uregulowań prawnych uniemożliwia kontrolę żywności pod kątem właściwego oznakowania w zakresie właściwości probiotycznych. Doprowadza to do sytuacji, że odpowiednie instytucje kontrolne nie sprawdzają, czy producent dysponuje badaniami potwierdzającymi właściwości zastosowanych szczepów i czy oświadczenia zdrowotne (tzw. *health claims*) umieszczone na etykietach są prawdziwe [4].

Na chwilę obecną na rynku spożywczym niewiele jest produktów probiotycznych, przy czym należy podkreślić, że dla tych środków nie można wydawać oświadczeń zdrowotnych o korzystnych skutkach zdrowotnych, a jedynie oświadczenia żywieniowe typu „zawiera żywe szczepy bakterii” [79]. Należy dodać, że za oświadczenie zdrowotne uważa się także wszelkie nazwy słowne, graficzne i symboliczne wskazujące na związek pomiędzy zdrowiem konsumenta a spożyciem probiotyków. Zgodnie z wytycznymi EFSA „*General principles on flexibility of wording for Health claims*” przyjętymi w grudniu 2012 r., zabronione jest także cytowanie wpisów zadowolonych konsumentów na stronach internetowych oraz przytaczania publikacji naukowych czy wskazań dotyczących trawienia lub odporności [81].

Żywnością najczęściej wzbogacaną w probiotyki są produkty mleczne - jogurty, napoje mleczne (*L. acidophilus*, *L. casei*, *bifidobacterium*), sery żółte (*Lactobacillus acidophilus*), specjalistyczne napoje probiotyczne (*Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *Bifidobacterium breve*), lody (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*) [80,82].

Często w celu zagwarantowania funkcji probiotyków do tych produktów dodaje się prebiotyki, które hamują rozwój patogennej flory jelit i są pożywką dla probiotyków, np. inulinę, oligofruktozę, pochodne galaktozy i β - glukanów [80]. Prebiotyki jako niestrawione składniki żywności docierają niezmiennione do okrężnicy i tam wybiórczo stymulującą aktywność lub wzrost konkretnych bakterii w jelicie grubym. Taka kombinacja probiotyków i prebiotyków działa synergistycznie i nazywana jest synbiotykiem. Na rynku dostępne są także preparaty synbiotyków, np. LactoSeven,

Beneflora, zawierające odpowiednie szczepy bakterii z ułatwiającymi zasiedlanie dodatkami jak inulina, czy włókna fasoli [1]. W przyszłości planuje się wykorzystanie branży mięsnej, a także produktów roślinnych, jak soki, przeciera warzywne i owocowe, zbożowe, sojowe [83,84]. Produkty mięsne z dodatkiem probiotyków są już udostępnione w Niemczech, Japonii od dawna (1998r) [85], a w 2012 roku Altamirano-Fortoul i wsp. [86] opracowali sposób wprowadzenia żywych bakterii mikrokapsułkowanych w powłocę skrobiowej do chleba. Probiotyki próbuje się wprowadzać również poprzez specjalne nośniki, np. jednorazowe słomki do napojów (od wewnątrz pokryte probiotykiem) lub nakrętki do butelek (wnętrze) [80]. Taką drogą dostarczane są one do żywności tuż przed spożyciem, na przykład po zmieszaniu.

O ile dawka probiotycznych preparatów terapeutycznych musi zawierać co najmniej  $10^{11}$  CFU, to w przypadku stosowania probiotyków w żywności dawka powinna być nie mniejsza od  $10^8$  CFU [87]. Forma dodawana do żywności jest zależna od jej rodzaju i konsystencji. Produkcja żywności zawierającej konkretne szczepy bakterii, w odpowiedniej liczbie i odporności na proces technologiczny, warunki i czas przechowywania wydaje się jednak zadaniem bardzo trudnym. Zwłaszcza że żywność to złożone środowisko, którego składniki mogą bezpośrednio oddziaływać na rozwój drobnoustrojów [88]. Wiele procesów technologicznych jest przyczyną obniżenia żywotności kultur, co przyczynia się do niskiego miana przechodzących przez przewód żywych bakterii. Ponadto identyfikacja bakterii probiotycznych na poziomie szczepu w żywności, czyli niejednorodnym mikrobiologicznie środowisku, jest trudna i na tyle kosztowna, że nie może być realizowana przez laboratoria zakładowe [88]. Producenci żywności probiotycznej, aby zamieszczać oświadczenia zdrowotne na opakowaniach, muszą oprócz dokumentacji potwierdzającej prozdrowotne działanie szczepu także potwierdzić obecność tego szczepu w odpowiedniej ilości [88]. Prawdopodobnie dlatego producenci tego typu żywności ciągle spotykają się z negatywną opinią Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) dotyczącą jej efektów prozdrowotnych, zwłaszcza że obowiązujące rozporządzenie jest bardzo rygorystyczne [89].

## 11. Podsumowanie

Obecnie coraz lepiej rozumiemy, jak wielkie znaczenie dla ludzkiego zdrowia ma flora jelitowa. Uważa się wręcz, że organizm ludzki wraz z mikrobiomem tworzą superorganizm. Probiotyki wykorzystywane są nie tylko do wspierania odporności przed zakażeniami, ale również poddaje się je genetycznej modyfikacji w celu otrzymania szczepów o pożądanym działaniu (farmabiotyki). Aby rozsądnie stosować probiotyk nie wystarczy znajomość rodzaju i gatunku bakterii, ale należy zdefiniować konkretny szczep probiotyczny, a także określić dawkę, nośnik z którym podawany jest probiotyk oraz potwierdzoną badaniami skuteczność w ściśle określonej sytuacji klinicznej. Ponadto szczepy w preparacie wieloszczepowym nie mogą wykazywać właściwości antagonistycznych.

Z przeglądu zgromadzonego piśmiennictwa wynika, że w pełni udokumentowane działanie konkretnych probiotyków dotyczy w zasadzie dwóch jednostek chorobowych - ostrej biegunki infekcyjnej oraz biegunki poantybiotykowej.

## 12. Wykaz skrótów

- WHO (World Health Organisation) Światowa Organizacja Zdrowia
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) Organizacja Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa
- L. *Lactobacillus*
- E. *Echerichia*
- S. *Saccharomyces*
- IL Interleukina
- TNF- $\alpha$  (*tumor necrosis factor  $\alpha$* ) czynnik martwicy nowotworu alfa
- TGF- $\beta$  (*transforming growth factor  $\beta$* ) transformujący czynnik wzrostu beta
- TSLP (*thymic stromal lymphopoietin*) cytokina TSLP
- NK (*natural killers*) komórki naturalni zabójcy
- Str. *Streptococcus*
- B. *Bifidobacterium*
- NZJ Nieswoiste zapalenie jelit
- UC (*colitis ulcerosa*) wrzodziejące zapalenie jelita grubego
- NEC (*necrotizing enterocolitis*) martwicze zapalenie jelit u wcześniaków
- GRAS (*generally recognized as safe*) organizmy bezpieczne dla zdrowia ludzkiego
- FDA (*Food and Drug Administration*) Agencja Żywności i Leków
- CFU (*colony forming units*) jednostka tworząca kolonię
- EFSA (*European Food Safety Authority*) Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności
11. Burgain J, Gaiani C, Linder M, Scher J. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *J. Food. Engineering*. 2011, 104, 467-483.
12. Libudzisz Z. Probiotics and prebiotics in fermented milks. *Ped. Wsp.* 2002, 4, 19-25.
13. Ewaschuck JB, Madsen KL. Mechanisms of probiotic effects: a review. *Functional Food Rev.* 2009, 1, 29-41.
14. Oelschlaeger TA. Mechanisms of probiotic action - A review. *Int. J. Med. Microbiol.* 2010, 300, 57-62.
15. Collado MC, Meriluoto J, Salminen S. Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. *Eur. Food Res. Technol.* 2008, 226, 1065-1073.
16. Collado MC, Meriluoto J, Salminen S. In vitro analysis of probiotic strain combinations to inhibit pathogen adhesion to human intestinal mucus. *Food Res. Int.* 2007, 40, 629-639.
17. Stolarczyk A, Socha P, Socha J. Probiotics and prebiotics in prophylactic and therapeutic use in children. *Terapia*, 2002, 1, 116.
18. Grajek W, Sip A. Antagonistic activity of probiotics against pathogenic microorganisms. *Zakazenia*. 2006, 1, 49-54.
19. Lin SC, Lo YC, Wu H. Helical assembly in the MyD88-IRAK4-IRAK2 complex in TLR/IL-1R signaling. *Nature*. 2010, 465, 885-890.
20. Shandilya UKR, Jadhav S, Panwar V, Kansal VK. Probiotics: Potent Immunomodulatory Tool Against Allergy. *Probiotics & Antimicro. Prot.* 2011, 3, 151-158.
21. Jijon H, Backer J, Diaz H, Yeung H, Thiel D, McKaigney C, De Simone C, Madsen K. DNA from probiotic bacteria modulates murine and human epithelial and immune function. *Gastroenterology*. 2004, 126, 1358-1373.
22. Matsumoto S, Hara T, Hori T, Mitsuyama K, Nagaoka M, Tomiyasu N, Suzuki A, Sata M. Probiotic *Lactobacillus*-induced improvement in murine chronic inflammatory bowel disease is associated with the down-regulation of pro-inflammatory cytokines in lamina propria mononuclear cells. *Clin. Exp. Immunol.* 2005, 140, 417-426.
23. Zeuthen LH, Fink LN, Frokiaer H. Epithelial cells prime the immune response to an array of gut-derived commensals towards a tolerogenic phenotype through distinct actions of thymic stromal lymphopoietin and transforming growth factor-beta. *Immunology*. 2008, 123, 197-208.
24. Shida K, Nanno M. Probiotics and immunology: separating the wheat from the chaff. *Trends Immunol.* 2008, 29, 565-573.
25. de Vos WM. Systems solutions by lactic acid bacteria: from paradigms to practice. *Microb. Cell Fact.*, 10 Suppl 1, S2. 2011, doi: 10.1186/1475-2859-10-S1-S2.
26. Aggarwal J, Swami G, Kumar M. Probiotics and their Effects on Metabolic Diseases: An Update. *J. Clin. Diagn. Res.* 2013, 7, 173-177.
27. Socha P, Stolarczyk M, Socha J. Wpływ probiotyków i prebiotyków na gospodarkę lipidową. *Pediatr Współcz Gastroenterol Hepat Żyw Dziecka* 2002, 04, 85-88.
28. Wickens K, Black PN, Stanley TV, Mitchell E, Fitzharris P, Tannock GW, Purdie G, Crane J. A differential effect of 2 probiotics in the prevention of eczema and atopy: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008, 122(4), 788-94.
29. Kukowska A, Dziadziuszko R, Jassem J. Metody losowego przydziału leczenia w badaniach klinicznych. *Onkologia w Praktyce Klinicznej*. 2005, 1(3), 151-156.
30. Bartlett JG. Antibiotic-associated diarrhoea. *N. Engl. J. Med.* 2002, 346, 334-339.
31. Szajewska H, Ruszczyński M, Radzikowski A. Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Pediatr.* 2006, 149, 367-372.
32. Szajewska H, Mrukowicz J. Meta-analysis: non-pathogenic yeast *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhea. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2005, 22, 365-372.
33. Hawrelak JA, Whitten DL, Myers SP. Is *Lactobacillus rhamnosus* GG effective in preventing the onset of antibiotic-associated diarrhoea: a systematic review. *Digestion*. 2005, 72, 51-56.
34. Guarino A, Albano F, Ashkenazi S, Gendrel D, Hoekstra JH, Shamir R, Szajewska H. European Society for Paediatric Gastroenterology,

## 13. Bibliografia

1. Mojka K. Probiotyki, prebiotyki i synbiotyki - charakterystyka i funkcje. *Probiotyki, prebiotyki i synbiotyki. Prob. Hig. Epidemiol.* 2014, 95(3), 541-549.
2. FAO/WHO: Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Kanada, 30 kwietnia - 1 maja 2002.
3. Wysznińska A, Kobierecka P, Jagusztyn-Krynicka E K. Bakterie kwasu mlekowego (lab) jako wektory do konstrukcji szczepionek. *Post. Mikrobiol.* 2015, 54, (2), 141-153.
4. Lutyńska A, Augustynowicz E, Wiatrzyk A. Problemy stosowania suplementów diety zawierających probiotyki. *Prob. Hig. Epidemiol.* 2012, 93(3), 493-498.
5. Nowak A, Śliżewska K, Libudzisz Z. Probiotyki - historia i mechanizmy działania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.* 2010, 4, 5-19.
6. Szajewska H. Probiotyki w Polsce - kiedy, jakie i dlaczego? *Gastroenterologia Kliniczna*. 2010, 2(1), 1-9.
7. Jach M, Łoś R, Maj M, Malm A. Probiotyki - aspekty funkcjonalne i technologiczne. *Post. Mikrobiol.* 2013, 52(2) 161-170.
8. Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Export Consultation, Cordoba, Argentina, 1-4.10.2001.
9. Forrsten SD, Sindelar CW, Ouwehand AC. Probiotics from an industrial perspective. *Anaerobe*. 2011, 17, 410-413.
10. Chen S, Zhao Q, Ferguson LR, Shu Q, Weir I, Garg S. Development of a novel probiotic delivery system based on microencapsulation with protectans. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2012, 93, 1447-1457.



- Hepatology and Nutrition/ /European Society for Paediatric Infectious Diseases Evidence-based Guidelines for the Management of Acute Gastroenteritis in children in Europe: Executive summary. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2008, 46, 619-621.
35. Van Niel C, Feudtner C, Garrison MM, Christakis DA. Lactobacillus therapy for acute infectious diarrhea in children: a meta-analysis. *Pediatrics.* 2002, 109, 678-684.
  36. Huang JS, Bousvaros A, Lee JW, Diaz A, Davidson EJ. Efficacy of probiotic use in acute diarrhea in children: a meta-analysis. *Dig. Dis. Sci.* 2002, 47, 2625-2634.
  37. Szajewska H, Skórka A, Ruszczyński M, Gieruszczak-Biatek D. Meta-analysis: Lactobacillus GG for treating acute diarrhoea in children. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2007, 25, 871-881.
  38. Szajewska H, Skórka A. Saccharomyces boulardii for treating acute gastroenteritis in children: updated meta-analysis of randomized controlled trials. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2009, 30, 960-961.
  39. McFarland LV. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of Clostridium difficile disease. *Am. J. Gastroenterol.* 2006, 101, 812-822.
  40. Dendukuri N, Costa V, McGregor M, Brophy JM. Probiotic therapy for the prevention and treatment of Clostridium difficile-associated diarrhea: a systematic review. *CMAJ.* 2005, 173, 167-170.
  41. D'Souza AL, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt Ch. Probiotics in prevention of antibiotic associated diarrhoea: Meta-analysis. *BMJ.* 2002, 324,1361.
  42. McFarland L.V., Dublin S. Meta-analysis of probiotics for the treatment of irritable bowel syndrome. *World J. Gastroenterol.* 2008, 14, 2650-2656.
  43. Dendukuri N, Brophy J. Inappropriate use of meta-analysis to estimate efficacy of probiotics. *Am. J. Gastroenterol.* 2007, 102 (1), 201.
  44. Tong JL., Ran ZH, Shen J, Zhang CX, Xiao SD. Meta-analysis: the effect of supplementation with probiotics on eradication rates and adverse events during Helicobacter pylori eradication therapy. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2007, 25, 155-168.
  45. Moayyedi P., Ford A.C., Talley N.J. Cremonini F., Foxx-Orenstein A.E., Brandt L.J., Quigley E.M. The efficacy of probiotics in the therapy of irritable bowel syndrome: a systematic review. 2010, 59(3), 325-332.
  46. Hoveyda N., Heneghan C., Mahtani K.R., Perera R., Roberts N., Glasziou P. A systematic review and meta-analysis: probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol.* 2009, 9, 15.
  47. Huertas-Ceballos A., Logan S., Bennett C., Macarthur C. Psychosocial interventions for recurrent abdominal pain (RAP) and irritable bowel syndrome (IBS) in childhood. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2008, 1, CD003014.
  48. Chmielewska A, Szajewska H. Systematic review of randomised controlled trials: probiotics for functional constipation. *World J. Gastroenterol.* 2010, 16, 69-75.
  49. Butterworth AD, Thomas AG, Akobeng AK. Probiotics for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2008, Issue 3. Art. No.: CD006634. DOI: 10.1002/14651858.CD006634.pub2.
  50. Rahimi R, Nikfar S, Rahimi F., Elahi B., Derakhshani S., Vafaie M., Abdollahi M. A meta-analysis on the efficacy of probiotics for maintenance of remission and prevention of clinical and endoscopic relapse in Crohn's disease. *Dig. Dis. Sci.* 2008, 53, 2524-2531.
  51. Lherm T, Monet C, Nougère B, Soulier M, Larbi D, Le Gall C, Caen D, Malbrunot C. Seven cases of fungemia with Saccharomyces boulardii in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2002, 28,797-801.
  52. Braat H, de Jong EC, van den Brande JM, Kapsenberg ML, Peppelenbosch MP, van Tol EA, van Deventer SJ. Dichotomy between Lactobacillus rhamnosus and Klebsiella pneumoniae on dendritic cell phenotype and function. *J Mol Med.* 2004, 82,197-205.
  53. Zocco M.A., dal Verme L.Z., Cremonini F., Piscaglia A.C., Nista E.C., Candelli M., Novi M., Rigante D., Cazzato I.A., Ojetti V., Armuzzi A, Gasbarrini G, Gasbarrini A.: Efficacy of Lactobacillus GG in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2006, 23, 1567-1574.
  54. Boyle R.J., Robins-Browne R.M., Tang M.L.K. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am. J. Clin. Nutr.* 2006, 83, 1256-1264.
  55. Sun S., Yang K., He X., Tian J., Ma B., Jiang L. Probiotics in patients with severe acute pancreatitis: a meta-analysis. *Langenbecks Arch. Surg.* 2009, 394, 171-177.
  56. Morrow LE, Kollef MH, Casale TB. Probiotic prophylaxis of ventilator-associated pneumonia- a blinded, randomized, controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010, 182,1058-1064.
  57. Aceti A, Gori D, Barone G, Callegari ML, Di Mauro A, Fantini MP, Indrio F, Maggio L, Meneghin F, Morelli L, Zuccotti G, Corvaglia L and on behalf of the Italian Society of Neonatology Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants: systematic review and meta-analysis *Italian J of Pediatrics.* 2015, 41,89.
  58. Lolis N, Veldekis D, Moraitou H, Kanavaki S, Velegraki A, Triandafyllidis C, Tasioudis C, Pefanis A, Pneumatikos I. Saccharomyces boulardii fungaemia in an intensive care unit patient treated with caspofungin. *Crit Care.* 2008, 12, 414.
  59. Santino I, Alari A, Bono S, Teti E, Marangi M, Bernardini A, Magrini L, Di Somma S, Teggi A. Saccharomyces cerevisiae fungemia, a possible consequence of the treatment of Clostridium difficile colitis with a probiotic. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2014, 27,143-146.
  60. Vahabnezhad E, Mochon AB, Wozniak LJ, Ziring DA Lactobacillus bacteremia associated with probiotic use in a pediatric patient with ulcerative colitis. *J Clin Gastroenterol.* 2013, 47, 437-439.
  61. Conen A, Zimmerer S, Frei R, Trampuz A, Battegay M, Elzi L. A pain in the neck: probiotics for ulcerative colitis. *Ann Intern Med.* 2009, 151, 895-897.
  62. Ku W. Probiotics provoked D-lactic acidosis in short bowel syndrome: case report and literature review. *HK J Paediatr.* 2006, 11, 246-254.
  63. Besselink MG, van Santvoort HC, Buskens E, Boermeester MA, van Goor H, Timmerman HM, Nieuwenhuijs VB, Bollen TL, van Ramshorst B, Witteman BJ, Rosman C, Ploeg RJ, Brink MA, Schaapherder AF, Dejong CH, Wahab PJ, van Laarhoven CJ, van der Harst E, van Eijck CH, Cuesta MA, Akkermans LM, Gooszen HG; Dutch Acute Pancreatitis Study Group. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2008, 371,651-659.
  64. Vaarala O. Immunological effects of probiotics with special reference to lactobacilli. *Clin Exp Allergy.* 2003, 33,1634-1640.
  65. Drakes M, Blanchard T, Czinn S Bacterial probiotic modulation of dendritic cells. *Infect Immun.* 2004, 72, 3299-3309.
  66. Marteau P.R. Probiotics in clinical conditions. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2002, 22, 255-273.
  67. 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.
  68. Kubiszewska I, Januszewska M, Rybka J, Gackowska L. Bakterie kwasu mlekowego i zdrowie: czy probiotyki są bezpieczne dla człowieka? *Postepy Hig Med Dosw* (online). 2014, 68, 1325-1334.
  69. Floch M.H., Walker W.A., Guandalini S., Hibberd P., Gorbach S., Surawicz C., Sanders M.E., Garcia-Tsao G., Quigley E.M., Isolauri E., Fedorak R.N., Dieleman L.A. Recommendations for probiotic use - *J. Clin. Gastroenterol.* 2008, 42 (supl. 2), S104-108.
  70. Fric P. Probiotics and prebiotics - renaissance of a therapeutic principle. *CEJ Med.* 2007, 2, 237-270.
  71. Kligler B., Hanaway P., Cohn A. Probiotics in children. *Pediatr. Clin. North Am.* 2007, 54, 949-967.
  72. Libudzisz Z.: Human intestinal microflora and probiotics. *Zakażenia,* 2004, 6, 47-51.
  73. Shanahan F.: Probiotics in perspective. *Gastroenterology,* 2010, 139, 1808-1812.
  74. Sleator R.D., Hill C.: New frontiers in probiotic research. *Lett. Appl. Microbiol.* 2008, 46, 143-147.
  75. Szewczyk, K., Wzrost Listeria monocytogenes a warunki środowiskowe, *Przemysł spożywczy* 11/2015 (69), 12-15.
  76. Sheehan V.M., Sleator R.D., Fitzgerald G.F., Hill C.: Heterologous expression of BetL, a betaine uptake system, enhances the stress



- tolerance of *Lactobacillus salivarius* UCC118. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006, 72, 2170.
77. Corcoran BM, Ross RP, Fitzgerald GF, Dockery P, Stanton C. Enhanced survival of GroESL-overproducing *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 under stressful conditions induced by drying. *Appl. Environ. Microb.* 2006, 72, 5104-5107.
78. Paton A.W., Morona R., Paton J.C.: Receptor-mimic probiotics: potential therapeutics for bacterial toxin-mediated enteric diseases. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2010, 4, 253-255.
79. Guimarães V.D., Gabriel J.E., Lefèvre F., Cabanes D., Gruss'A., Cossart P.: Internalin-expressing *Lactococcus lactis* is able to invade small intestine of guinea pigs and deliver DNA into mammalian epithelial cells. *Microbes Infect.* 2005, 7, 836-44.
80. Toczek K, Glibowski P. Bakterie probiotyczne w żywności nowe kierunki stosowania. *Przemysł Spożywczy.* 2015, 69, 42-45.
81. Osęka G. Oświadczenia zdrowotne dotyczące probiotyków. *Przemysł Spożywczy.* 2014, 68(12), 28-29.
82. Bulwarska M., Florowska A.: Lody z dodatkami prozdrowotnymi. *Przemysł spożywczy.* 2011, 65, 11, 22-24.
83. Szydłowska A., Kozłozyn-Krajewska D. Zastosowanie bakterii potencjalnie probiotycznych do fermentacji przecieru z dyni. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.* 2010, 73, 6, 109 -119.
84. Trzaskowska M. Probiotyki w produktach pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.* 2013, 89, 4, 5-20.
85. Arihara K. Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science.* 2006 74, 1, 219-229.
86. Altamirano-Fortoul R., Moreno-Terrazas R., Quezada-Gallo A., Rosell C.: Viability of some probiotic coatings in bread and its effect on the crust mechanical properties. *Food Hydrocolloids.* 2012, 1, 29, 166-174.
87. Steinka I. Wybrane aspekty stosowania probiotyków. *Ann. Acad. Med. Gedan.* 2011, 41, 97-108.
88. Zielińska D, Ołdak A, Rzepkowska A, Kozłozyn-Krajewska D. Metody identyfikacji probiotyków w żywności. *Wyzwania i problemy. Przemysł Spożywczy.* 2017, 1, 71.
89. Guidance on the scientific requirements for health claims related to the immune system, the gastrointestinal tract and defence against pathogenic microorganisms EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) PUBLISHED: 18 January 2016 doi:10.2903/j.efsa.2016.4369.